

TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÜLKEMİZE ÖZGÜ ÇAM BALI VE KESTANE BALI'NIN  
KREM TARZINDA FARMASÖTİK ŞEKLİNİN  
GELİŞTİRİLMESİ VE YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE  
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Sedat SEVİN

FARMAKOLOJİ ve TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN  
Prof.Dr. Ender YARSAN

2018-ANKARA

## ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Ülkemize Özgü Çam Balı ve Kestane Balı'nın Krem Tarzında Farmasötik Şeklinin Geliştirilmesi ve Yara İyileşmesi Üzerine Etkisinin Araştırılması” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Sedat SEVİN

Tarih: 18.12.2018

İmza:

## KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalında

Sedat SEVİN tarafından hazırlanan

“Ülkemize Özgü Çam Balı ve Kestane Balı'nın Krem Tarzında Farmasötik Şeklinin Geliştirilmesi ve Yara İyileşmesi Üzerine Etkisinin Araştırılması” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 18.12.2018

İmza

Prof.Dr.Ahmet DOĞANAY  
Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Parazitoloji Anabilim Dalı  
Jüri Başkanı

İmza

Prof.Dr.Ender YARSAN  
Ankara Üniversitesi  
Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve  
Toksikoloji Anabilim Dalı  
(Üye)

İmza

Prof .Dr. Murat KANBUR  
Erciyes Üniversitesi  
Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve  
Toksikoloji Anabilim Dalı  
(Üye)

İmza

Doç.Dr. Levent ALTINTAŞ  
Ankara Üniversitesi  
Veteriner Fakültesi  
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı  
(Üye)

İmza

Doç.Dr. Hüsamettin EKİCİ  
Kırıkkale Üniversitesi  
Veteriner Fakültesi  
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı  
(Raportör)

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

İmza

Prof.Dr. Mehmet AKAN  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

# İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	v
Simgeler ve Kısaltmalar	vii
Şekiller	viii
Çizelgeler	x
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1. Dünya’da ve Türkiyede Arıcılık	2
1.2. Türkiye’de Arıcılık Faaliyetleri	4
1.3. Bal ve Balın Özellikleri	5
1.4. Apiterapide Balın Yeri ve Önemi	10
1.5. Yara ve İyileşme Süreci	11
<b>2. GEREÇ ve YÖNTEM</b>	<b>14</b>
2.1. Gereç	14
2.1.1. Kimyasal Maddeler	14
2.1.2. Cihazlar ve Laboratuvar Malzemeleri	14
2.1.3. Hayvan Materyali	15
2.1.4. Bal Numunelerinin Temin Edilmesi ve Analizi	15
2.1.5. Balların Sterilizasyonu	16
2.1.6. Krem Formülasyonunun Hazırlanması	16
2.2. Yöntem	17
2.2.1. Etik Kurul Onayı	17
2.2.2. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deney Protokolü	17
2.2.3. Morfometrik Parametreler	20
2.2.4. Hidroksiprolin Analizi	20
2.2.5. Alan Hesaplama Bilgisayar Programı	22
2.2.6. İstatistiki Hesaplar	25
<b>3. BULGULAR</b>	<b>27</b>
3.1. Bal Analizi	27
3.2. Histopatolojik İncelemeler	30
3.3. Sıçanlarda Yara Alan Takibi	46
3.4. Sıçanlarda Yara Alanlarının Analizi	60
3.5. Biyokimyasal (Hidroksiprolin ) Analizler	63
<b>4. TARTIŞMA</b>	<b>65</b>
<b>5. SONUÇ ve ÖNERİLER</b>	<b>76</b>
<b>ÖZET</b>	<b>78</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>79</b>
<b>KAYNAKLAR</b>	<b>80</b>
<b>EKLER</b>	<b>86</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>87</b>

## ÖNSÖZ

Türkiye'nin doğal koşulları, coğrafi konumu, uygun iklim şartları ve zengin bitki örtüsü arıcılık faaliyetleri için son derece elverişlidir. Arıcılık ülke ekonomisi için de önemli bir kazanç kaynağıdır. Arıcılık faaliyetleri ile birlikte çok sayıda ürün arıdan elde edilmektedir. Bunlar farklı amaçlarla kullanılabilir. Arı ürünleri içerisinde balın kullanımı özellikle dikkat çekmektedir. Balın doğrudan besin maddesi olması yanında bakteri, maya, mantar ve virüsler üzerine inhibitör etkisi bulunduğu; topikal bal uygulamasının bakteriyel enfeksiyonları önlemek ve deri hücreleri tarafından sitokin yapımında etkili olduğu bildirilmiştir. Balın ayrıca dermatolojik, antioksidan, antitümöral ve antiinflamatuvar etkileri de bulunmaktadır.

Bu çalışmada; Ülkemizde Muğla ve Düzce İllerinden toplanan balların sıçanlarda yara iyileşmesi üzerine olası etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla önce balların içerik analizleri gerçekleştirilmiş ve daha sonra, hayvanlara uygulanabilir formülasyonu (krem formülasyonu) hazırlanmıştır. Hazırlanan kremlerin deneysel olarak yara modeli oluşturulan sıçanlar üzerinde yara iyileşmesine yönelik etkileri incelenmiştir. Bu amaçla, her grupta 14 hayvan olacak şekilde toplam 56 sıçan 4 gruba ayrılmıştır. Bu gruplar 2 kontrol ve 2 krem grubu olarak ayrılmış; geliştirilen kremler deney süresince her gün yara üzerine uygulanmış; sıçanlarda oluşturulan yaralar ikişer gün ara ile takip edilerek; yaraların iyileşme hızı kayıt altına alınmıştır. Çalışmanın 7. gününde ve 14. gününde 7'şer hayvan ötanazi edilerek, yara oluşturulan bölgeler üzerinden alınan örneklerde histopatolojik ve biyokimyasal analizler gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen veriler gruplar ve günler arası olacak şekilde karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

Tez çalışması süresince; çalışma konusunun belirlemede, çalışmaların yürütülmesinde ve doktora eğitim süresince, yardım ve desteklerini esirgemeyen değerli danışman hocam Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof.Dr. Ender YARSAN'a; tez izleme komitesinde bulunan değerli hocam Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç.Dr. Levent ALTINTAŞ, Parazitoloji

Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof.Dr. Ahmet DOĞANAY'a; Biyokimyasal analizlerde yardımcı olan Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç.Dr. Görkem KISMALI'ya; Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Sevil ATALAY VURAL ve Araş. Gör. Dr. Arda Selin TUNÇ'a; Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı Araş. Gör. Ahmet CEYLAN'a; Biyoistatistik Anabilim Dalı'ndan Doktor Öğretim Üyesi Doğukan ÖZEN ve Araş. Gör. Ufuk KAYA'ya; Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı'ndan Doktor Öğretim Üyesi Sayın Hidayet TUTUN'a; yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım Selime MUTLU; Dr.Öğretim Üyesi Ayça KARTAL, Soner TUTUN, Asalettin GÜGERCİN, Ahmet Gürkan GENÇ, Neslihan BEKTAŞ, Nafiye KOÇ, Sinan SAĞLAM ve krem hazırlanmasında NEHAR CEMİCALS firmasına teşekkürlerimi sunarım.

## SİMGELER VE KISALTMALAR

DMSO	Dimetilsülfoksit
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü, Food and Agriculture Organization
g	Gram
HE	Hemotoksilen-eosin
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojenperoksit
HCl	Hidroklorik asit
HMF	Hidroksimetilfurfural
Kg	Kilogram
L	Litre
µL	Mikrolitre
mg	Miligram
ml	Mililitre
ppb	Milyarda bir birim (µg/kg veya L)
°C	Santigrat derece
%	Yüzde

## ŞEKİLLER

<b>Şekil 1.1.</b> İllere Göre Bal Üretimi	3
<b>Şekil 1.2.</b> Yıllara Göre Dünya’da Kovan Varlığı	4
<b>Şekil 1.3.</b> Göçer arıcıların gidiş, dönüş yolları ve kışlatma alanları	5
<b>Şekil 1.4.</b> Türkiye bal yetiştirme alanları	6
<b>Şekil 2.1.</b> Deney hayvanlarının barındırılması ve yaraların oluşturulması	19
<b>Şekil 2.2.</b> Bilgisayar programının ana ekran görüntüsü	23
<b>Şekil 2.3.</b> Programda alan hesaplamasının yapılması	24
<b>Şekil 2.4.</b> Programda ölçüm yapılması	24
<b>Şekil 2.5.</b> Programda yara alanlarının hesaplanması	25
<b>Şekil 3.1.</b> Sıfırıncı gün sıçan dokularının histopatolojik inceleme	30
<b>Şekil 3.2.</b> A grubu 7. gün histopatolojik inceleme	31
<b>Şekil 3.3.</b> B grubu 7. gün yara bölgesinin histopatolojik incelemesi	32
<b>Şekil 3.4.</b> C grubu 7. gün yara bölgesinin histopatolojik incelemesi	34
<b>Şekil 3.5.</b> D grubu 7. Gün yara bölgelerinin histopatolojik incelenmesi	35
<b>Şekil 3.6.</b> A grubu 14. gün yara bölgesinin histopatolojik incelenmesi	37
<b>Şekil 3.7.</b> B grubu 14. gün yara bölgesinin histopatolojik incelenmesi	38
<b>Şekil 3.8.</b> C grubu 14. gün yara bölgesinin histopatolojik incelenmesi	39
<b>Şekil 3.9.</b> D grubu 14. gün yara bölgesinin histopatolojik incelenmesi	41
<b>Şekil 3.10.</b> A Grubu (Negatif Kontrol)- 2., 4., 6. ve 7. günler (1-7 Sıçan)	47
<b>Şekil 3.11.</b> B Grubu (Balast Madde) - 2., 4., 6. ve 7. günler (1-7 Sıçan)	48
<b>Şekil 3.12.</b> C Grubu (Çam Ballı Krem)- 2.,4.,6. ve 7. günler (1-7 Sıçan)	49
<b>Şekil 3.13.</b> D Grubu (Kestane Ballı Krem)- 2., 4., 6. ve 7. günler (1-7 Sıçan)	50
<b>Şekil 3.14.</b> A Grubu (Negatif Kontrol)- 2.,4.,6.,8.,10.,12. ve 14. Günler (8-14 Sıçan)	52
<b>Şekil 3.15.</b> B Grubu (Balast Madde)- 2.,4.,6.,8.,10.,12. ve 14. Günler (8-14 Sıçan)	54
<b>Şekil 3.16.</b> C Grubu (Çam Ballı Krem)- 2.,4.,6.,8.,10.,12. ve 14. Günler (8-14 Sıçan)	57



<b>Şekil 3.17.</b> D Grubu (Kestane Ballı Krem)- 2.,4.,6.,8.,10.,12. ve 14. Günler (8-14 Sıçan)	59
<b>Şekil 3.18.</b> Deney gruplarının ilk 7 günde yara ölçüm alanları	61
<b>Şekil 3.19.</b> Deney gruplarının 14 günlük yara ölçüm alanlarının çizgi grafikte gösterilmesi	61
<b>Şekil 3.20.</b> Deney gruplarının ilk 7 günde yara ölçüm alanlarının çubuk grafikte gösterilmesi	62
<b>Şekil 3.21.</b> Deney gruplarının 14 günde yara ölçüm alanlarının çubuk grafikte gösterilmesi	62
<b>Şekil 3.21.</b> Hidroksiprolin analizi	63



## ÇİZELGELER

<b>Çizelge 1.1.</b> Türkiye için Arıcılık verileri	2
<b>Çizelge 1.2.</b> Ballara ait genel özellikler	7
<b>Çizelge 1.3.</b> Çiçek ve salgı balı arasındaki farklar	10
<b>Çizelge 2.1.</b> Deneme grupları ve gerçekleştirilen uygulamalar	18
<b>Çizelge 2.2.</b> Modifiye Greenhalgh'ın yara iyileşmesi skorlama sistemi	22
<b>Çizelge 3.1.</b> Kestane Balı polen analizi	27
<b>Çizelge 3.2.</b> Kestane Balı İçerik Analizi	27
<b>Çizelge 3.3.</b> Kestane Balı antibiyotik analizi	28
<b>Çizelge 3.4.</b> Çam Balı Polen Analizi	28
<b>Çizelge 3.5.</b> Çam Balı içerik analizi	29
<b>Çizelge 3.6.</b> Çam Balı Antibiyotik Analizi	29
<b>Çizelge 3.7.</b> A grubu sıçan gruplarında 7. gün histopatolojik değerlendirme	31
<b>Çizelge 3.8.</b> B grubu sıçan gruplarında 7. gün histopatolojik değerlendirme	33
<b>Çizelge 3.9.</b> C grubu sıçan gruplarında 7. gün histopatolojik değerlendirme	34
<b>Çizelge 3.10.</b> D grubu sıçan gruplarında 7. gün histopatolojik değerlendirme	36
<b>Çizelge 3.11.</b> A grubu sıçan gruplarında 14. gün histopatolojik değerlendirme	37
<b>Çizelge 3.12.</b> B grubu sıçan gruplarında 14. gün histopatolojik değerlendirme	39
<b>Çizelge 3.13.</b> C grubu sıçan gruplarında 14. gün histopatolojik değerlendirme	40
<b>Çizelge 3.14.</b> D grubu sıçan gruplarında 14. gün histopatolojik değerlendirme	41
<b>Çizelge 3.15.</b> Tüm grupların 14 günlük histopatolojik incelemesinin toplu olarak gösterimi	44
<b>Çizelge 3.16.</b> Sıçanlarda 2., 4., 6. ve 7. günde yara iyileşme alanlarının ölçümleri	60
<b>Çizelge 3.17.</b> Sıçanlarda 2., 6., 10. ve 14. günde yara iyileşme alanlarının ölçümleri	60



## 1. GİRİŞ

Türkiye, dört iklimin yaşandığı, doğal koşullarının uygunluğu, arazi yapısı, zengin bitki çeşitliliği, milyonlarca kovan sayısı ve bal arısı genetik çeşitliliği ile büyük bir arıcılık potansiyeline sahiptir. Hayvancılık alanında önemli bir paya sahip olan bu sektör her geçen gün önemini arttırmaktadır. Doğal dengenin korunması, tarımsal üretimde devamlılığın sağlanması ve insanlığa sunmuş olduğu başta bal olmak üzere çeşitli ürünler ile arıcılık çok önemli bir sektördür (Sıralı, 2010). Arıcılık faaliyetleri sonucu elde edilen ürünler hem insan beslenmesi ve sağlığı, hem de ekonomik açıdan büyük önem taşırlar (Doğanay ve ark., 2017). Arıcılık, Anadolu coğrafyasının en eski üretim faaliyetlerinden biridir. Önceden sadece ailelerin taleplerini karşılamak için yapılırken; günümüzde ticari bir öneme de kavuşmuştur. Arıların bitkilerde tozlaşmayı sağlayarak bitkisel üretimi gerçekleştirmesinin yanında; ürettikleri bal, polen, propolis gibi ürünler ile de hayvansal üretime katkıda bulunmaktadır (Sarıözkan ve ark., 2009). Türkiye’de 81.000 tarım işletmesi arıcılık ile geçimini sağlamakta; arıcılık faaliyetleri ile doğrudan 160 milyon TL ve dolaylı yoldan ise 1,6-2,4 milyar TL civarında ekonomik bir gelir oluşturmaktadır. İçeriğinde barındırdığı şeker, enzimler, flavanoidler, mineraller ve diğer besleyici maddeler ile sağlık açısından çok önemli ürün olan bal; sanayide ve farklı sektörlerde kullanılan bal mumu; son yıllarda sağlık alanında öne çıkan propolis ve arı zehiri başlıca arıcılık ürünleridir (Semerci, 2017). Bu ürünler birçok hastalığa karşı tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Arı ürünlerinin tedavi amacıyla kullanımına “Apiterapi” adı verilmektedir. Apiterapi kapsamındaki ürünlerin kullanıldığı bazı hastalıklar; multipl skleroz, artrit, yaralar, kanser, ülser, yanıklar, enfeksiyonlar vb. şeklinde sıralanmaktadır. Özellikle bal açık yaralar, kesikler, yanıklar veya ülser için kullanılan bir üründür. Apiterapinin sadece beşeri hekimlikte değil veteriner hekimlikte de son yıllarda önemi artmıştır. Balın sığırlarda ve atlarda ayak ve ağız yaralarının tedavisinde, tavşanlarda gözde oluşan kimyasal hasarların tedavisinde etkili olduğu bilinmektedir (Ulusoy, 2012).

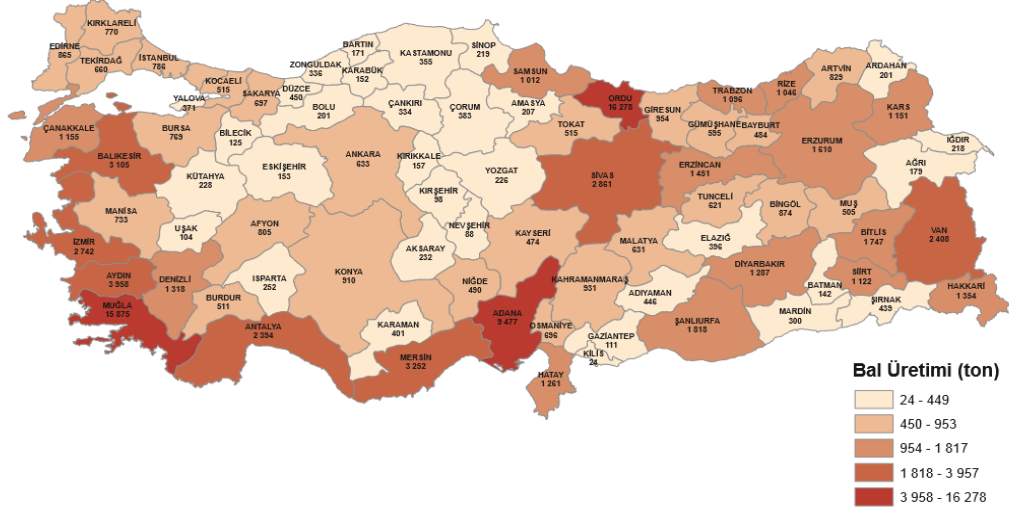
## 1.1. Dünya’da ve Türkiye’de Arıcılık

Türkiye yaklaşık sekiz milyon kovan varlığı ile Çin’den sonra Dünya’da üçüncü sıradadır. Çin’in kovan başına bal üretimi 52 kg iken Dünya ortalaması 22 kg’dır (FAO, 2015). Türkiye, 114 bin tonluk bal üretimi ile Çin’den sonra ikinci sırada bulunmaktadır. Türkiye arıcılığının 1996-2015 yılları arasında bal üretiminde %71, bal mumu üretiminde %47 ve koloni sayısında ise %94 oranında artış olduğu saptanmıştır. Türkiye’nin 2020 yılında bal üretiminde 120 bin tonlar seviyesinde üretim yapacağı tahmin edilmekte ve kovan sayısının ise on milyona ulaşması beklenmektedir (Semerci, 2017). Türkiye’de 2018 yılı itibariyle kovan başına bal ortalaması 13,4 kg’dır. Türkiye’de arıcılık verileri Çizelge 1.1’de gösterilmiştir (TÜİK, 2018).

**Çizelge 1.1.** Türkiye için Arıcılık verileri (TÜİK, 2018).

Yıl	Arıcılık Verileri			Bal Üretimi (ton)	Bal Verimi (kg/kovan)	Balmumu (ton)
	Eski Kovan(adet)	Yeni Kovan (adet)	Toplam			
2002	180.232	3.980.660	4.160.892	74.554	18	3.448
2003	190.538	4.098.315	4.288.853	69.540	16	3.130
2004	162.660	4.237.065	4.399.725	73.929	17	3.471
2005	157.059	4.432.954	4.590.013	82.336	18	4.178
2006	146.950	4.704.733	4.851.683	83.842	17	3.484
2007	135.318	4.690.278	4.825.596	73.935	15	3.837
2008	137.963	4.750.998	4.888.961	81.364	17	4.539
2009	128.743	5.210.481	5.339.224	82.003	15	4.385
2010	137.000	5.465.669	5.602.669	81.115	15	4.148
2011	149.020	5.862.312	6.011.332	94.245	16	4.235
2012	156.777	6.191.232	6.348.009	89.162	14	4.222
2013	183.265	6.458.083	6.641.348	94.694	14	4.241
2014	193.825	6.888.907	7.082.732	103.525	14	4.053
2015	222.635	7.525.652	7.748.287	108.128	14	4.756
2016	220.882	7.679.482	7.900.364	105.727	13,4	4.440
2017	194.406	7.796.666	7.991.072	114.471	14,3	4.488

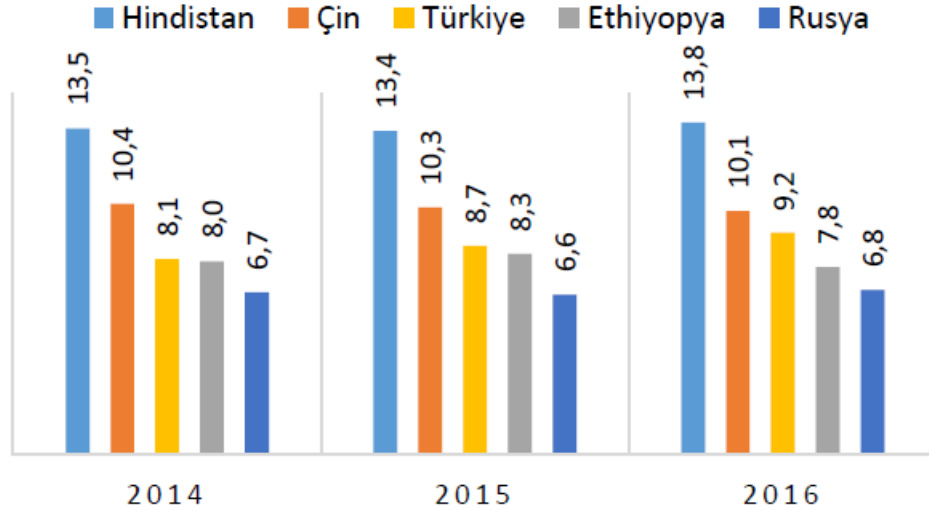
## İllere Göre Bal Üretimi Dağılımı (ton) - 2016



Şekil 1.1. İllere göre bal üretimi verileri (TÜİK, 2017).

Dünya genelinde kovan ve bal üretimi ile ilgili veriler incelendiğinde Türkiye'nin arıcılık alanında hızla yükseldiği görülmektedir. Dünyadaki bulunan yaklaşık 89 milyon adet kovan varlığının % 20'sinden fazlası Hindistan ve Çin'de bulunmaktadır. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü'nün (Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO) verilerine göre Dünya genelinde 89.930.087 adet (FAO, 2013) kovan varlığı mevcut olup bu sayının bir önceki yıla göre % 0,64 arttığı görülmüştür. Dünya kovan miktarında önemli ülkeler verileri Şekil 1.2'de gösterilmiştir (Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü, 2018).

## Kovan miktarında önemli ülkeler (%)



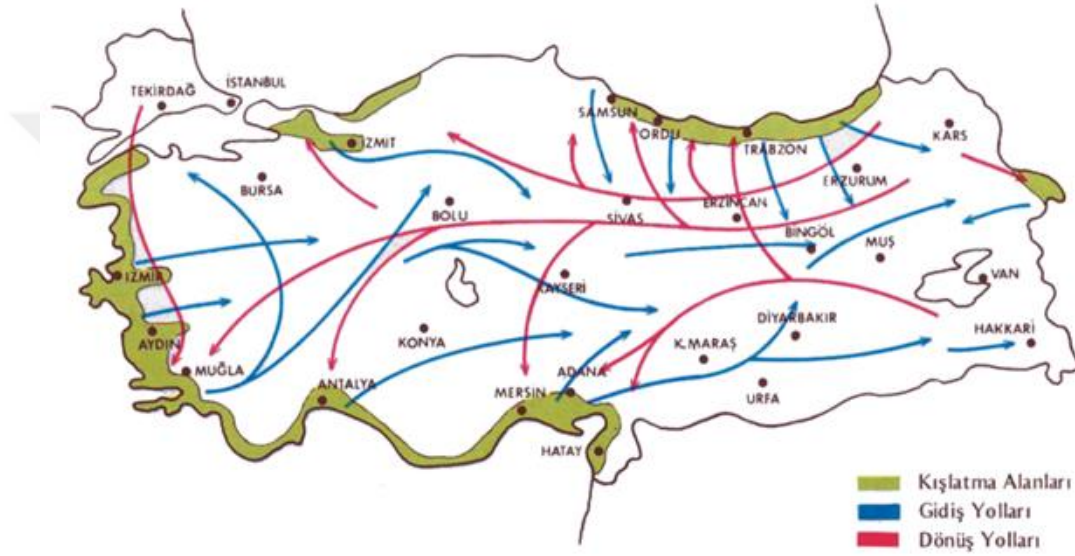
Şekil 1.2. Yıllara göre Dünya’da kovan varlığı kaynak FAO 2016 verileri (Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü, 2018).

### 1.2. Türkiye’de Arıcılık Faaliyetleri

Türkiye’de uygulanan arıcılık faaliyetleri; gezginci (göçer) arıcılık, sabit arıcılık ve organik arıcılık şeklinde sınıflandırılmaktadır. Türkiye’de yaygın olarak yapılan arıcılık göçer arıcılıktır. Göçer arıcılık sayesinde farklı zamanlarda farklı bitkilerden yararlanarak daha fazla ürün elde etmek mümkündür. Sonbahar mevsimi geldiğinde iklimin daha sıcak olduğu Akdeniz, Ege ve Karadeniz Bölgeleri’nin kıyı kesimlerine arılar taşınmaktadır. Bu taşınan kovanlar ilkbahar sonu ve yaz aylarının başında tekrar Doğu Anadolu Bölgesi’ndeki ovalara ve yaylalara çıkartılmaktadır (Yeninar ve ark., 2010).

Ülkemizde göçer arıcılık faaliyetlerini genelde 100 ve üzeri sayıda kovana sahip arıcılar gerçekleştirmektedir. Arıcıların %75’i Türkiye’de göçer arıcılık yapmaktadır. Göçer arıcılar mevsime ve çiçeklenme dönemlerini göz önünde bulundurarak ilkbahar aylarının başında Orta Anadolu’ya, sonraki aylarda Doğu ve

Güneydoğu Anadolu Bölgeleri'nin yüksek kesimlerine doğru hareket etmektedir. Göçer arıcıların büyük bir bölümü ise çam balı üretimi için Ege Bölgesi'ne (Muğla ve Aydın dolayları) taşınmaktadır. Çam balı için gitmeyen arıcılar ise kolonilerini daha çok pamuk, ayçiçeği ve mısır üretiminin olduğu bölgelere nakletmektedirler (Yeninar ve ark., 2010). Göçer arıcıların gidiş, dönüş yolları ve kışlatma alanlarını gösteren harita Şekil 1.3'de sunulmuştur (GTHB, 2015; Yeninar ve ark., 2010).



Şekil 1.3. Göçer arıcıların gidiş, dönüş yolları ve kışlatma alanları (MTO, 2012).

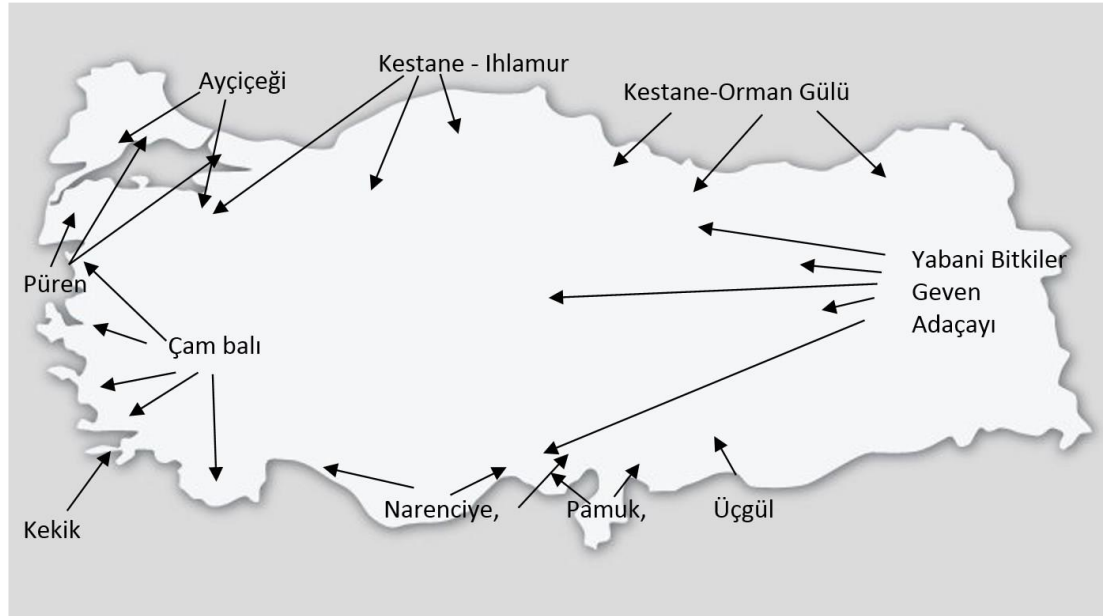
### 1.3. Bal ve Balın Özellikleri

Bal Tebliği 29/12/2011 tarihli ve 28157 3. mükerrer sayılı Resmî Gazete'de yayımlanan Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği'ne dayanılarak hazırlanmıştır. Bu Tebliğde balın tanımı şu şekilde yapılmıştır: "Bal: Bitki nektarlarının, bitkilerin canlı kısımlarının salgılarının veya bitkilerin canlı kısımları üzerinde yaşayan bitki emici böceklerin salgılarının bal arısı tarafından toplandıktan sonra kendine özgü maddelerle birleştirerek değişikliğe uğrattığı, su içeriğini düşürdüğü ve petekte depolayarak olgunlaştırdığı doğal ürünü. Çiçek balı: Bitki nektarından elde edilen balı, Salgı balı:



Bitkilerin canlı kısımlarının salgılarından veya bitkilerin canlı kısımları üzerinde yaşayan bitki emici böceklerin -Hemiptera- salgılarından elde edilen balı, olarak tanımlanmıştır”. Çizelge 1.2’de Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliğine göre Türk ballarının genel özellikleri verilmiştir (Anonim, 2018).

Bal, çiçeklerin nektarları ya da çiçeklerin salgıları veya bitkilerin öz suları ile beslenen böceklerin çıkardıkları salgıları toplayarak bal arıları tarafından kendilerine özel maddelerle birleştirip oluşturdukları tatlı doğal bir maddedir (Molan, 1995). Bal şeker ve su ile doymuş bir solüsyondur. Balın yüksek viskozitesi ve kalitesinden sorumlu olan bu yüksek konsantrasyondaki şekerdir. Balın, %99’luk kısmını şeker ve su oluştururken geri kalan kısmında ise enzimler, mineraller, aroma içeriği gibi maddeler oluşturmaktadır (Crane, 1990). Bal hidrosimetilfurfural (HMF), fenolik asitler, enzimler, flavanoidler, mineraller, uçucu bileşikler, proteinler ve şekerler gibi yaklaşık olarak 181 madde bulundurmaktadır (Al-Manary ve ark., 2002; Kirk ve Sawyer, 1991). Bal kaynağına göre çiçek balı ve salgı balı olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Çiçek balının kaynağı nektarlar iken salgı balının kaynağını bitkileri emen böceklerin çıkardıkları veya bitkilerin salgılarından oluşmaktadır (Codex Alimentarius, 1998).



Şekil 1.4. Türkiye bal yetiştirme alanları (MTO, 2012).

Çizelge 1.2. Ballara ait genel özellikler (Anonim, 2018).

Özellik	Çiçek Balı	Salgı Balı	Çiçek ve Salgı Balı Karışımı	Fırıncılık Balı
Nem (en fazla)	% 20	% 20	% 20	% 23
	% 23 Püren (Calluna) ballarında			% 25 Püren (Calluna) kaynaklı fırıncılık ballarında
Sakaroz (en fazla)	5 g/100 g	5 g/100 g	5 g/100 g	5 g/100 g
	10g/100g (Yalancı akasya (Robinapsedoacacia) Adi yonca (Medicago sativa) Menziés Banksia (Banksiameziésii) Tatlı yonca (Hedysarum) Kırmızı okaliptüs ( <i>Eucalyptus camadulensis</i> ) Meşin ağacı ( <i>Eucryphia lucida</i> , <i>Eucyrphia milliganii</i> ) ve Narenciye ballarında)	10g/100g (Kızılçam ( <i>Pinusbrutia</i> ) ve Fıstık çamlarından ( <i>Pinuspinea</i> ) elde edilen salgı ballarında)		
	15 g/100 g Lavanta çiçeği ( <i>Lavandula</i> ., <i>Boraga officinalis</i> ) ballarında			
Fruktoz+Glukoz (en az)	100 g'da 60 g	100 g'da 45 g	100 g'da 45 g	-
Fruktoz / Glukoz	0,9 - 1,4	1,0-1,4	1,0-1,4	-
	1,0-1,85 Kestane ( <i>Castanea sativa</i> )			
	1,2-1,85 Akasya ( <i>Robinia pseudoacacia</i> )			
	1,0-1,65 Kekik ( <i>Thymus spp.</i> )			
Suda çözünmeyen madde (en fazla)*	0,1 g/100 g	0,1 g/100 g	0,1 g/100 g	0,1 g/100 g
Serbest asitlik (en fazla)	50 meq/kg	50 meq/kg	50 meq/kg	80 meq/kg
Elektrik iletkenliği	En fazla 0,8 mS/cm (Kocayemiş ( <i>Arbutus unedo</i> ), Çanotu ( <i>Erica</i> ),	En az 0,8 mS/cm	En fazla 0,8 mS/cm	En fazla 0,8 mS/cm

Özellik	Çiçek Balı	Salgı Balı	Çiçek ve Salgı Balı Karışımı	Fırıncılık Balı
	Okaliptus, İhlamur ( <i>Tilia</i> spp.), Süpürgeçalı ( <i>Calluna vulgaris</i> ), Okyanus mersini ( <i>leptospermum</i> ) Çay ağacı ( <i>Melaleuca</i> spp.), ve Pamuk ( <i>Gossipium</i> spp. 'danelde edilenler hariç ) En az 0,8 mS/cm (Kestane balında)		En az 0,8 mS/cm (Kestane balı ve salgı balı karışımlarında)	
<b>Diastaz sayısı (en az)</b>	8 3 (Narenciye balı gibi yapısında doğal olarak düşük miktarda enzim bulunan ve doğal olarak HMF miktarı 15 mg/kg'dan fazla olmayan balda)	8	8	-
<b>HMF (en fazla)**</b>	40 mg/kg	40 mg/kg	40 mg/kg	-
<b>Balda protein ve ham bal delta C13 değerleri arasındaki fark</b>	-1,0 veya daha pozitif	-1,0 veya daha pozitif	-1,0 veya daha pozitif	-1,0 veya daha pozitif
<b>Balda protein ve ham bal delta C13 değerlerinden hesaplanan C4 şekerleri oranı (en fazla)</b>	%7	%7	%7	%7
<b>Prolin miktarı (en az)</b>	300 mg/kg 180 mg/kg (Kanola, ihlamur, narenciye, lavanta, okaliptüs ballarında) 120 mg/kg (Biberiye, akasya ballarında)	300 mg/kg	300 mg/kg	180 mg/kg
<b>Naftalin miktarı (en fazla)***</b>	10 ppb	10 ppb	10 ppb	10 ppb

\* Pres balında suda çözünmeyen madde miktarı 0,5 g/100 g'ı geçemez.

\*\* Üretildiği bölge etiketinde belirtilmek koşulu ile tropikal ülke kaynaklı ballarda HMF miktarı en çok 80 mg/kg olur.

\*\*\* Balmumunda naftalin miktarı 10 ppb'den fazla olamaz.

Çiçek balı, bal arılarının topladığı bitki nektarlarını çeşitli aşamalardan geçirerek olgunlaştırdığı bir üründür. Nektar, bal arılarınca enerjili besine dönüştürülen, kolay bozulabilecek nitelikte tatlı bir maddedir (Sanz ve ark., 2005).

Dünya’da kestanenin yetiştiği alanlar Kuzey Amerika, Güney Avrupa, Doğu Asya ve Türkiye’dir. Yaygın olarak yetiştiği ülkelerin başında ise Kore, Çin, Japonya ve Akdeniz ülkeleri bulunmaktadır. Ülkemizde yetiştiği bölgeler de ağırlıklı olarak Marmara, Ege ve Karadeniz’dir. Nemli koşulları olan orman bölgelerinde *Castanea Sativa* Mill (Avrupa kestanesi) doğal olarak yetişmektedir (Karadeniz, 2013).

Çiçek balları içerisinde önemli bir yere sahip olan kestane balı, Fagaceae familyasının *Castanea* cinsine ait ağaçlardan elde edilmektedir. Kestane balı; tadı, aroması ve rengi ile diğer ballardan ayırt edilmektedir (Kolaylı ve ark., 2006). İspanya’da yapılan bir çalışmada; farklı bölgelerden toplanan kestane ballarının tat ve aromasının birbirinden farklı olduğu saptanmıştır (Castro-Vázquez ve ark., 2010). Diğer bir çalışmada ise kestane balı gibi koyu renkli balların esansiyel element miktarının açık renkli ballardan daha yüksek olduğu bulunmuştur (Bogdanov ve ark., 2007; Gonzalez-Miret ve ark., 2005).

Salgı balı, bal arıları tarafından bitkilerin canlı kısımlarındaki salgılardan veya bitkileri emerek beslenen böceklerin çıkartıları sıvılardan hazırlanan üründür (Sanz ve ark., 2005). Çam balının üretilmesinde hayati öneme sahip *Marchalina hellenica*; ülkemiz dışında İtalya ve Yunanistan’da da bulunmaktadır. Bu tür tarafından oluşturulan salgı; arıların faaliyetiyle çam balına dönüştürülmektedir. *Marchalina hellenica*’nın bal üretmek için yaşamını sürdürdüğü çam türleri; *Pinus brutia* (Kızılçam), *P. halepensis* (Halep çamı), *P. silvestris* (Sarıçam) ve *P. pinea* (Fıstık çamı)’dır (Yeşil ve ark., 2005). Ülkemizde üretilen çam balının kaynağı ise *Pinus brutia* (Kızılçam)’dır. Bu balın büyük bir bölümü Muğla ve Aydın illerinde üretilmektedir. Ege Bölgesi’ndeki bal üretiminin %26’sı da çam balıdır (Şahin, 2000). Ülkemizdeki göçer arıcılar özellikle Eylül ayı itibarıyla Muğla ve Aydın illerine çam balı için gelmektedirler. Dünya’da çam balı üretiminin %90 sadece Ege Bölgesi’nden

sağlanmaktadır. Balın mineral içeriği değişkenlik gösterir. Koyu renkli ballar iz elementler açısından oldukça önemlidir. Bunun yanı sıra besinsel anlamda çok yüksek bir öneme sahip olmamalarına karşın balın yapısında bazı vitaminler de (pantotenik asit, B1, B2, B6 ve C vitaminleri ) eser miktarda bulunur. Bal bitkisel kaynağına bağlı olarak az veya çok antioksidan içermesi ve antimikrobiyal aktivite göstermesi nedeni ile sağlık açısından önemlidir. Balın antimikrobiyal etkisi, sahip olduğu yüksek ozmatik basınçtan, içerdiği asit değerinden, hidrojen peroksit, flavonoidler ve fenolik bileşiklerden (kafeik ve ferulik asit) kaynaklanır (Karacaoğlu ve Koç, 2007). Çiçek balı ve salğı balı arasındaki farklarda Çizelge 1.3’de gösterilmiştir (Özkök ve ark.,2018).

**Çizelge 1.3.** Çiçek ve salğı balı arasındaki farklar (Özkök ve ark.,2018).

Özellik	Birim	Ortalama Değerler	Çiçek Balı		Salğı Balı
			Değerlerin Sırası	Ortalama Değerler	Değerlerin Sırası
Renk		Koyu Beyaz	Beyazdan Koyu Renge Kadar	Açık Kehribar Rengi	Çok Açık Kehribardan Koyu Renge Kadar
Nem	%	17,2	13,4-22,9	16,3	12,2-18,2
Fruktoz	%	38,19	27,25-44,26	31,80	2,91-38,12
Glikoz	%	31,28	22,03-40,75	26,08	19,23-31,86
Sükroz	%	1,31	0,25-7,57	0,80	0,44-1,14
Ph	%	3,91	3,42-6,10	4,45	3,90-4,88
Serbest asitlik	%	22,03	6,75-47,19	49,07	30,29-66,02
Lakton	%	7,11	0-18,76	5,80	0,36-14,09
Lakton serbest asitliği	%	0,335	0-0,950	0,127	0,007-0,385

#### 1.4. Apiterapide Balın Yeri ve Önemi

Bal; düşük su, yüksek invert şeker ve antioksidan içeriğine ek olarak mineral ve protein içerikleri ile besinsel açıdan zengin bir gıda ürünüdür. Besinsel önemine ek olarak balın, tedavi edici özelliği de vardır. 1800’lerde bilimsel olarak literatüre giren bu özellik antibiyotiklerin keşfi ile unutulmaya yüz tutmuştur. Ancak günümüzün en büyük sorunlarından biri haline gelen antibiyotiklere karşı dirençli bakterilerin sayısının gittikçe artması, sürdürülebilir, doğal ve etkili bir yöntem olan bu tedavi edici

bileşeni ve diğer arıcılık ürünlerini Apiterapi kavramı içinde yeniden önemli hale getirmiştir. Apiterapi; arı zehri, bal, polen, propolis gibi arıcılık ürünlerinin sağlık sektöründe tedavi amaçlı kullanılması yaklaşımıdır. Tüm arıcılık ürünlerinin, özünde bulunan farklı bileşenler ile iyileştirici etkileri vardır. Balın antimikrobiyel özelliği, yüksek ozmotik dengesi, düşük pH değeri, içeriğinde bulunan hidrojenperoksit ( $H_2O_2$ ), flavonoidler, metilglioxal, lizozim, uçucu bileşenler ve arı defensin-1 gibi birçok parametrenin toplamı sonucu oluşmaktadır (Kwakman ve Zaat, 2012; Mercan ve ark., 2007). Balın antimikrobiyal özelliklerini, içeriğinde bu bileşenlerin bulunup bulunmadığı, kaç tanesinin aynı anda ya da dozda bulunduğu belirlemektedir. Baldaki bileşen dağılımının değişkenliği ve antimikrobiyal etki, balın flora orijinine ve kombinasyonuna (çiçek turu, tek-çok), kaynağına (çiçek-salgı), iklim özelliklerine (kurak-nemli), renk (açık-koyu) vb. etkenlere bağlıdır (Al-Waili, 2004; McLoone ve ark., 2016; Taormina ve ark., 2001). Bal ve bal çözeltileri, en yüksek etkiyi antibakteriyel olarak bakteriler üzerine gösterir, fakat, maya, küf ve hatta virüslere karşı, anti fungal ve anti viral etkileri olduğu da ifade edilmektedir (Efem ve Awara, 1992; Mercan ve ark., 2007; Mutlu ve ark., 2017). Bal ve konsantrasyonlarının antibakteriyel etkileri değişik türden ve alandan birçok bakteri üzerinde denenmiştir. Gıda zehirlenmelerine, idrar yolu enfeksiyonlarına, ekzema türü deri hastalıklarına, inflamasyonlara, göğüs ve appendisit abselerine ve cerrahi ya da açık yaralarda enfeksiyona kadar birçok alanda anomali kaynağı olan bakterilere karşı etkinlikleri, hastalığı önleyici ve tedavi edici etkileri incelenmiştir (Efem ve ark., 1992; McLoone ve ark., 2016). Dünyanın farklı bölgelerine özgü ballar ile yaralarda gelişen bakteriler üzerine yapılan etkinlik çalışmalarında; bal örneklerinin en yüksek antibakteriyel etkilerinin % 100 konsantrasyonda olduğunu ve azalan konsantrasyon ile de bu etkinin azaldığı gösterilmiştir (Efem ve ark., 1992; Mercan ve ark., 2007). Bilimsel anlamda umut verici olan bir diğer bulgu da balların antibiyotiğe dirençli bakterilerin gelişimini engelleyen özelliklerinin olduğu ve antibiyotiklere karşı oluşabilecek bir direnci de engellemeleridir (Mercan ve ark., 2007). Bu antibakteriyel etkiler balın iyileştirici etkileri ile birleşince yaraların tedavisinde, daha az ağırlı, daha kısa süreli, daha doğal ve az maliyetli tablolar çıkmaktadır.

## 1.5. Yara ve İyileşme Süreci

Yara, canlı dokunun fonksiyonel ve anatomik bütünlüğünün bozulmasıdır (Ekmekçi ve Bostancı 2002). Yara iyileşmesi ise derinin anatomik yapısının bozulması ile başlayıp, yeni dokunun oluşması ile sonlanan biyokimyasal ve hücrel bir olaydır. Yara iyileşmesinde temel prensip doku hasarını minimum seviyeye çekmek, bölgenin yeterli şekilde oksijenlenmesini ve dokunun düzgün beslenmesini sağlamaktır. Yara iyileşmesi evrelere ayrılmış olsa bile iyileşme evreleri birbiri içerisine geçmiş; başlama ve bitiş zamanları net bir şekilde ayrılmamış kompleks olaylar zinciridir (Zwaka ve Thomson, 2005).

Yara İyileşmesi Üç dönemi kapsar:

1. Yangısal yanıt dönemi
2. Fibroblastik tamir dönemi
3. Olgunlaşma ve yeniden şekillenme dönemi

1. Yangısal Yanıt Süreci: Bu süreçte çeşitli kimyasal mediyatörler (histamin, lökotrien, sitokinler) salınarak yaranın geliştiği bölgeye nötrofil lökosit, makrofajların ulaşmasını ve sıvı eksudasyonunu geliştirirler. Bir taraftan trombositlerin kollajenlere yapışmasıyla, bir taraftan da hasarlı bölge damarlarından salınan tromboplastinin trombin-fibrinojen üzerinden fibrinle organize pıhtı gelişmesiyle 2-4 gün içerisinde ilk akut süreç tamamlanmış olur. İlerleyen kronik süreçte buraya makrofaj, lenfosit, plazma hücreleri ve fibroblastlar ulaşır. Akut aşamadan kroniğe geçişte bir spesifik bir süre belirtilmemektedir. Ancak farmakolojik etkinlik açısından kronik süreçlerde direnç gösterildiği belirtilmektedir (Hildebrand ve ark., 2005; Velnar, 2009).

2. Fibroblastik Onarım Süreci: Fibroplazi ile birlikte bir önceki dönemde şekillenen pıhtının granülasyon dokusuna dönüşümü sağlanır. Burada fibrosit, fibroblast, kollajen iplikler ile granülasyon dokusuna gömülü vaziyette damarlar

dikkati çeker. Bölgede kollajen, elastin, temel madde, proteoglikan ve glikozaminoglikanlar da ekstraselüler matriksin oluşumunu gerçekleştirir. Özellikle hasarlı deride bu dönemde tip III kollajenlerin oranı diğerlerine göre yüksektir. Bu da 4-6 haftalık bir süreci kapsar (Barrientos, 2008; Thompson, 2002).

3. Olgunlaşma ve Yeniden Şekillenme Süreci: Burada skatriks dokusu oluşur. Kollajen tip III'lerin sayısı azalır tip I'lerin sayısı artar. Damarların sayısı da azalır. Bu süreç de bir öncekine ilaveten 3 haftayı kapsar (Denegar ve Prentice, 2010).

Yara iyileşmesine etki eden sebepler ise; yara alanı, mikro ve makro boyuttaki travmalar, dokuda hasarlı ancak pürüzsüz yara dudaklarının kusursuz bir şekilde bir araya gelmesiyle primer iyileşmenin sağlanması, yara dudaklarının birleşmesi için yeterli kas spazmı, kortikosteroidlerin ilk dönemde kullanımıyla fibroplazinin, kapillarizasyonun, kollajen sentezinin azaltılıp bölgede tonositenin sağlanarak iyileşmenin teşvik edilmesi, keloid gibi yapıların gelişmemesi, sekonder enfeksiyonların oluşmaması, yaralı dokunun sıcaklığı, nemlenmesi ve oksijenlenebilmesi, sağlıklı olma, yaş, beslenme (Vit A, C, K, Zn ve bazı aminoasitler gibi) olarak belirtilmektedir (Hildebrand ve ark., 2005; Thompson, 2002).

Bu tez çalışması kapsamında; Ülkemizin iki farklı ilinden alınan ve farklı iki kaynaktan elde edilen ballardan hazırlanan kremlerin, sıçan modelinde olacak şekilde yara iyileşmesi üzerine olası etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla Düzce ve Muğla'dan alınan Kestane ve Çam balından hazırlanan kremler, deneysel olarak yara oluşturulan sıçanlarda çalışılmıştır. Yara modeli olarak punch biyopsi aparatı ile tam kat yara modeli oluşturulmuştur. Ülkemize özgü balların yara iyileşmesi üzerine etkisi bilimsel ölçeklerle değerlendirilerek gösterilmeye çalışılmıştır.



## **2. GEREÇ ve YÖNTEM**

### **2.1. Gereç**

#### **2.1.1. Kimyasal Maddeler**

Dietil eter (Merck )

HCl (Merck)

Etil alkol (Merck)

Formaldehit (Merck)

Hemotoksilen-eosin (HE)

Hidroksiprolin kiti (Sigma MAK008-1KT)

#### **2.1.2. Cihazlar ve Laboratuvar Malzemeleri**

Spektrofotometre (Shimadzu-Japonya)

Mikroskop (Leica DM2500)

Ototeknikom (Leica TP1020)

Mikrotom (Leica)

Lamel (Abcam)

Lam, Polylysine (Abcam)

- 20 °C Buzdolabı (Panasonic MPR-414F-PE Model)

- 80 °C Buzdolabı (Panasonic MDF-U5386S Model -86 °C Dik Tip Derin Dondurucu)

+4 °C dolap (Arçelik 4252 EY)

Saf su sistemi (Millipore Rios-UV, Millipore simplicity UV)

Santrifüj (Universal 320 R)

Terazi (Sartorius basic hassas terazi)

Etüv (HERAEUS)

Vorteks (Velp Scientifica, 2X3)

Alan hesaplama bilgisayar programı (SKETCHANDCALC)

Otomatik pipetler (Ependorf 100-1000 µl, 10-100 µl, 1-10 µl)

Bistüri, makas, pens, biopsy punch, steril idrar kapları, krio tüpler, desikatör, mikrotom bıçağı, pamuk ve falkon tüp (15 ml) kullanıldı.

### **2.1.3. Hayvan Materyali**

Çalışmada sağlıklı 56 adet 6-8 haftalık Wistar Albino ırkı erkek rat (250-350 g) kullanıldı. Deney Hayvanları Ankara Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarından temin edildi. Deneysel çalışma T.C. Kırıkkale Üniversitesi Hüseyin Aytemiz Deneysel, Araştırma ve Uygulama Ünitesi'nde gerçekleştirilmiştir.

Ratları araştırmaya dâhil edilmeden, iki hafta boyunca ortama uyum sağlamaları için herhangi bir uygulama yapılmadan barındırılmıştır. Deney süresi boyunca yem ve su ihtiyaçları *ad libitum* olarak sağlandı. Yem içeriğinde ham protein % 20, ham selüloz % 4.5, ham yağ % 5, ham kül % 9, lizin %1.12, metiyonin % 0.45, sistin % 3, Vitamin A 15.000 IU/kg, Vit D 2.300 IH/kg oranında bulunmaktadır. Hayvanlar 12 saat ışık/karanlık siklusu ayarlanabilir odalarda uygun nem ve ısıda barındırılmıştır. Uygulama öncesi ve sırasında standart rat besleme uygulaması yapıldı ve su *ad libitum* olarak verilmiştir.

### **2.1.4. Bal Numunelerinin Temin Edilmesi ve Analizi**

Çalışma kapsamında yara tedavisindeki etkileri yönüyle iki farklı bal çalışılmıştır; bunlar kestane balı ve çam balı olarak belirlenmiştir. Bal numunelerinden kestane balı Düzce İli Arı Yetiştiriciler Birliği tarafından; çam balı ise Muğla ili Arı

Yetiştiricileri Birliği'nden ve 1 kilogramlık cam kavanozlar şeklinde alınmıştır. Alınan bal örneklerinde antibiyotik kalıntısı yönüyle analizler gerçekleştirilmiştir. Ayrıca ballar genel özellikleri itibariyle de analiz edilmiştir. Analiz işlemi hizmet alımı yapılarak Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Gıda Analizleri Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yapılmıştır. Bal analizlerinde farklı metodlar kullanılmıştır. Polen analizinde DIN 10760; nem, iletkenlik, prolin, pH, serbest asitlik, diastaz, HMF, şeker profili, naftalin analizi ve antibiyotik tayininde In-House Method; protein ve ham bal analizinde TS 13262 metodları kullanılmıştır.

#### **2.1.5. Balların Sterilizasyonu**

Kalıntı ve içerik analizlerinden sonra krem formülasyonunda kullanılmak üzere balların spor ve bakteri açısından sterilizasyonu gama ışınlaması (Cobalt (Co-60) gamma radiation) kullanılarak yapılmıştır. Balın içerisinde olası anaerobik bakteri sporlarının yıkımlanması için yapılmıştır. Gama ışınlama işlemi ise GAMMA PAK Sterilizasyon San ve Tic. A.ř. tarafından gerçekleştirilmiştir. Balların sterilizasyonunda 5 kGy dalga boyu kullanılmıştır.

#### **2.1.6. Krem Formülasyonunun Hazırlanması**

Sterilizasyon işlemi gerçekleştirilen balların krem halinde farmasötik bir ürüne dönüştürülmesi NEHAR CEMICALS firmasında gerçekleştirilmiştir. Krem formülasyonlarının hazırlanmasında yardımcı maddeler olarak; gliserin, methyl paraben, sodyum benzoate, liquid paraffin, cetyl cetearil alcohol bulunurken; % 25 oranında da bal katılmıştır.

## **2.2. Yöntem**

### **2.2.1. Etik Kurul Onayı**

Araştırma, T.C. Kırıkkale Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu'nun 31/03/2016 tarihli toplantısında alınan (Toplantı Sayısı:16/03, Toplantı Kararı: 16/44) onay çerçevesinde gerçekleştirilmiştir.

### **2.2.2. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deney Protokolü**

Deneyisel yara modeli olarak Park ve ark. (2012) tarafından tanımlanan model uygulanmıştır (Park ve ark., 2012). Sıçanlar dietil eter ile anesteziye alındıktan sonra deneyisel olarak oluşturulacak yara bölgesi traş edilmiş ve bölge povidone iodine (betadine) ile temizlenmiştir. 'Punch' biyopsi aleti ile bütün ratlarda dorsal torasik bölgeye her biri orta hattın yaklaşık 1 cm uzakta olacak şekilde, 10 mm çapında ikişer adet tam kalınlık eksizyon yarası oluşturulmuştur. Bununla birlikte çalışmada kullanılan deney hayvanları her grupta 14 adet olacak şekilde 4 gruba ayrılmıştır. Gruplar:

A grubu (kontrol): Deri defekti oluşturulan ve herhangi bir pansuman uygulaması yapılmayan,

B grubu (kontrol): Deri defekti oluşturulan ve sadece taşıyıcı maddesi uygulanan,

C grubu (Çam Balı Kremi): Deri defekti oluşturulan ve çam balı kremi uygulanan,

D grubu (Kestane Balı Kremi): Deri defekti oluşturulan ve kestane balı kremi uygulanan, olarak belirlenmiştir.

Hayvanlar deneme süresi boyunca tekli kafeslerde muhafaza edildi ve krem uygulamaları yarayı kapatacak miktarda uygulanmıştır.

**Çizelge 2.1.** Deneme grupları ve gerçekleştirilen uygulamalar.

Gruplar	Uygulama
A grubu (n=14)	Deri defekti oluşturulan ve herhangi bir pansuman uygulaması yapılmayan
B grubu (n=14)	Deri defekti oluşturulan ve sadece taşıyıcı maddesi uygulanan
C grubu (n=14)	Deri defekti oluşturulan ve Çam balı kremi uygulanan
D grubu (n=14)	Deri defekti oluşturulan ve Kestane balı kremi uygulanan

Deneysel çalışmalar kapsamında her grup için 2 alt grup oluşturulmuştur. Her alt grupta da hayvan sayısı 7 olacak şekilde belirlenmiştir. Geliştirilen kremler her gün yara alanını kapatacak şekilde yara üstüne sürülerek uygulanmıştır. İlk 7 gün sonunda alt gruplardan her birindeki hayvanlar sakrifiye edildi ve histopatolojik değerlendirmeler için deri örnekleri alınmıştır. Alt gruplardaki diğer hayvanlara 14 gün boyunca uygulama yapılarak, sıçanlar muhafaza edilmiştir. Hayvanlar 14. günün sonunda eter anesteziye alınarak sakrifiye edilmiştir. Bu sürenin sonunda bütün hayvanlar sakrifiye edilerek yine deri örnekleri alınmış, yapılacak testlerin niteliğine göre örnekler tamponlu formalinde fikse edilmiş ya da analizleri yapılmaya kadar -80 °C’de muhafaza edilmiştir.



**Şekil 2.1.** Deneysel çalışmalarda hayvanların barındırılması ve yaraların oluşturulması.

### **2.2.3. Morfometrik Parametreler**

Çalışmanın başlangıcından itibaren, deneysel uygulamalar tamamlanana kadar her gün sıçanların yaraları kontrol edilmiştir. Çalışmanın 7. ve 14. günlerinde sakrifiye edilen hayvanlardan alınan deri örnekleri krio tüpler içerisine konularak kuru buz ile derin dondurucularda saklandı. Deneysel çalışmalar sırasında sıçanlardaki tüm klinik bulgular da ayrıca gözlenmiştir. Histopatolojik değerlendirme için Çizelge 2.2. Modifiye Greenhalgh yöntemi kullanılmıştır.

### **2.2.4. Hidroksiprolin Analizi**

Yara iyileşmesinin değerlendirilmesinde biyokimyasal analizler içerisinde hidroksiprolin testi de son derece önemlidir. Bu test kollejen düzeyinin ölçülmesi için spesifik kabul edilmektedir. Dolayısıyla deneysel çalışmalar sırasında alınan doku örneklerinde hidroksiprolin seviyeleri de analiz edilmiş ve yara iyileşmesi yönüyle gruplar arasındaki farklılıklar bu anlamda değerlendirilmiştir. Hidroksiprolin testi için Sigma firmasının hidroksiprolin tanı kiti kullanılmıştır. Kullanılan maddeler ve analiz prosedürü aşağıda gösterilmiştir.

#### **Kullanılan Çözeltiler:**

Oxidation Buffer 10 ml, Chloramine T Concentrate 0,6 ml, Perchloric Acid/Isopropanol Solution 5 ml, DMAB Concentrate in DMSO 5 ml, Hidroksiprolin Standard, 1 mg/ml 0,1 ml, 12 M HCl (Hidroklorik Asit).

#### **Kolorimetrik Ölçüm İçin Hidroksiprolin Standartları:**

0,1 mg/mL standart solüsyon hazırlamak için 1 mg/ml Hidroksiprolin Standard Solution'dan 10 µl alarak 90 µl distile su ilave ederek hazırlanır. 96'lık plate 0, 2, 4,

6, 8 ve 10 µl olacak şekilde standart eklenmiştir. Kör (0), 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 ve 1,0 µl/ kuyucuk standart olacak şekilde hesaplanmıştır.

### **Örneklerin Hazırlanması:**

Örnekler -80 °C'den alınarak +4 °C'de çözündürüldü. 0,1 gram olacak şekilde tartıldı ve kriyotüplere aktarılmıştır. Üzerine 100 µl 12 M HCl eklendi ve 120 °C'de 3 saat boyunca dokuların parçalanması sağlanmıştır. Daha sonra örneklerden 10 µl alınarak 96'lık plate aktarılmıştır.

### **Test Reaktiflerinin Hazırlanması:**

Kullanılacak test kitleri taze olarak sulandırılmıştır. Hazırlandıktan 2-3 saat sonra stabil hale geldiği için, test başlangıcından hemen önce örneklere göre hazırlanmıştır. Her reaksiyon için kloramin T/Oksidasyon tamponu karışımı 100 µl kullanılmıştır.

### **Seyreltilmiş DMAB Reaktifi:**

Her reaksiyon için 100 µL gereklidir. Dolayısıyla her kuyu için 50 µL DMAB reaktifi 50 µL perklorik asit/izopropanol çözeltisine eklenip, iyice karıştırılmıştır.

1. Her numuneye ve standart kuyuya 100 µL Kloramin T/Oksidasyon tamponu karışımı eklenilmiş ve oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilmiştir.
2. Seyreltilmiş DMAB reaktifinin 100 µL'sini her numuneye ve standart kuyuya eklenilmiş ve 60 °C'de 90 dakika inkübe edilmiştir.
3. 560 nm (A560) dalga boyunda ölçüm yapılmıştır.



## Hesaplama Yapılması:

Hidroksiprolin Assay Kit (MAK008)'te belirtilen fomüle göre yapılmıştır.

Hidroksiprolin konsantrasyonu

$$S_a / S_v = C$$

$S_a$  = standart eğriden bilinmeyen numunede (g) hidroksiprolin miktarı

$S_v$  = numune hacmi (L) kuyulara eklenir

$C$  = numunede hidroksiprolin konsantrasyonu

$$S_a = \frac{(A_{560})_{\text{sample}}}{(A_{560})_{\text{spiked control}} - (A_{560})_{\text{sample}}} \times 0.4 \mu\text{g}$$

**Çizelge 2.2.** Modifiye Greenhalgh yönteminde yara iyileşmesi skorlama sistemi (Paydar ve ark., 2016).

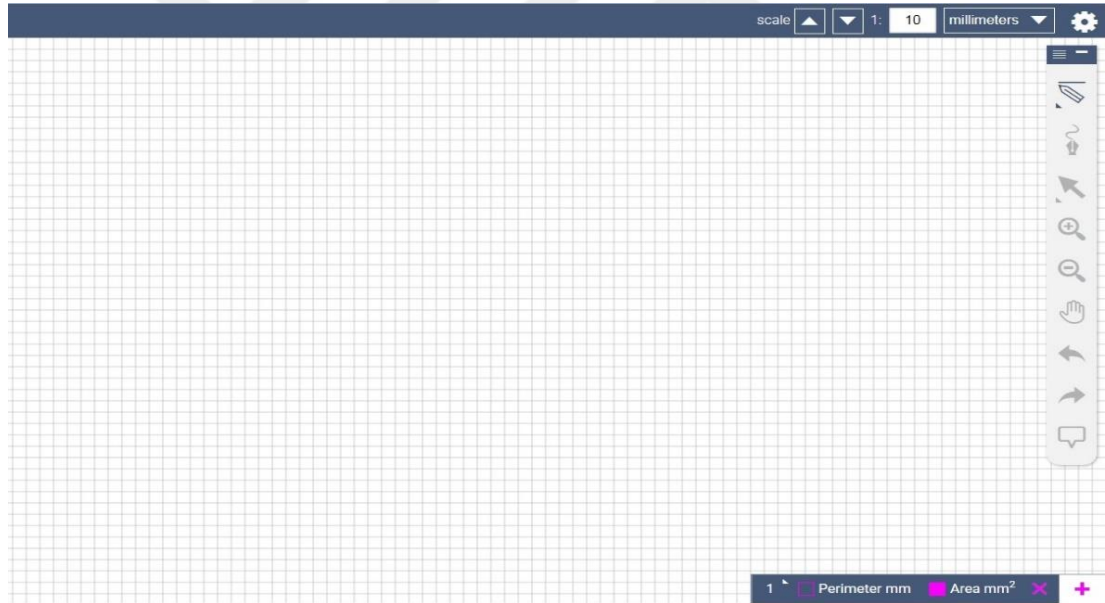
Değişken	0	1	2	3
Akut Yangı	Yok	Yetersiz	Orta	Şiddetli
Kronik Yangı	Yok	Yetersiz	Orta	Şiddetli
Granülasyon doku miktarı	Yok	Yetersiz	Orta	Şiddetli
Granulasyon doku olgunlaşması	Olgunlaşmamış	Hafif	Orta	Tam olgunlaşmış
Kollajen miktarı	Yok	Yetersiz	Orta	Şiddetli
Reepitelizasyon	Yok	Yetersiz	Tamamlanmış (Olgunlaşmamış veya İnce)	Tamamlanmış (Tam olgun)
Neovaskularizasyon	Yok	Her HPF*de 5	Her HPFde 6-10 damar	Her HPFde 10

HPF\* High Power Field.

### 2.2.5. Alan Hesaplama Bilgisayar Programı

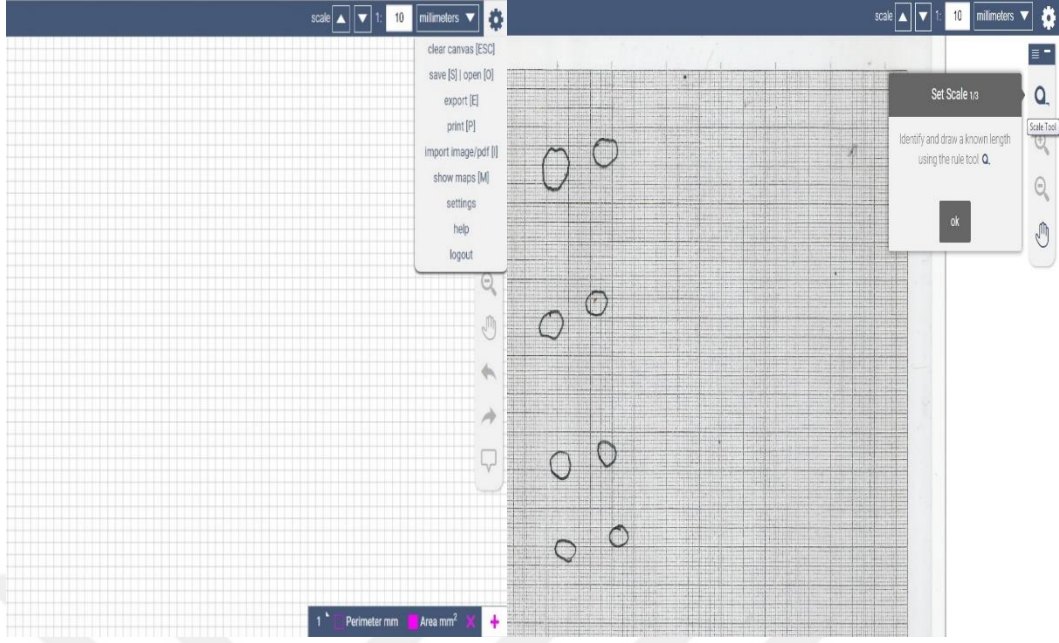
Deneyisel çalışmalar kapsamında oluşturulan yaraların iyileşme sürecini tespit edebilmek amacıyla, ratların anestezisi yapılarak ve 0,3 mm çapında ucu olan kalıcı markır ile asetat kağıdına yaraların boyutu çizilmiş ve bu uygulama 2 gün arayla olacak şekilde tekrarlanmıştır.

Yaralar üzerinden asetat kâğıda geçirilen çizimler tarayıcı ile bilgisayar ortamına aktarılmış ve aktarılan dosya "sketchandcalc" programları ile değerlendirilmiştir. Bununla birlikte yara oluşturulan hayvanlarda fotoğraf çekimi ile yara alanlarının değişim sürekli Şekil 2.2 ve 2.3'te gözlenmiştir.



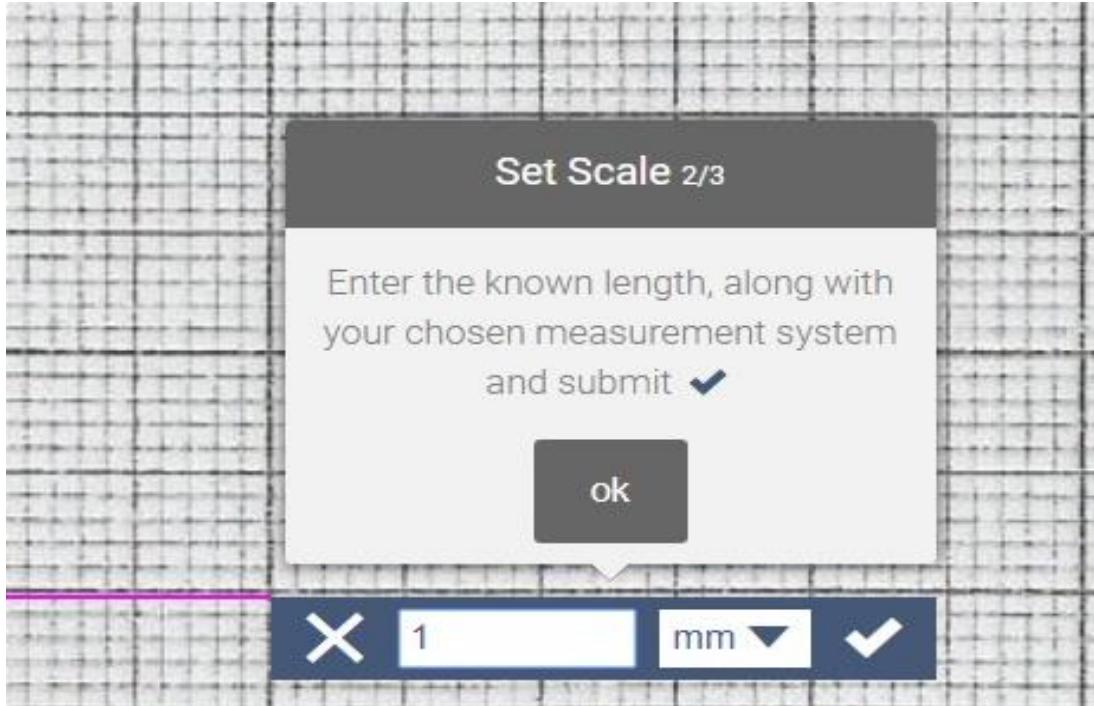
Şekil 2.2. Bilgisayar programının ana ekran görüntüsü.

Programın ana ekran görünümü Şekil 2.2.'de verilmiştir. Ekranın sağındaki araçlar kullanılarak ölçüm gerçekleştirilmektedir.



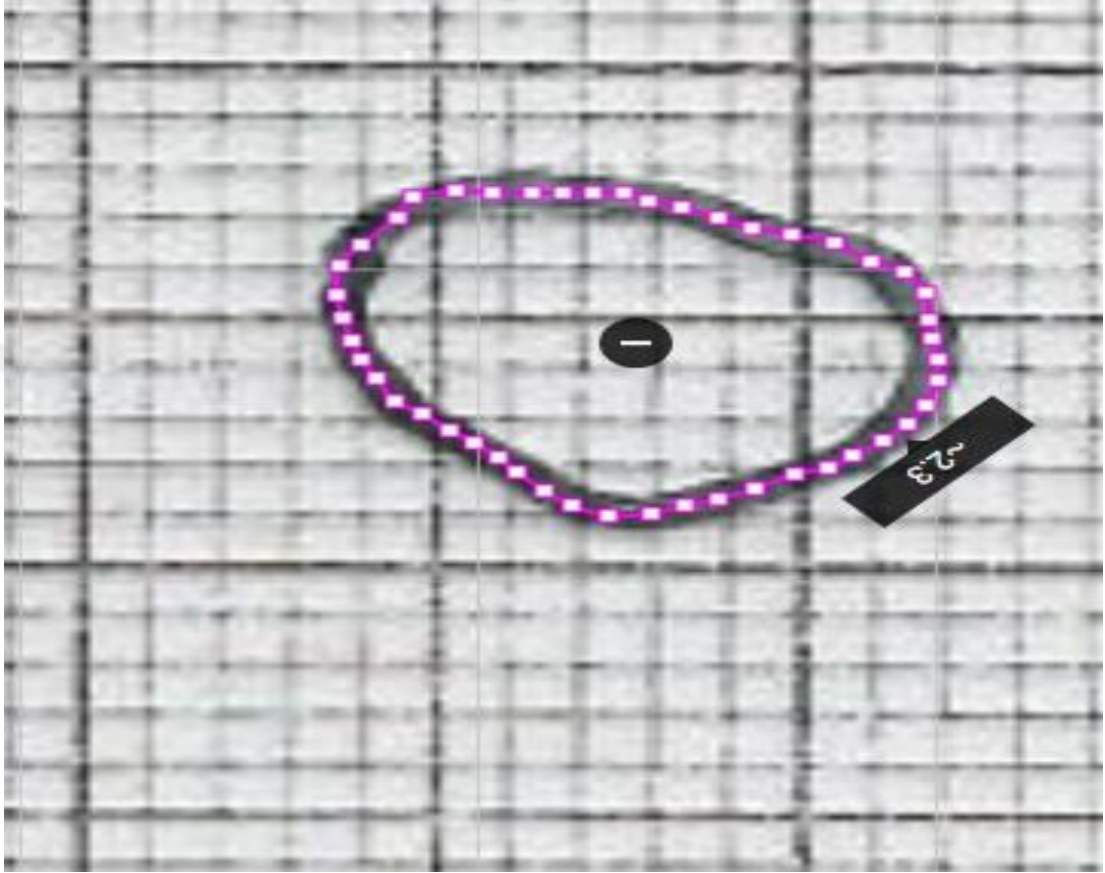
Şekil 2.3. Programda alan hesaplamasının yapılması

Ekranın sağ üstündeki ayarlar sekmesinde “import image/pdf” secilerek alan hesaplaması yapılacak görüntü sisteme yüklenir.



Şekil 2.4. Programda ölçüm yapılması.

Cetvel özelliği sayesinde ölçüm yapılacak görüntü üzerinde ölçeklendirme yapılmaktadır. Şekil 2.4.'te gösterildiği gibi işaretlenen boyut mm/cm cinsinden kaydedilir. "Curve Tool" segmesi kullanılarak da istenilen alanın sınırları belirlenir.



Şekil 2.5. Programda yara alanlarının hesaplanması.

### 2.2.7. İstatistiki Hesaplamalar

Elde edilen tüm değişkenler; önemlilik testlerine geçilmeden önce parametrik test varsayımlarından normallik yönünden Shapiro Wilk testi, varyansların homojenliği yönünden ise Levene testi ile incelendi. Tanımlayıcı istatistikler hesaplanarak "Aritmetik Ortalama  $\pm$  Standart hata" şeklinde gösterilmiştir. 7 günlük yara ölçüm alanı ve 14 günlük yara ölçüm alanı üzerine grup, zaman ve bunların

etkileşimlerinin etkisi MIXED prosedürü ile analiz edildi. Modele, gruplardaki hayvanlar rastgele etkiler; grup, zaman ve bunları etkileşimleri ise sabit etkiler olarak dahil edilmiştir. Çoklu karşılaştırmalar için Bonferroni testinden yararlanılmıştır. Tüm istatistiksel analizlerin değerlendirilmesinde  $p < 0.05$  kriterinden yararlanılmıştır. Histopatolojik değerlendirmenin sonuçlarında tanımlayıcı istatistikler “Medyan (Minimum-Maksimum)” şeklinde gösterilmiştir. 7 günlük yara skoru ve 14 günlük yara skoru üzerine zaman etkisi Wilcoxon Signed Rank test ile analiz edilmiştir. Yara skorlarının 7. ve 14. günde gruplar arasındaki farklılığının belirlenmesinde Kruskal-Wallis testi uygulanmıştır. Anlamlı bulunan parametreler için post-hoc test olarak Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi uygulanmıştır. Hidroksiprolin analizinde, değişkenler arası farklılığın istatistiksel açıdan kontrolü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) ile yapılmıştır. Gruplar arası farklılığın anlamlı çıktığı değişkenler için ileri aşama (post-hoc) testi olarak Duncan testi’nden yararlanılmıştır. Tüm istatistiksel analizler minimum %5 hata payı ile incelendi. Tüm analizler SPSS (V22.0) paket programı aracılığı ile gerçekleştirilmiştir.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Bal Analizi

Deneysel çalışmalarda kullanılacak kremlerin hazırlanmasında önce ballarda kalıntı ( naftalin, antibiyotik) ve içerik analizleri yapılmıştır. Buna göre Çam Balı ve Kestane Ballarının analizi sonucunda antibiyotik ve naftalin kalıntısı tespit edilmemiştir. İçerik analiz sonuçları değerlendirildiğinde ise balların orjinlerinin doğrulandığı ve Bal Tebliğinde yer alan sınırlar içerisinde olduğu gösterilmiştir. Analiz sonuçları Çizelge 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5 ve 3.6’de verilmiştir.

**Çizelge 3.1.** Kestane balı polen analizi.

Yapılan Analiz Polen (Botanik ve Coğrafi Orjin)	Sonuç	Ölçüm Birimi	Ölçüm Limiti(LOQ)	Analiz Metodu
İzole Edilen Baskın Polen (>%15)	<i>Castanea sativa</i> Miller (Fagaceae)		% 50	DIN 10760
İzole Edilen Belirgin Polen (>%1)	<i>Helianthus annuus</i> L. (Asteraceae)		% 10	DIN 10760
	<i>Astragalus odoratus</i> L. (Asteraceae)		% 5	DIN 10760
İzole Edilen Polen (<%1)	Apiaceae		% 1	DIN 10760
	Poaceae		% 1	DIN 10760

**Çizelge 3.2.** Kestane Balı içerik analizi.

Yapılan Analiz	Sonuç	Ölçüm Birimi	Ölçüm Limiti(LOQ)	Analiz Metodu
Nem	20,28	%		IHC
İletkenlik	1,72	mS/cm		IHC
Prolin	855,08	mg/kg		IHC
pH	4,78	pH		IHC
Serbest Asitlik	19,82	mmol/kg		IHC
Diastaz	9,80			IHC
HMF	24,05	mg/kg		IHC
Şeker Profili				
Fruktoz+Glukoz	59,87	g/100g		IHC
Fruktoz/Glukoz	1,62			IHC
Sakkaroz	N.D.	g/100g		IHC
Naftalin	N.D	mg/kg		In-House Method
Protein (Delta 13C)	-26,40			TS 13262
Ham Bal (Delta 13C)	-26,56			TS 13262

Balda protein ve ham bal delta C13 değerleri farkı	0,17			TS 13262
Delta C13 Değerinden hesaplanan C4 Şeker Oranı	0,00	%		TS 13262

**Çizelge 3.3.** Kestane balı antibiyotk analizi.

Yapılan Analiz	Sonuç	Ölçüm Birimi	Ölçüm Limiti(LOQ)	Analiz Metodu
<b>Sülfonamide Grubu Antibiyotikler</b>				
Sulfacetamide	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Sulfadiazine	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Sulfamethoxazole	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Sulfamerazine	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Sulfisoxazole	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Sulfamethizole	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Sulfabenzamide	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Sulfamethazine	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Sulfachloropyridazine	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Sulfadimethoxine	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Sulfathiazole	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Sulfathiazole	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Sulfameter	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Sulfamethoxipyridazine	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Sulfadoxine	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method

<b>Tetracycline Grubu Antibiyotikler</b>				
Methacycline	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Epitetracycline	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Doxycycline	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Tetracycline	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Oxytetracycline	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Epi Oxytetracycline	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Epro Chlortetracycline	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Chlortetracycline	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Chloromphenicol	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method

**Çizelge 3.4.** Çam balı polen analizi.

Yapılan Analiz: Polen (Botanik ve Coğrafi Orjin)	Sonuç	Ölçüm Birimi	Ölçüm Limiti(LOQ)	Analiz Metodu
İzole Edilen Baskın Polen (>%15)	<i>Pinus brutia</i> (Pinaceae)		%50	DIN 10760
	Astragalus subsp. (Fabaceae)		%18	DIN 10760
İzole Edilen Belirgin Polen (>%1)	<i>Erica manipuliflora</i> Salisb. (Ericaceae)		%12	DIN 10760
	Asteraceae		%5	DIN 10760
İzole Edilen Polen (<%1)	Apiaceae		%1	DIN 10760
	Asteraceae		%1	DIN 10760
	Poaceae		%1	DIN 10760

**Çizelge 3.5.** Çam balı içerik analizi.

Yapılan Analiz	Sonuç	Ölçüm Birimi	Ölçüm Limiti (LOQ)	Analiz Metodu
Nem	17,96	%		IHC
İletkenlik	1,24	mS/cm		IHC
Prolin	801,9	mg/kg		IHC
pH	4,61	pH		IHC
Serbest Asitlik	21,85	mmol/kg		IHC
Diastaz	19,97			IHC
HMF	1,09	mg/kg		IHC
Şeker Profili				
Furuktoz+Glukoz	62,44	g/100g		IHC
Fruktoz/Glukoz	1,19			IHC
Sakkaroz	N.D.	g/100g		IHC
Naftalin	N.D.	mg/kg		In-House Method
Protein (Delta 13C)	-26,34			TS 13262
Ham Bal (Delta 13C)	-27,19			TS 13262
Balda protein ve ham bal delta C13 değerleri farkı	0,85			TS 13262
Delta C13 Değerinden hesaplanan C4 Şeker Oranı	0	%		TS 13262

**Çizelge 3.6.** Çam balı antibiyotik analizi.

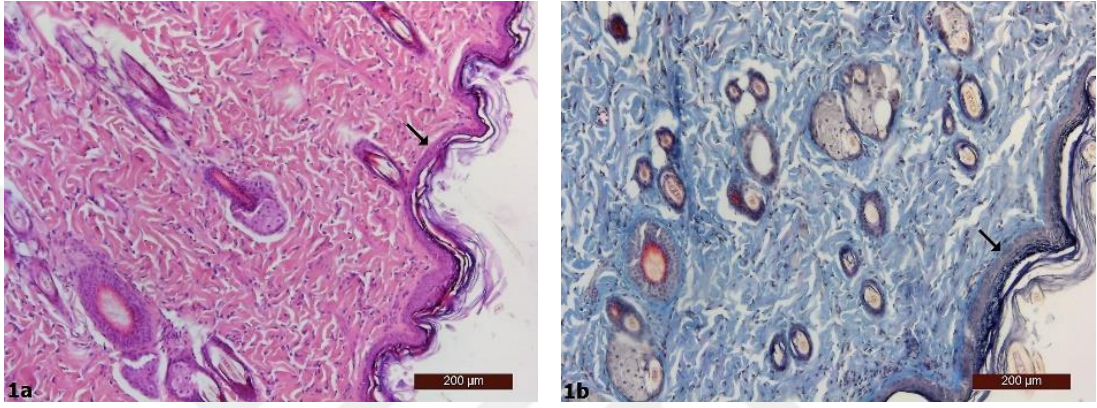
Yapılan Analiz	Sonuç	Ölçüm Birimi	Ölçüm Limiti (LOQ)	Analiz Metodu
<b>Sülfonamide Grubu Antibiyotikler</b>				
Sulfacetamide	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Sulfadiazine	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Sulfamethoxazole	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Sulfamerazine	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Sulfisoxazole	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Sulfamethizole	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Sulfabenzamide	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Sulfamethazine	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Sulfachloropyridazine	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Sulfadimethoxine	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Sulfathiazole	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Sulfathiazole	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Sulfameter	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Sulfamethoxypyridazine	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Sulfadoxine	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method

<b>Tetracycline Grubu Antibiyotikler</b>				
Methacycline	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Epitetracycline	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Doxycycline	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Tetracycline	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Oxytetracycline	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Epi Oxytetracycline	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Epro Chlortetracycline	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Chlortetracycline	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method
Chloromphenicol	Saptanmadı	µg/kg	< 5,00 µg/kg	In-House Method



### 3.2. Histopatolojik İncelemeler

Sıfırncı gün (56 adet): A, B, C ve D gruplarından alınan 14'er adet doku örneği incelendi. Tüm doku örneklerinde epidermisin sağlam olduğu (Şekil 3.1) ve damarların hiperemik olduğu görüldü. Ayrıca operasyonla ilgili alanlarda kanamalar gözlemlendi.

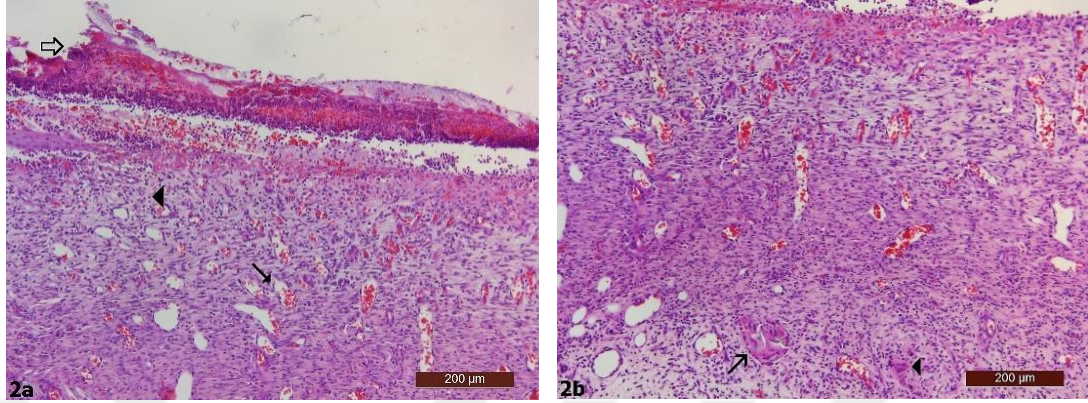


**Şekil 3.1.** Sıfırncı gün sıçan dokularının histopatolojik inceleme. **a-b:** Sağlam epidermis (oklar) ve dermis dokusu. a: HxE b: Masson Trikrom (0. gün).

A grubu 7. gün (7 adet): Epidermiste tüm olgularda yeni şekillenmeye başlayan epitelin rejenerasyonu görüldü. Dermisin ret. papillaresinde kollajen 3 olguda şekillenmemişken; 2 olguda hafif ve 2 olguda orta şiddetteydi. Akut yangıyla 4 olguda karşılaşılrken; 3 olguda orta şiddette ve 4 olguda şiddetli mononükleer yangı hücreleri görüldü. Bununla beraber 2 olguda hafif, 3 olguda orta ve 2 olguda şiddetli derecede granülasyon dokusunun şekillendiği dikkati çekti. Bu alanlarda tüm olgularda şiddetli neovaskülarizasyonla (Şekil 3.2) karşılaşıldı. Ayrıca 2 olguda hafif, 3 olguda orta ve 2 olguda şiddetli miktarda bağ doku hücrelerinin artışı görüldü. Olguların 5'inde çoğunlukla damar çevresinde bulunan mast hücreleri dikkati çekerken, 2 olguda eozinofil lökositlerle karşılaşıldı.

Bunların dışında; 3 olguda hem str. papillarede, hem de kas tabakasında çok sayıda bazılarının ortasında pembemsi grimsi/mavi veya yumurta benzeri bir yapının etrafının mononükleer hücrelerle, eozinofil lökositlerle ve yabancı cisim dev hücreleriyle çevrili olduğu, bazılarınınınsa en dışında fibröz bağ dokudan kapsül

bulunan granülatöz alanlar şekillendirdiği veya sadece dağınık halde bulunan yabancı cisim dev hücrelerinin (Şekil 3.2) bulunduğu dikkati çekti.



**Şekil 3.2.** A grubu 7. gün histopatolojik inceleme. Epidermiste ülser (Beyaz ok), mononükleer yangı hücreleri (siyah ok başı) ve yeni oluşan kan damarları, neovaskülarizasyon (Siyah ok). b: Yabancı cisim dev hücreleri (Siyah ok başı) ve ortasında grimsi renkte materyal bulunan amorf madde (Siyah ok), HxE (7. gün A3).

Tüm olgularda kas dokusunda kas demetlerinin birbirinden ayrıldığı, miyofibriller çizgilerini kaybettiği, sitoplazmaları pembe homojen renkte olduğu tüm olgularda dikkati çekti. Tüm olgularda interstisyel alanlarda bu hücelere çok sayıda mononükleer hücrelerle eritrosit kümeleri eşlik etmekteydi.

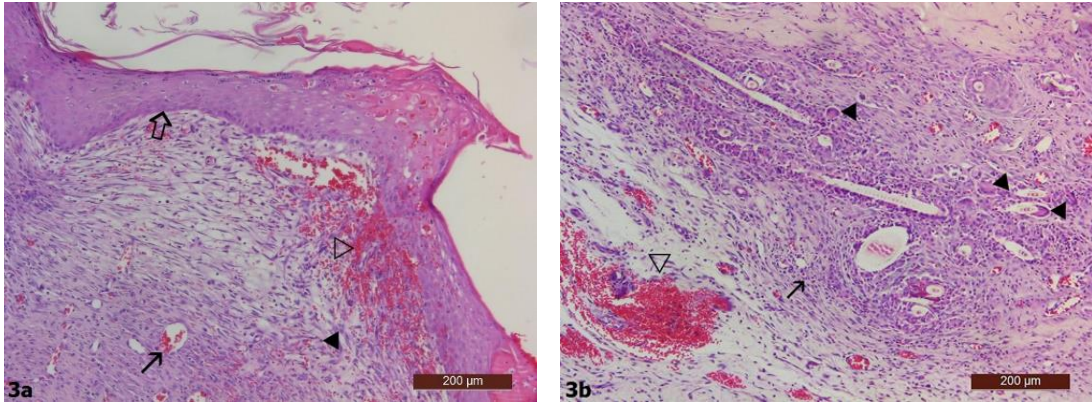
**Çizelge 3.7.** A grubu sıçan gruplarında 7. gün histopatolojik değerlendirme.

7. gün	A grubu						
Olgu no	Akut yangı	Kronik yangı	Granülasyon doku miktarı	Granülasyon doku/ Fibroblast olgunlaşması	Kollajen miktarı	Reepiteli zasyon	Neovaskül arizasyon
Değişken							
1	0	2	3	2	0	1	3
2	1	3	3	1	0	1	3
3	1	3	3	3	1	1	3
4	1	3	3	2	1	1	3
5	0	2	2	3	2	1	3
6	0	2	1	1	2	1	3
7	1	3	3	2	0	1	3

B grubu 7. gün (7 adet): Epidermiste 5 olguda yeni şekillenen epitel rejenerasyonu (Şekil 3.3a) ve 2 olguda epitelin şekillendiği ama sadece erozyonların

bulunduğu gözlemlendi. Dermisin ret. papillaresinde kollajen 5 olguda hafif ve 2 olguda orta şiddetli derecede artmıştı. Akut yangıyla 2 olguda karşılaşılrken; tüm olgularda orta şiddette mononükleer yangı hücreleri görüldü. Bununla beraber 3 olguda orta ve 4 olguda şiddetli derecede granülasyon dokusu dikkati çekti. Bu alanlarda tüm olgularda şiddetli neovaskülarizasyonla karşılaşıldı. Ayrıca, 6 olguda orta ve 1 olguda şiddetli miktarda bağ doku hücrelerinin artışı görüldü. Olguların 2'sinde çoğunlukla damar çevresinde bulunan mast hücreleri dikkati çekerken, 1 olguda eozinofil lökositlerle karşılaşıldı.

Bunların dışında; 6 olguda hem str. papillarede hem de kas tabakasında çok sayıda bazılarının ortasında grimsi/mavi veya yumurta benzeri bir yapının etrafının mononükleer hücrelerle, eozinofil lökositlerle ve yabancı cisim dev hücreleriyle çevrili bazılarının en dışında fibröz bağ dokudan kapsül bulunan granülamatöz alanlar şekillendirdiği; kıl köklerinin veya sadece dağınık halde bulunan yabancı cisim dev hücrelerinin (Şekil 3.3) bulunduğu dikkati çekti.



**Şekil 3.3.** B grubu 7. gün yara bölgesinin histopatolojik incelemesi. a: Epidermiste reepitelizasyon (Beyaz ok), mononükleer yangı hücreleri (siyah ok başı), kanama alanı (Beyaz ok başı) ve yeni oluşan kan damarları, neovaskülarizasyon (Siyah ok). b: Kıl köklerinin etrafında ve serbest halde bulunan yabancı cisim dev hücreleri (Siyah ok başları), kanama alanı (Beyaz ok başı) ve mononükleer yangı hücreler (Siyah ok), HxE (7.gün B5).

Tüm olgularda kas dokusunda kas demetlerinin birbirinden ayrıldığı, miyofibriller çizgilerini kaybettiği, sitoplazmaları pembe homojen renkte olduğu tüm

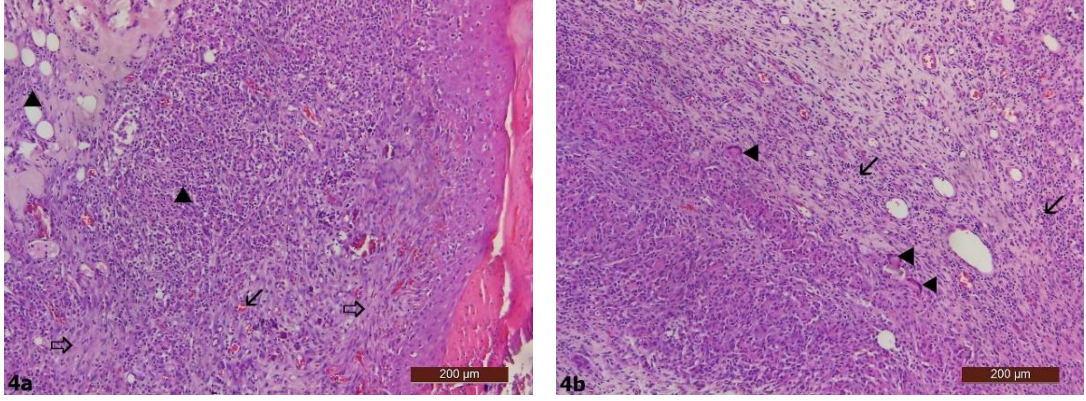
olgularda dikkati çekti. Tüm olgularda interstisyel alanlarda bu hücelere çok sayıda mononükleer hücrelerle eritrosit kümeleri eşlik etmekteydi.

**Çizelge 3.8.** B grubu sıçan gruplarında 7. gün histopatolojik değerlendirme.

7.gün	B grubu						
Olgu no	Akut yangı	Kronik yangı	Granülasyon doku miktarı	Granülasyon doku/ Fibroblast olgunlaşması	Kollajen miktarı	Reepite lizasyon	Neovaskül arizasyon
Değişken							
1	0	2	2	3	1	2	3
2	0	2	3	2	2	3	2
3	1	2	3	2	1	1	3
4	1	2	3	2	1	1	3
5	0	2	2	2	2	3	3
6	0	2	2	2	1	1	3
7	0	2	3	2	1	1	3

C grubu 7. gün (7 adet): Epidermiste 4 olguda yeni şekillenen epitel rejenerasyonu ve 3 olguda ise epitelde tam iyileşme gözlemlendi. Dermisin ret. papillaresinde kollajen 2 olguda görülmezken, 3 olguda hafif, 2 olguda orta şiddetli derecede artmıştı. Akut yangıyla 3 olguda karşılaşılrken; 1 olguda hafif, 4 olguda orta ve 2 olguda şiddetli derecede mononükleer yangı hüceleri görüldü. Bununla beraber 1 olguda hafif, 1 olguda orta ve 5 olguda şiddetli derecede granülasyon dokusu (Şekil 3.4a) dikkati çekti. Bu alanlarda tüm olgularda değişen şiddette neovaskülerizasyonla karşılaşıldı. Ayrıca 1 olguda hafif, 3 olguda orta, 3 olguda şiddetli miktarda bağdoku hücrelerinin artışı görüldü. Olguların 2'sinde çoğunlukla damar çevresinde bulunan mast hüceleri dikkati çekerken, 5 olguda eozinofil lökositlerle karşılaşıldı.

Bunların dışında; 5 olguda hem str. papillarede hem de kas tabakasında çok sayıda bazılarının ortasında grimsi/mavi veya yumurta benzeri bir yapının etrafının mononükleer hücelere, eozinofil lökositlerle ve yabancı cisim dev hücreleriyle çevrili, bazılarının en dışında fibröz bağ dokudan kapsül bulunan granülamatöz alanlar şekillendirdiği veya sadece dağınık halde bulunan yabancı cisim dev hücrelerinin bulunduğu (Şekil 3.4b) dikkati çekti.



**Şekil 3.4.** C grubu 7. gün yara bölgesinin histopatolojik incelemesi. **a:** Dermiste kaslara kadar infiltre olan mononükleer yangı hücreleri (siyah ok başları), granülasyon alanları (Beyaz oklar) ve yeni oluşan kan damarları, neovaskülarizasyon (Siyah ok) (7.gün C3). **b:** Serbest halde bulunan yabancı cisim dev hücreleri (Siyah ok başları) ve yaygın mononükleer yangı hücreleri (Siyah ok), HxE (7.gün C5).

Tüm olgularda kas dokusunda kas demetlerinin birbirinden ayrıldığı, miyofibriller çizgilerini kaybettiği, sitoplazmaları pembe homojen renkte olduğu tüm olgularda dikkati çekti. Tüm olgularda interstisyel alanlarda bu hücelere çok sayıda mononükleer hücrelerle (Resim 4A) eritrosit kümeleri eşlik etmekteydi. Ayrıca yer yer az sayıda multinükleer hücre formasyonları (rejeneratif kas hücreleri) dikkati çekti.

**Çizelge 3.9.** C grubu sıçan gruplarında 7. gün histopatolojik değerlendirme.

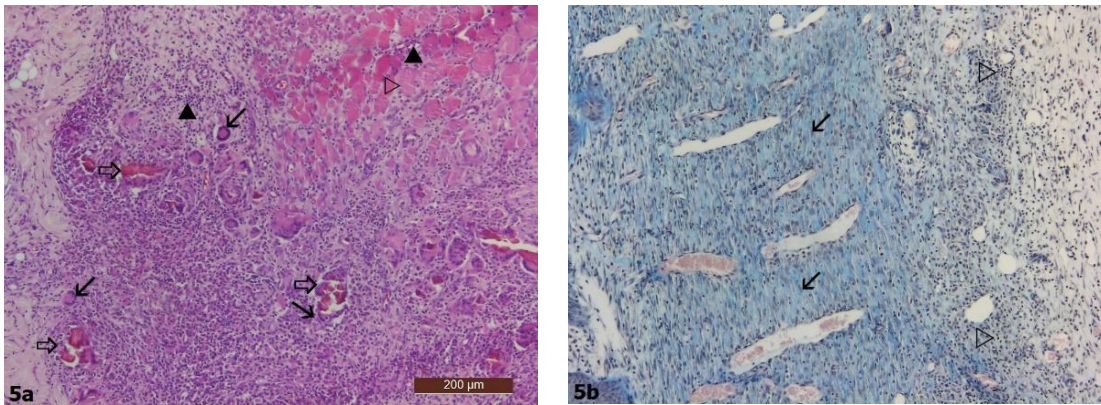
7.gün	C grubu						
Olgu no	Akut yangı	Kronik yangı	Granülasyon doku miktarı	Granülasyon doku/ Fibroblast olgunlaşması	Kollajen miktarı	Reepiteli zasyon	Neovaskül arizasyon
Değişken							
1	1	3	3	2	1	1	2
2	0	1	3	3	2	3	1
3	1	3	3	2	1	3	2
4	0	2	3	3	0	1	3
5	0	2	2	3	2	3	1
6	0	2	3	2	1	1	2
7	1	2	3	1	0	1	3

D grubu 7. gün (7 adet): Epidermiste 3 olguda yeni şekillenen epitel rejenerasyonu, 1 olguda epitelin şekillendiği ama sadece erozyonların bulunduğu ve 3 olguda ise epitelde tam iyileşme gözlemlendi. Dermisin ret. papillaresinde kollajen miktarı 2 olguda görülmezken, 2 olguda hafif, 2 olguda orta ve 1 olguda şiddetli derecede

artmıştı. Akut yangıyla sadece 2 olguda karşılaşılrken; 1 olguda hafif, 5 olguda orta ve 1 olguda şiddetli derecede mononükleer yangı hücreleri (Resim 5a) görüldü. Bununla beraber 1 olguda hafif, 2 olguda orta ve 4 olguda şiddetli derecede granülasyon dokusu dikkati çekti. Bu alanlarda tüm olgularda değişen şiddette neovaskülarizasyonla karşılaşıldı. Ayrıca 1 olguda hafif, 3 olguda orta, 3 olguda şiddetli miktarda bağdoku hücrelerinin artışı (Şekil 3.5b) görüldü. Olguların 6'sında çoğunlukla damar çevresinde bulunan mast hücreleri dikkati çekerken, 5 olguda eozinofil lökositlerle karşılaşıldı.

Bunların dışında; tüm olgularda hem str. papillarede hem de kas tabakasında bazılarının ortasında pembemsi/mavi veya yumurta benzeri amorf bir yapının (Şekil 3.5a) etrafının mononükleer hücrelerle, eozinofil lökositlerle ve yabancı cisim dev hücreleriyle çevrili bazılarının en dışında fibröz bağ dokudan kapsül bulunan granülamatöz alanlar şekillendirdiği veya sadece dağınık halde bulunan yabancı cisim dev hücrelerinin bulunduğu dikkati çekti.

Tüm olgularda kas dokusunda kas demetlerinin birbirinden ayrıldığı, miyofibriller çizgilerini kaybettiği, sitoplazmaları pembe homojen renkte olduğu fark edildi ve interstisyel alanlarda bu hücrelere çok sayıda mononükleer hücrelerle eritrosit kümeleri eşlik etmekteydi. Ayrıca yer yer az sayıda multinükleer hücre formasyonları (rejeneratif kas hücreleri) dikkati çekti.



**Şekil 3.5.** D grubu 7. Gün yara bölgelerinin histopatolojik incelenmesi. a: Dermiste kaslara kadar infiltrate olan mononükleer yangı hücreleri (siyah ok başları), pembemsi amorf bir yapının (Beyaz oklar) etrafında veya serbest halde bulunan yabancı cisim dev hücreleri (Siyah oklar),

HxE, (7.gün D5). b: Granülasyon doku ve kollajen miktarındaki artış (Siyah oklar) ve yaygın mononükleer yangı hücreleri (Beyaz ok başları), Masson Trikrom (x200), (7.gün D6).

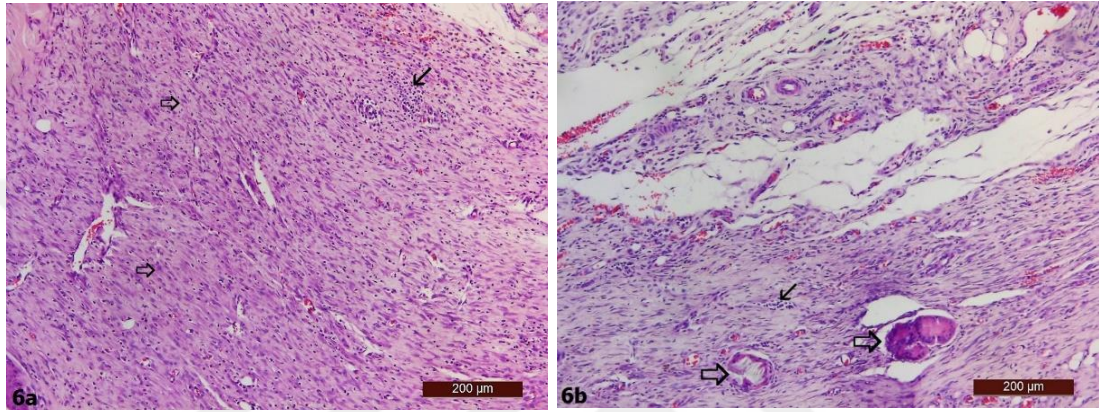
**Çizelge 3.10.** D grubu sıçan gruplarında 7. gün histopatolojik değerlendirme

7. gün Olgu no Değişken	D grubu						
	Akut yangı	Kronik yangı	Granülasyon doku miktarı	Granülasyon doku/ Fibroblast olgunlaşması	Kollajen miktarı	Reepitelizasyon	Neovaskülarizasyon
1	0	1	1	1	3	3	1
2	0	2	3	3	1	1	3
3	1	2	3	3	0	1	3
4	1	2	3	2	0	1	2
5	0	3	2	2	1	3	1
6	0	2	2	3	2	3	1
7	0	2	3	2	2	2	2

A grubu 14. gün (7 adet): Tüm olgularda (1 olgu hariç) epidermiste tam iyileşmeyle gözlendi. Dermisin ret. papillaresinde tüm olgularda kollajen miktarı (1 hafif, 6 şiddetli) artmıştı. Akut yangıyla tüm olgularda karşılaşılmazken; 4 olguda hafif, 2 olguda orta derecede mononükleer yangı hücreleri (Şekil 3.6a) görüldü. Bununla beraber 4 olguda hafif, 1 olguda orta ve 1 olguda şiddetli derecede granülasyon dokusu dikkati çekerken, 1 olguda şekillenmemişti. Bu alanlarda 4 olguda değişen şiddette neovaskülarizasyonla karşılaşıldı. Ayrıca 3 olguda hafif, 2 olguda orta, 1 olguda şiddetli miktarda bağdoku hücrelerinin artışı görülürken, yine 1 olguda şekillenmemişti. Olguların 4'ünde çoğunlukla damar çevresinde bulunan mast hücreleri dikkati çekerken, 1 olguda eozinofil lökositlerle karşılaşıldı.

Bunların dışında; 2 olguda hem str. papillarede hem de kas tabakasında bazılarının ortasında grimsi/mavi veya yumurta benzeri bir yapının etrafının (Şekil 3.6b) mononükleer hücrelerle, eozinofil lökositlerle ve yabancı cisim dev hücreleriyle çevrili bazılarının en dışında fibröz bağ dokudan kapsül bulunan granülamatöz alanlar şekillendirdiği veya sadece dağınık halde bulunan yabancı cisim dev hücrelerinin bulunduğu dikkati çekti.

Kas dokusunda kas demetlerinin birbirinden ayrıldığı, miyofibriller çizgilerini kaybettiği, sitoplazmaları pembe homojen renkte olduğu tüm olgularda dikkati çekti. Tüm olgularda interstisyel alanlarda bu hücelere mononükleer hücrelerle eritrosit kümeleri eşlik etmekteydi. Ayrıca yer yer multinükleer hücre formasyonları (rejeneratif kas hücreleri) dikkati çekti. Olguların 2'sinde değişen şiddetlerde reparasyonun başladığı ve bağ dokunun kas aralarında yerleştiği görüldü.



**Şekil 3.6.** A grubu 14. gün yara bölgesinin histopatolojik incelenmesi. **a:** Dermiste devam eden mononükleer yangı hücreleri (siyah oklar) ile granülasyon doku ve fibroblast miktarındaki artış (Beyaz oklar), (14.gün A3). **b:** pembemsi/grimsi amorf yapılar (Beyaz oklar) ve yaygın mononükleer yangı hücreleri (siyah oklar), HxE, (14.gün A7)

**Çizelge 3.11.** A grubu sıçan gruplarında 14. gün histopatolojik değerlendirme.

14. gün	A grubu						
Olgu no	Akut yangı	Kronik yangı	Granülasyon doku miktarı	Granülasyon doku/ Fibroblast olgunlaşması	Kollajen miktarı	Reepite lizasyon	Neovaskü larizasyon
Değişken							
1	0	2	1	2	3	3	1
2	0	1	1	2	3	3	0
3	0	2	3	3	1	3	2
4	0	1	2	1	3	3	1
5	0	1	1	1	3	3	1
6	0	0	0	0	3	3	0
7	0	1	1	1	3	1	0

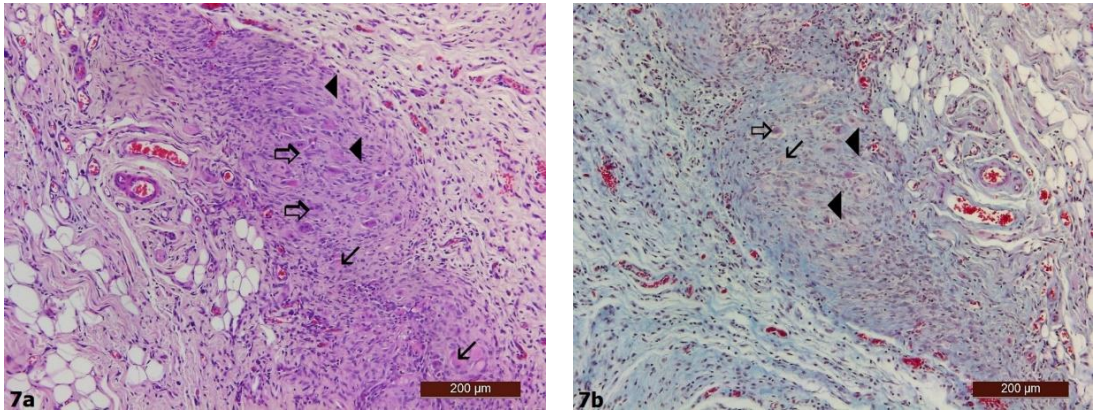
B grubu 14. gün (7 adet): Tüm olgularda epidermiste tam iyileşmeyle gözlendi. Dermisin ret. papillaresinde tüm olgularda kollajen miktarı (1 hafif, 1 orta, 5 şiddetli) artmıştı. Akut yangıyla tüm olgularda karşılaşılmazken; 2 olguda hafif derecede mononükleer yangı hücreleri ve 1 olguda orta, 1 olguda şiddetli derecede granülasyon



dokusu dikkati çekti. Bu alanlarda 2 olguda değişen şiddette neovaskülarizasyonla karşılaşıldı. Ayrıca 1 olguda orta, 1 olguda şiddetli miktarda bağdoku hücrelerinin artışı görüldü. Olguların 5'inde çoğunlukla damar çevresinde bulunan mast hücreleri dikkati çekerken, 2 olguda eozinofil lökositlerle karşılaşıldı.

Bunların dışında; 4 olguda hem str. papillarede hem de kas tabakasında bazılarının ortasında grimsi/mavi veya yumurta benzeri bir yapının etrafının mononükleer hücrelerle, eozinofil lökositlerle ve yabancı cisim dev hücreleriyle çevrili bazılarının en dışında fibröz bağ dokudan kapsül bulunan granülatöz alanlar şekillendirdiği veya sadece dağınık halde bulunan yabancı cisim dev hücrelerinin bulunduğu dikkati çekti.

Kas dokusunda kas demetlerinin birbirinden ayrıldığı, miyofibriller çizgilerini kaybettiği, sitoplazmaları pembe homojen renkte olduğu 5 olguda dikkati çekti. Bazı alanlarda interstisyel alanlarda bu hücelere mononükleer hücrelerle eritrosit kümeleri eşlik etmekteydi. Ayrıca yer yer multinükleer hücre formasyonları (rejeneratif kas hücreleri) (Şekil 3.7a) dikkati çekti. Olguların 3'ünde değişen şiddetlerde reparasyonun başladığı ve bağ dokunun kas aralarında yerleştiği (Şekil 3.7b) görüldü.

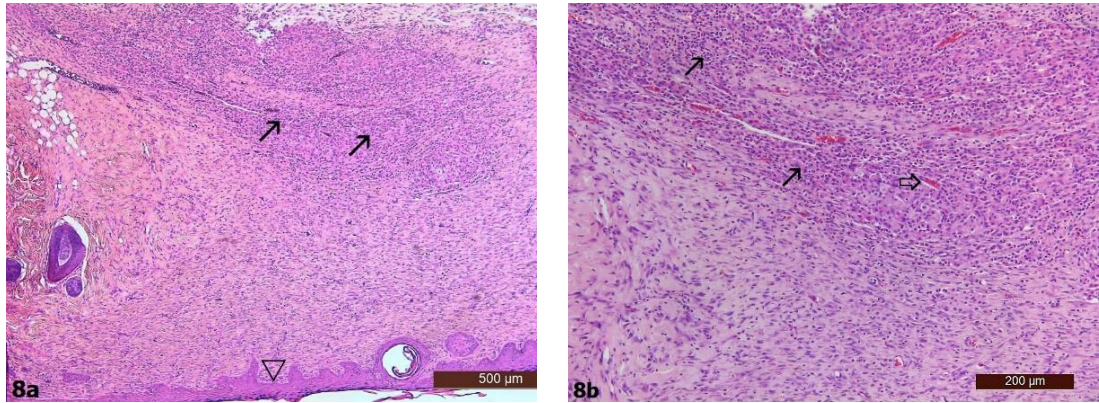


**Şekil 3.7.** B grubu 14. gün yara bölgesinin histopatolojik incelenmesi. **a-b:** Kaslarda reparasyonun başlaması ve bağ doku hücrelerinin kas aralarında yerleşmesi (siyah ok başları), multinükleer hücre formasyonları (rejeneratif kas hücreleri) (Beyaz oklar) ve kas demetlerinin birbirinden ayrılarak miyofibriller çizgilerini kaybetmesi (Siyah oklar), a:H&E, b: Masson Trikrom, (14.gün B5).

**Çizelge 3.12.** B grubu sıçan gruplarında 14. gün histopatolojik değerlendirme.

14. gün	B grubu						
Olgu no	Akut yangı	Kronik yangı	Granülasyon doku miktarı	Granülasyon doku/ Fibroblast olgunlaşması	Kollajen miktarı	Reepite lizasyon	Neovaskül arizasyon
Değişken							
1	0	0	0	0	3	3	0
2	0	1	2	3	2	3	1
3	0	0	0	0	3	3	0
4	0	0	0	0	3	3	0
5	0	0	0	0	3	3	0
6	0	0	0	0	3	3	0
7	0	1	3	2	1	3	2

C grubu 14. gün (8 adet): Tüm olgularda epidermiste tam iyileşme (Resim 8a) gözlemlendi. Dermisin ret. papillaresinde tüm olgularda (1 olgu hariç) kollajen miktarı (1 orta, 6 şiddetli) artmıştı. Akut yangıyla tüm olgularda karşılaşılmazken; 2 olguda hafif, 2 olguda şiddetli derecede mononükleer yangı hücreleri (Şekil 3.8b) ve granülasyon dokusu dikkati çekti. Bu alanlarda 2 olguda neovaskülarizasyonla karşılaşıldı. Ayrıca 1 olguda hafif, 1 olguda şiddetli miktarda bağdoku hücrelerinin artışı görüldü. Olguların 6'sında çoğunlukla damar çevresinde bulunan mast hücreleri dikkati çekerken, 2 olguda eozinofil lökositlerle karşılaşıldı.



**Şekil 3.8.** C grubu 14. gün yara bölgesinin histopatolojik incelenmesi a: Epidermiste şekillenen reepitelizasyon (beyaz ok başı) ve dermiste kaslara kadar infiltrate olan mononükleer yangı hücreleri (siyah oklar). b: Yeni oluşan kan damarları, neovaskülarizasyon (Beyaz oklar) ve yaygın mononükleer yangı hücreleri (Siyah oklar), HxE (14. gün C3).

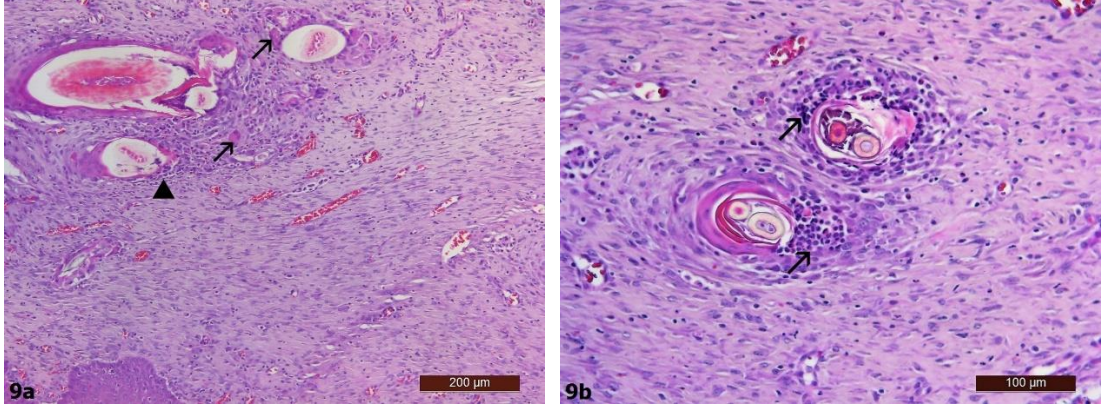
Bunların dışında; sadece 1 olguda hem str. papillarede hem de kas tabakasında bazılarının ortasında grimsi/mavi veya yumurta benzeri bir yapının etrafının mononükleer hücrelerle, eozinofil lökositlerle ve yabancı cisim dev hücreleriyle çevrili bazılarınınsa en dışında fibröz bağ dokudan kapsül bulunan granülamatöz alanlar şekillendirdiği veya sadece dağınık halde bulunan yabancı cisim dev hücrelerinin bulunduğu dikkati çekti.

Kas dokusunda yer yer kas demetlerinin birbirinden ayrıldığı, miyofibriller çizgilerini kaybettiği, sitoplazmaları pembe homojen renkte olduğu 5 olguda dikkati çekti. Bazı alanlarda interstisyel alanlarda bu hücrelere mononükleer hücrelerle eritrosit kümeleri eşlik etmekteydi. Ayrıca yer yer multinükleer hücre formasyonları (rejeneratif kas hücreleri) dikkati çekti. Olguların 3'ünde değişen şiddetlerde reparasyonun başladığı ve bağ dokunun kas aralarında yerleştiği görüldü. Kaslarda 1 olguda patolojik bir değişiklik gözlenmedi.

**Çizelge 3.13.** C grubu sıçan gruplarında 14. gün histopatolojik değerlendirme

14.gün	C grubu						
Olgu no Değişken	Akut yangı	Kronik yangı	Granülasyon doku miktarı	Granülasyon doku/ Fibroblast olgunlaşması	Kollajen miktarı	Reepite lizasyon	Neovaskü larizasyon
1	0	3	3	3	0	3	3
2	0	0	0	0	3	3	0
3	0	3	0	0	3	3	0
4	0	0	0	0	3	3	0
5	0	0	0	0	3	3	0
6	0	1	1	1	2	3	2
7	0	1	1	0	3	3	0

D grubu 14. gün (9 adet): Tüm olgularda epidermiste tam iyileşmeyle karşılaşırken, dermisin ret. papillaresinde tüm olgularda kollajen miktarı artmış, yangı hücreleri ve granülasyon dokusu ortadan kalkmıştı. Ancak kıl köklerinin etrafında yer yer yabancı cisim dev hücreleri (Şekil 3.9a) ve mononükleer yangı hücreleri (Şekil 3.9b) dikkat çekmekteydi. Tüm olgularda çoğunlukla damar çevresinde bulunan mast hücreleri dikkati çekerken, sadece 1 olguda eozinofil lökositlerle karşılaşıldı.



**Şekil 3.9.** D grubu 14. gün yara bölgesinin histopatolojik incelenmesi **a:** Dermiste kıl köklerinin etrafında şekillenen mononükleer yangı hücreleri (siyah ok başı) ve yabancı cisim dev hücreleri (siyah oklar). **b:** Dermiste kıl köklerinin etrafında şekillenen mononükleer yangı hücreleri (Siyah oklar), HxE (14.gün D5).

Bunların dışında; olguların 5'inde hem str. papillarede hem de kas tabakasında bazılarının ortasında grimsi/mavi, bazılarının pembemsi materyal bulunan veya yumurta benzeri bir yapının etrafı mononükleer hücrelerle, eozinofil lökositlerle ve yabancı cisim dev hücreleriyle çevrili bazılarının en dışında fibröz bağ dokudan kapsül bulunan granülamatöz alanlar şekillendirdiği veya sadece dağınık halde bulunan yabancı cisim dev hücrelerinin bulunduğu dikkati çekti.

Kas dokusunda yer yer kas demetlerinin birbirinden ayrıldığı, miyofibriller çizgilerini kaybettiği, sitoplazmaları pembe homojen renkte olduğu 7 olguda dikkati çekti. Bazı alanlarda interstisyel alanlarda bu hücrelere mononükleer hücrelerle eritrosit kümeleri eşlik etmekteydi. Ayrıca yer yer multinükleer hücre formasyonları (rejeneratif kas hücreleri) dikkati çekti. Olguların 8'inde orta şiddette reparasyonun başladığı ve bağ dokunun kas aralarında yerleştiği görüldü.

**Çizelge 3.14.** D grubu sıçan gruplarında 14. gün histopatolojik değerlendirme.

14.gün	D grubu						
Olgu no	Akut yangı	Kronik yangı	Granülasyon doku miktarı	Granülasyon doku/ Fibroblast olgunlaşması	Kollajen miktarı	Reepite lizasyon	Neovaskü larizasyon
Değişken							
	0	0	0	0	3	3	0
	0	0	0	0	3	3	0
	0	0	0	0	3	3	0
	0	0	0	0	3	3	0
	0	0	0	0	3	3	0
	0	0	0	0	3	3	0
	0	0	0	0	3	3	0

Tüm grupların 7. ve 14. günde histopatolojik skorlamaların değerlendirmesi çizelge 3.15'te verildi. Akut yangının 7.gün ile 14.gün arasındaki zaman içindeki değişimi istatistiksel olarak anlamlıdır. Akut yangıda 7.günde ve 14. günde gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Kronik yangının 7.gün ile 14.gün arasındaki zaman içindeki değişimi istatistiksel olarak anlamlıdır. Kronik yangıda 7. günde gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Ancak, 14. günde gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır. D grubu, B ve C grubu ile benzer, A grubundan istatistiksel olarak farklı bulundu. Kronik yangı kestane balı içeren krem uygulanan grup kontrol grubuna göre önemli derecede azaldı ( $p<0,05$ ).

Granülasyon doku miktarı 7. gün ile 14. gün arasındaki zaman içindeki değişimi istatistiksel olarak anlamlıdır. Granülasyon doku miktarında 7. günde gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamasına rağmen 14. günde gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. D grubu, B ve C grubu ile benzer ancak A grubundan istatistiksel olarak farklı bulundu.

Granülasyon doku /fibroblast olgunlaşma 7. gün ile 14. gün arasındaki zaman içindeki değişimi istatistiksel olarak anlamlıdır. Granülasyon doku / fibroblast olgunlaşmasında 7. günde gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamasına rağmen 14. günde gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı

bulundu. D grubu, B ve C grubu ile benzer ancak A grubundan istatistiksel olarak farklı bulundu.

Kollajen miktarının 7.gün ile 14.gün arasındaki zaman içindeki değişimi istatistiksel olarak anlamlıdır. Kollajen miktarında 7.günde ve 14. günde gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Reepitelizasyon 7.gün ile 14.gün arasındaki zaman içindeki değişimi istatistiksel olarak anlamlıdır. Reepitelizasyonda 7.günde ve 14. günde gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Neovaskülarizasyon 7.gün ile 14.gün arasındaki zaman içindeki değişimi istatistiksel olarak anlamlıdır. Neovaskülarizasyonda 14. günde gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamasına rağmen 7. günde gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. D grubu, B ve C grubu ile benzer ancak A grubundan istatistiksel olarak farklı bulundu.

**Çizelge 3.15.** Tüm grupların 14 günlük histopatolojik incelemesinin toplu olarak gösterimi.

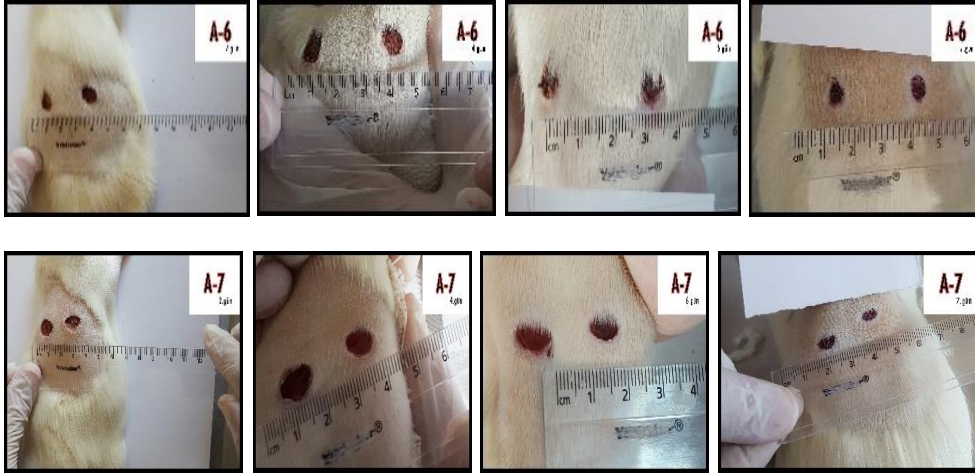
Parametre	Grup	N	Arit.Ort.	Std.Hata	Std.Sapma	Medyan	Minimum	Maximum	p (Wilcoxon)	p (Kruskal)	Harf
Akut Yangı (7.gün)	A	7	0,57	0,20	0,53	1,00	0,00	1,00	0,001	0,662	
	B	7	0,29	0,18	0,49	0,00	0,00	1,00			
	C	7	0,43	0,20	0,53	0,00	0,00	1,00			
	D	7	0,29	0,18	0,49	0,00	0,00	1,00			
Akut Yangı (14.gün)	A	7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,998		
	B	7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			
	C	7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			
	D	7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			
Kronik Yangı (7.gün)	A	7	2,57	0,20	0,53	3,00	2,00	3,00	<0,001	0,144	
	B	7	2,00	0,00	0,00	2,00	2,00	2,00			
	C	7	2,14	0,26	0,69	2,00	1,00	3,00			
	D	7	2,00	0,22	0,58	2,00	1,00	3,00			
Kronik Yangı (14.gün)	A	7	1,14	0,26	0,69	1,00	0,00	2,00	0,012	a	
	B	7	0,29	0,18	0,49	0,00	0,00	1,00			
	C	7	1,14	0,51	1,35	1,00	0,00	3,00			
	D	7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			
Granülasyon Dokusu (7. Gün)	A	7	2,57	0,30	0,79	3,00	1,00	3,00	<0,001	0,636	
	B	7	2,57	0,20	0,53	3,00	2,00	3,00			
	C	7	2,86	0,14	0,38	3,00	2,00	3,00			
	D	7	2,43	0,30	0,79	3,00	1,00	3,00			
Granülasyon Dokusu (14. Gün)	A	7	1,29	0,36	0,95	1,00	0,00	3,00	0,032	a	
	B	7	0,71	0,47	1,25	0,00	0,00	3,00			
	C	7	0,71	0,42	1,11	0,00	0,00	3,00			
	D	7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			
Granülasyon Dokusu/Fibroblast Olgunlaşması (7. Gün)	A	7	2,00	0,31	0,82	2,00	1,00	3,00	<0,001	0,824	
	B	7	2,14	0,14	0,38	2,00	2,00	3,00			
	C	7	2,29	0,29	0,76	2,00	1,00	3,00			
	D	7	2,29	0,29	0,76	2,00	1,00	3,00			
Granülasyon Dokusu/Fibroblast Olgunlaşması (14. Gün)	A	7	1,43	0,37	0,98	1,00	0,00	3,00	0,024	a	
	B	7	0,71	0,47	1,25	0,00	0,00	3,00			
	C	7	0,57	0,43	1,13	0,00	0,00	3,00			
	D	7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			
Kollajen (7. Gün)	A	7	0,86	0,34	0,90	1,00	0,00	2,00	<0,001	0,744	
	B	7	1,29	0,18	0,49	1,00	1,00	2,00			
	C	7	1,00	0,31	0,82	1,00	0,00	2,00			

	D	7	1,29	0,42	1,11	1,00	0,00	3,00	
Kollajen (14. Gün)	A	7	2,71	0,29	0,76	3,00	1,00	3,00	
	B	7	2,57	0,30	0,79	3,00	1,00	3,00	
	C	7	2,43	0,43	1,13	3,00	0,00	3,00	0,476
	D	7	3,00	0,00	0,00	3,00	3,00	3,00	
Reepitelizasyon (7. Gün)	A	7	1,00	0,00	0,00	1,00	1,00	1,00	
	B	7	1,71	0,36	0,95	1,00	1,00	3,00	
	C	7	1,86	0,40	1,07	1,00	1,00	3,00	0,158
	D	7	2,00	0,38	1,00	2,00	1,00	3,00	
Reepitelizasyon (14. Gün)	A	7	2,71	0,29	0,76	3,00	1,00	3,00	<0,001
	B	7	3,00	0,00	0,00	3,00	3,00	3,00	
	C	7	3,00	0,00	0,00	3,00	3,00	3,00	0,392
	D	7	3,00	0,00	0,00	3,00	3,00	3,00	
Neovaskülarizasyon (7. Gün)	A	7	3,00	0,00	0,00	3,00	3,00	3,00	
	B	7	2,86	0,14	0,38	3,00	2,00	3,00	
	C	7	2,00	0,31	0,82	2,00	1,00	3,00	0,007
	D	7	1,86	0,34	0,90	2,00	1,00	3,00	
Neovaskülarizasyon (14. Gün)	A	7	0,71	0,29	0,76	1,00	0,00	2,00	<0,001
	B	7	0,43	0,30	0,79	0,00	0,00	2,00	
	C	7	0,71	0,47	1,25	0,00	0,00	3,00	0,208
	D	7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	

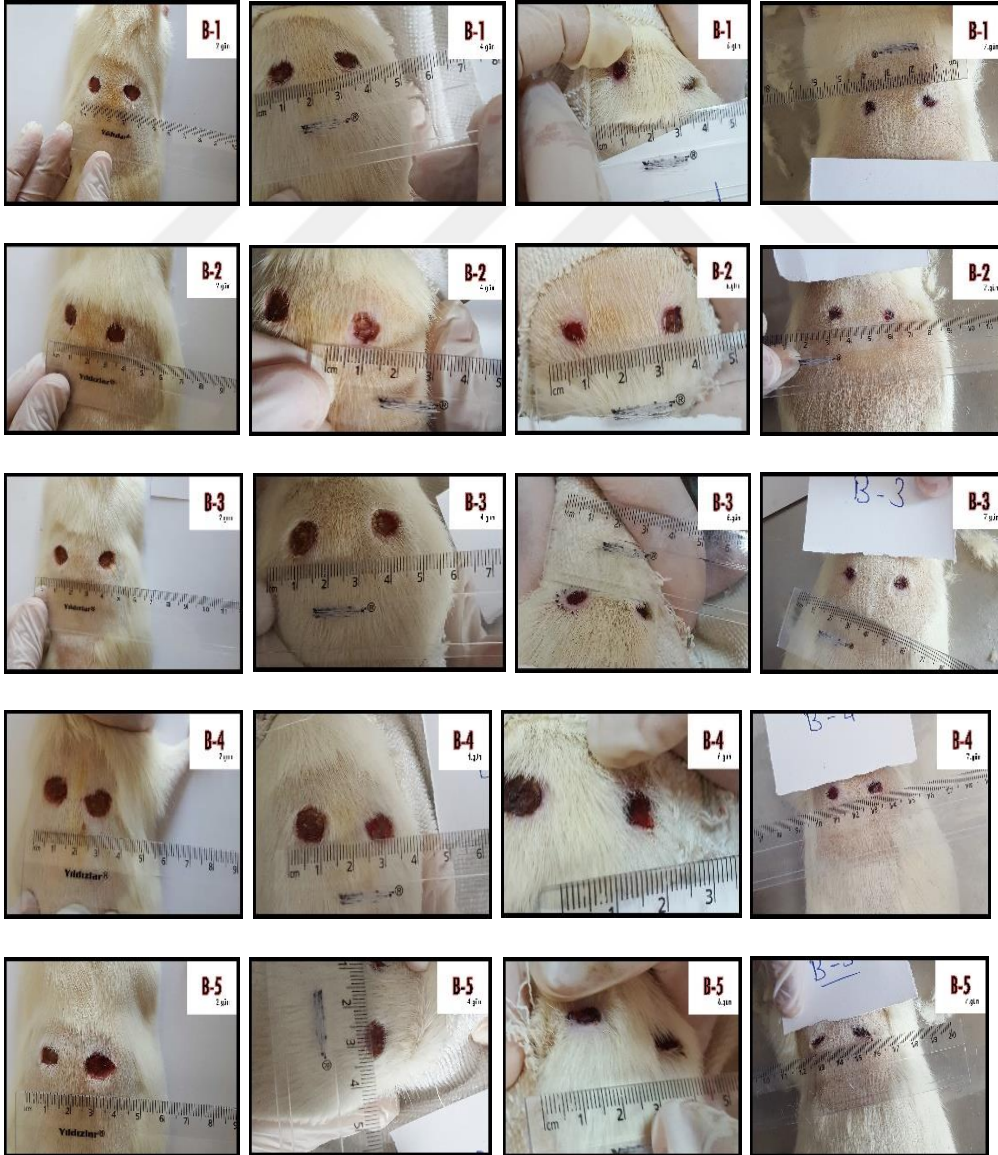
Değerler ortalama ± standart hatayı ifade eder. (a,b) aynı satırda gruplar arasındaki farklılıkları gösterir,  $p < 0.05$

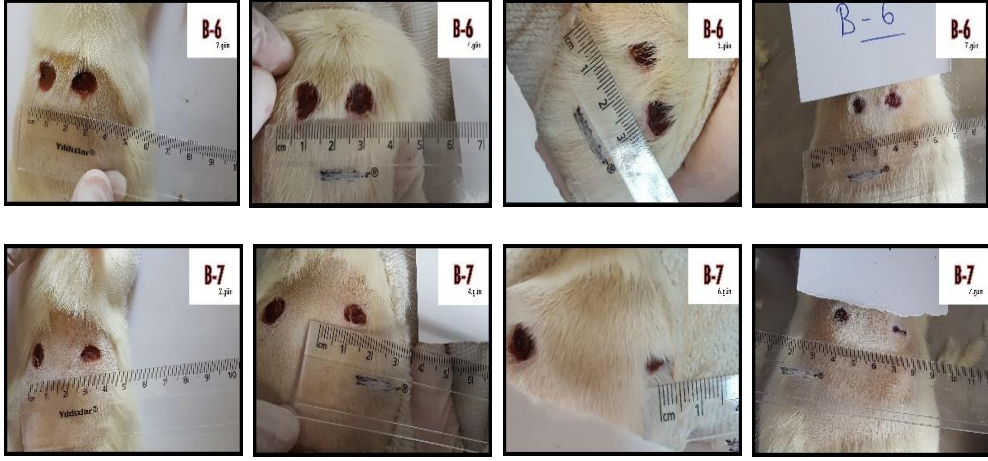




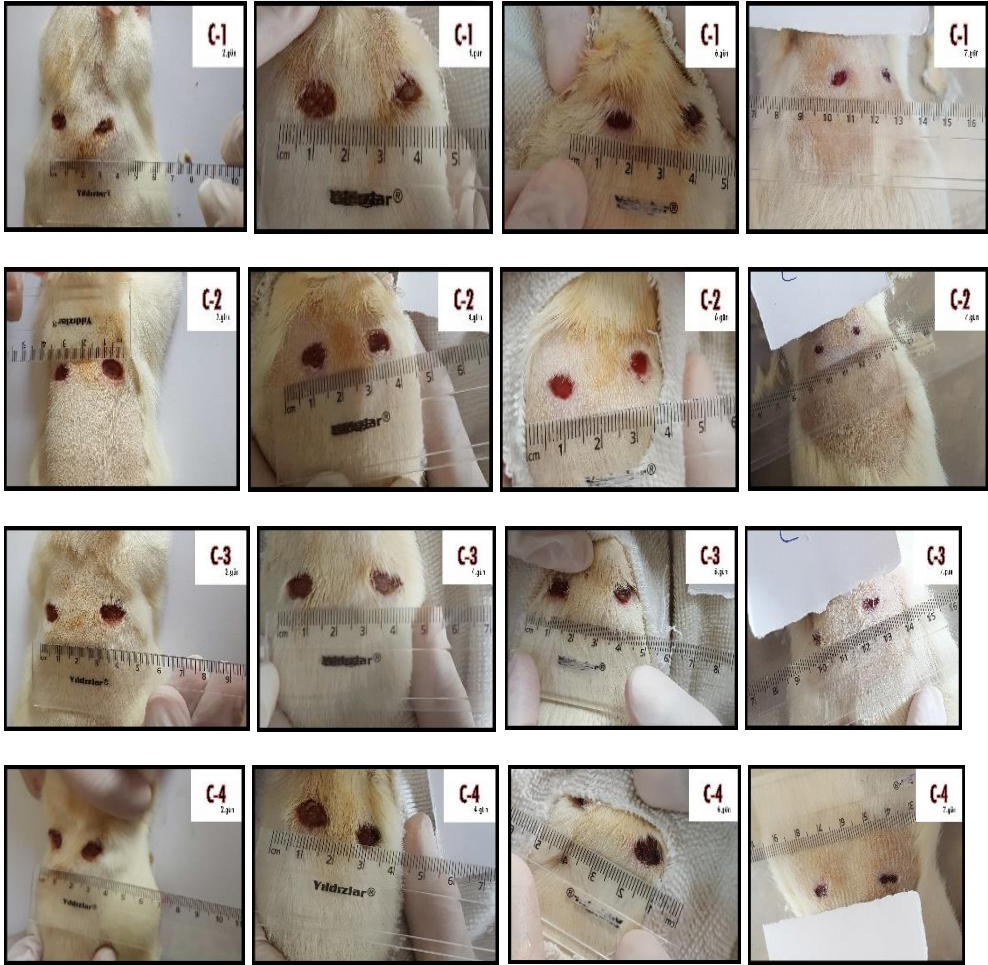


Şekil 3.10. A Grubu (Negatif Kontrol) - 2., 4., 6. ve 7. günler (1-7 Sıçan).





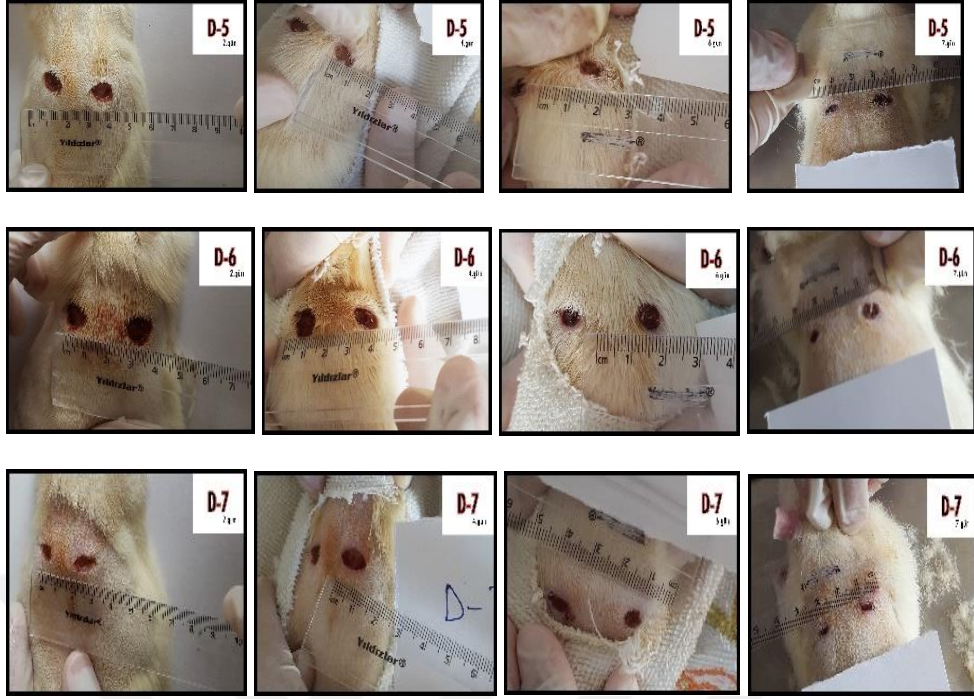
Şekil 3.11. B Grubu (Balast Madde) - 2., 4., 6. ve 7. günler (1-7 Sıçan).



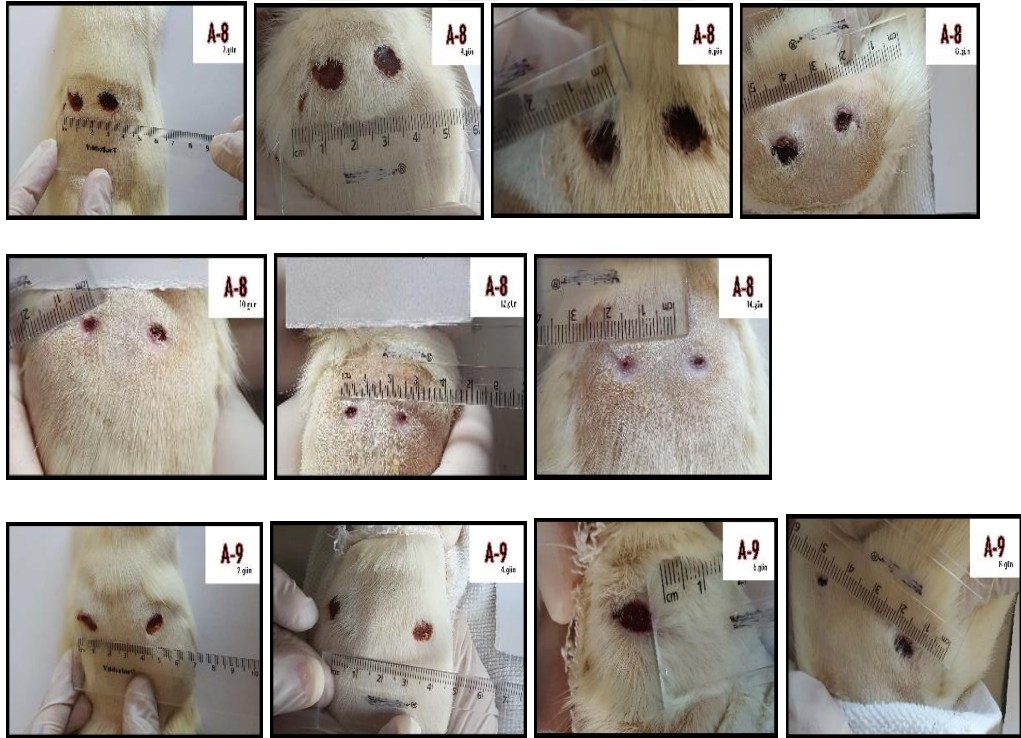


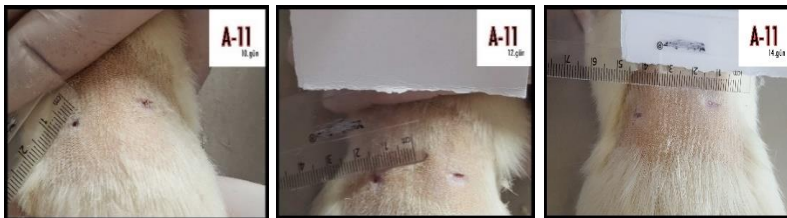
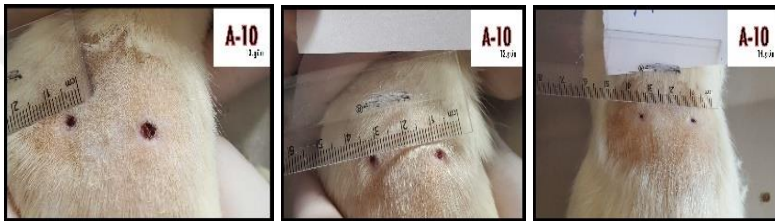
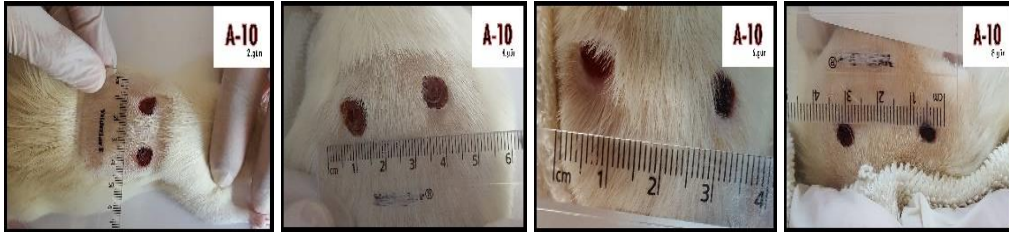
Şekil 3.12. C Grubu (Çam Ballı Krem)- 2., 4., 6. ve 7. günler (1-7 Sıçan).

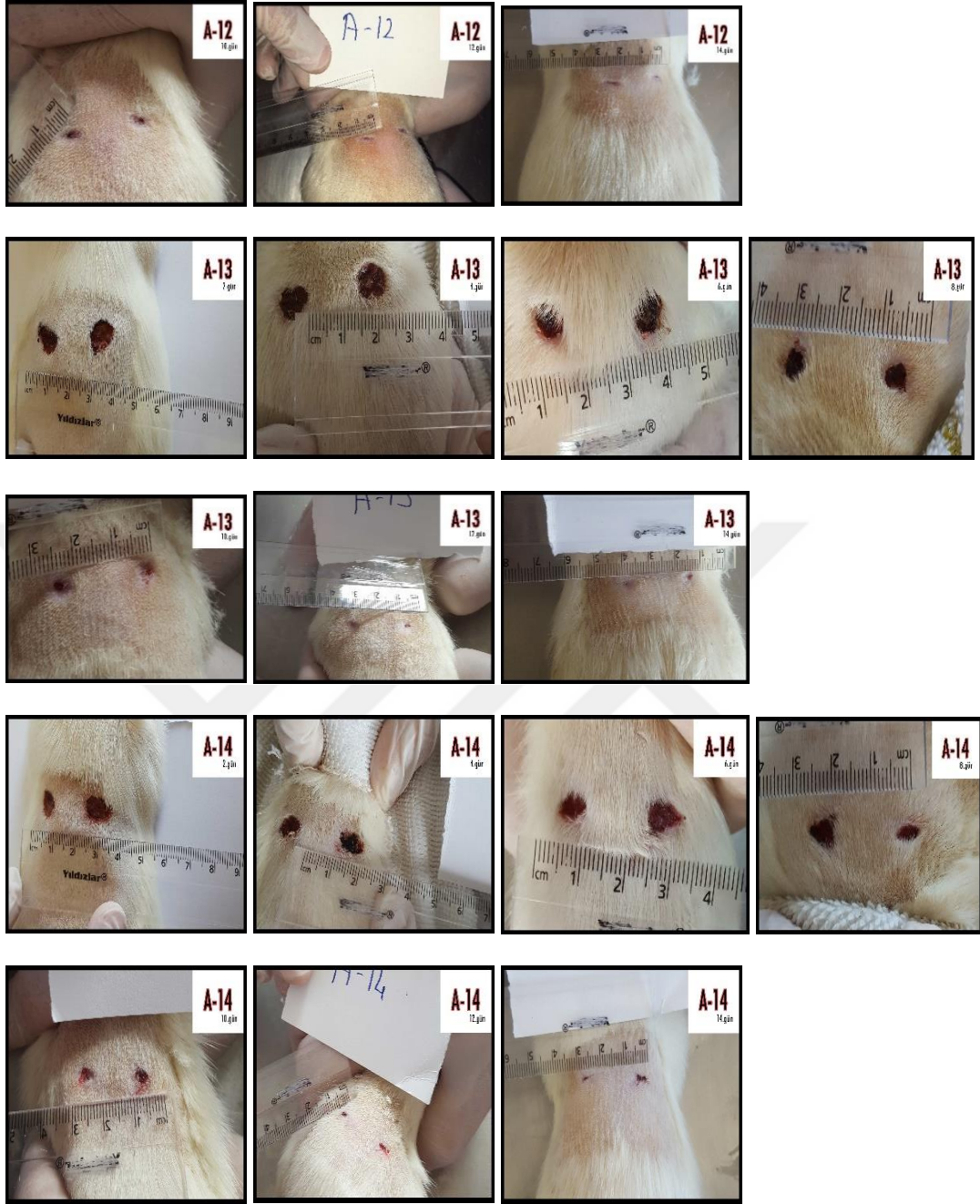




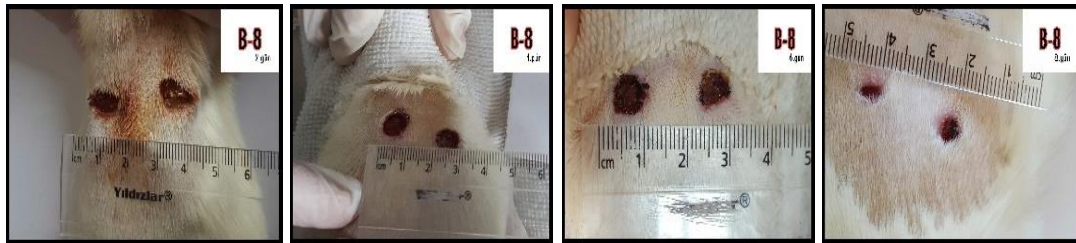
Şekil 3.13. D Grubu (Kestane Ballı Krem)- 2., 4., 6. ve 7. günler (1-7 Sıçan).

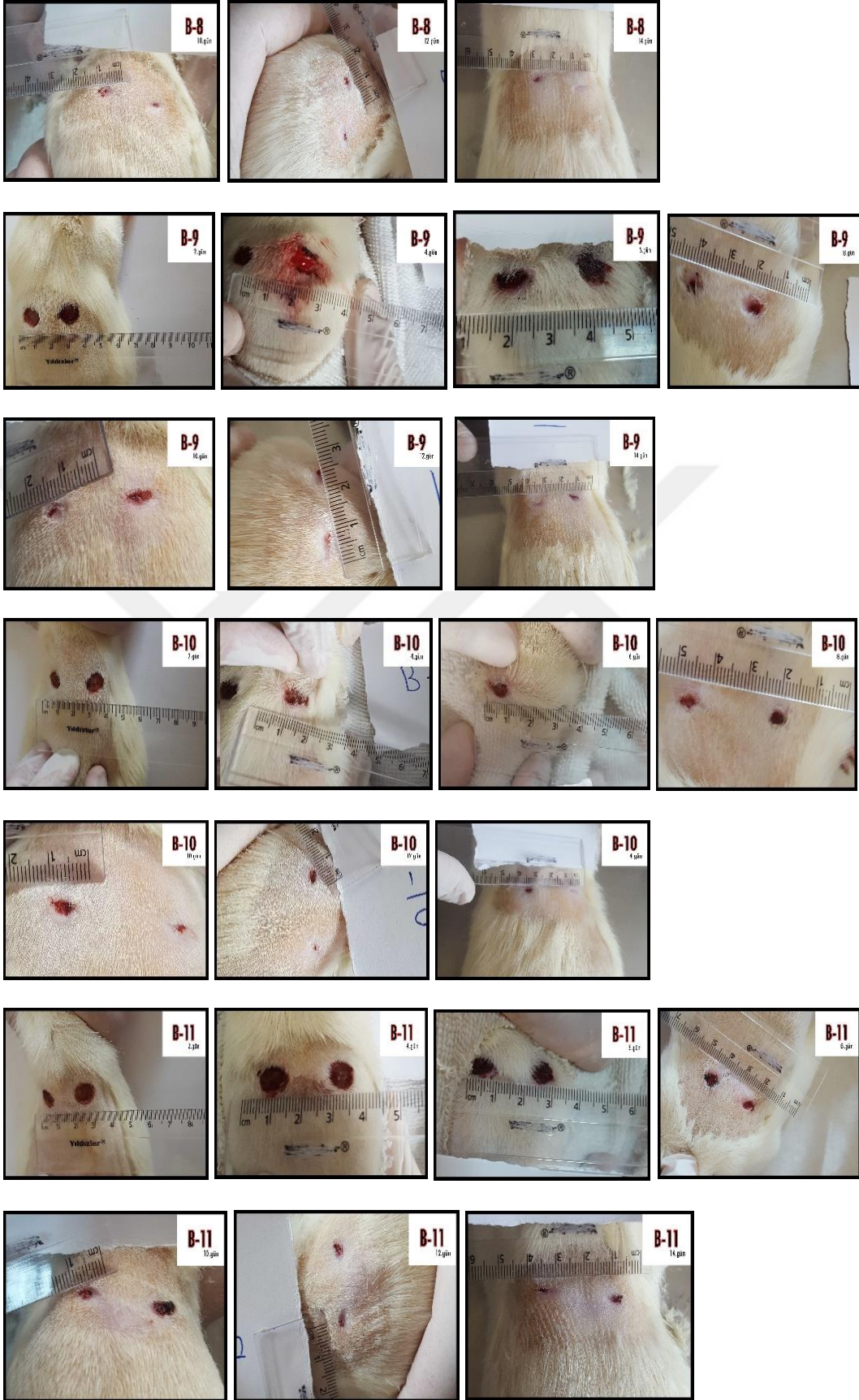




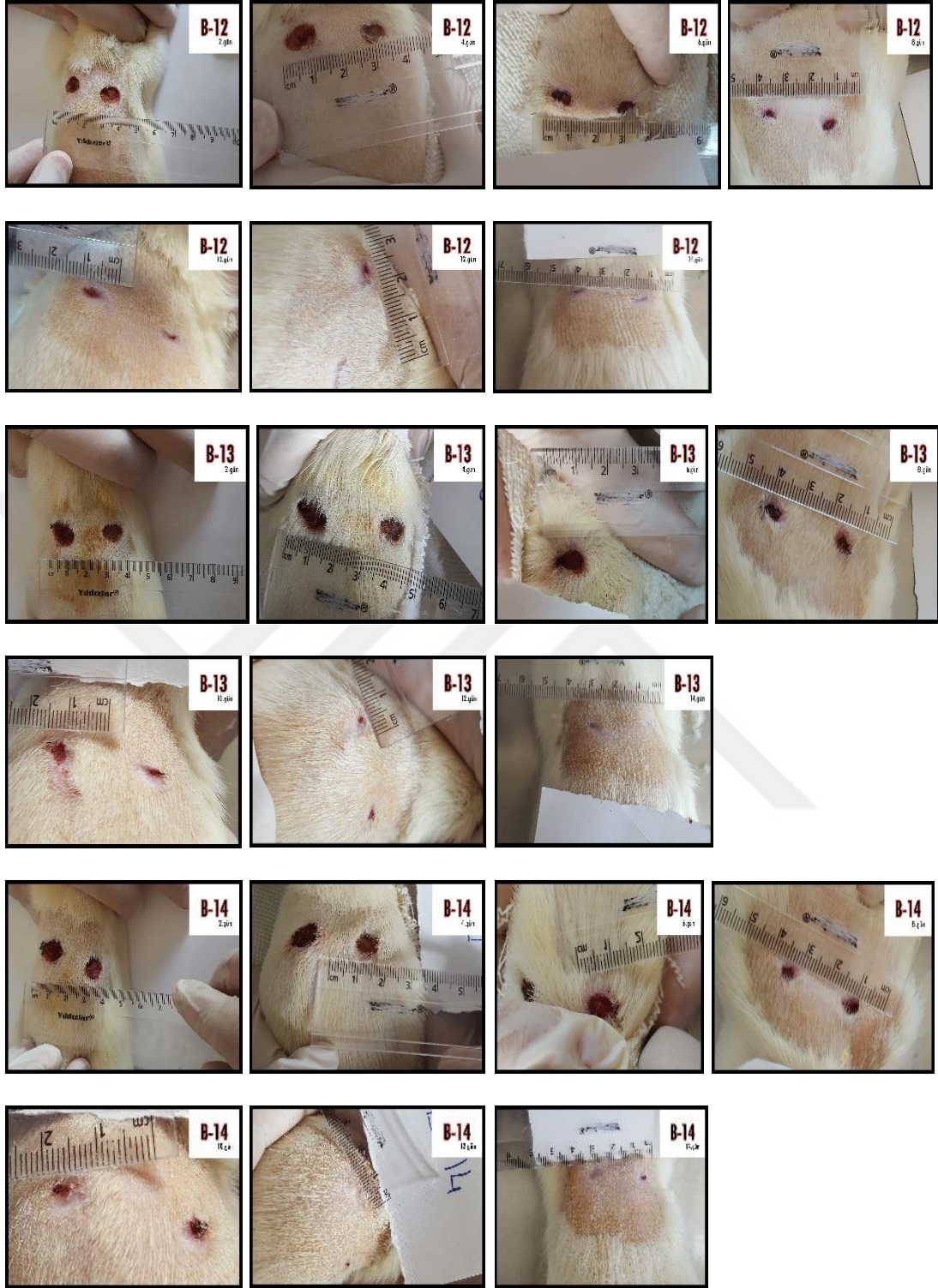


Şekil 3.14. A Grubu (Negatif Kontrol)- 2., 4., 6., 8., 10., 12. ve 14. günler (8-14 Sıçan).

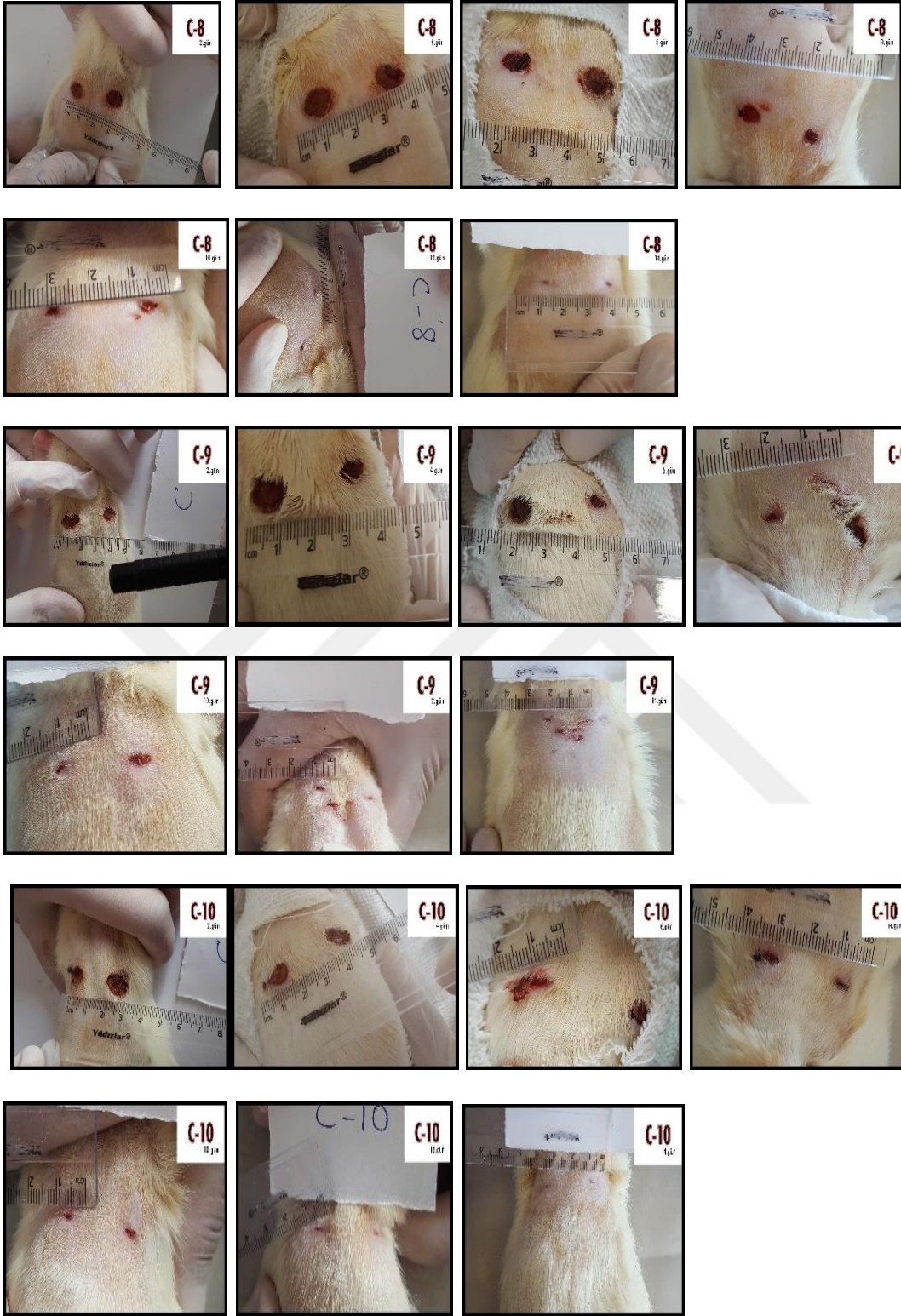


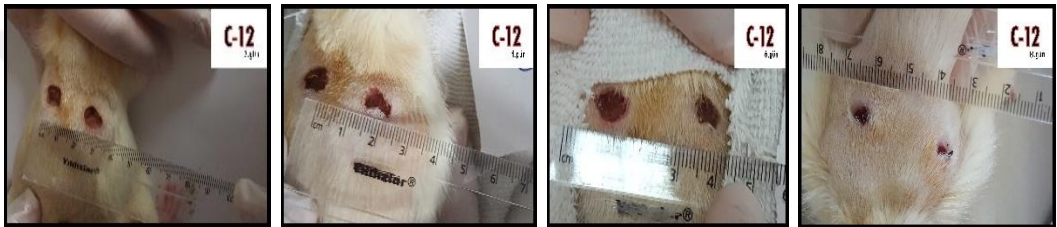


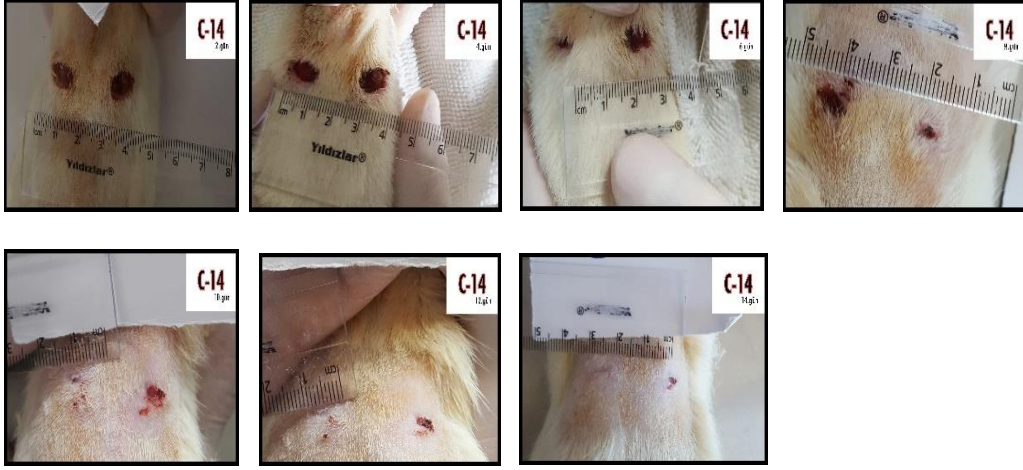




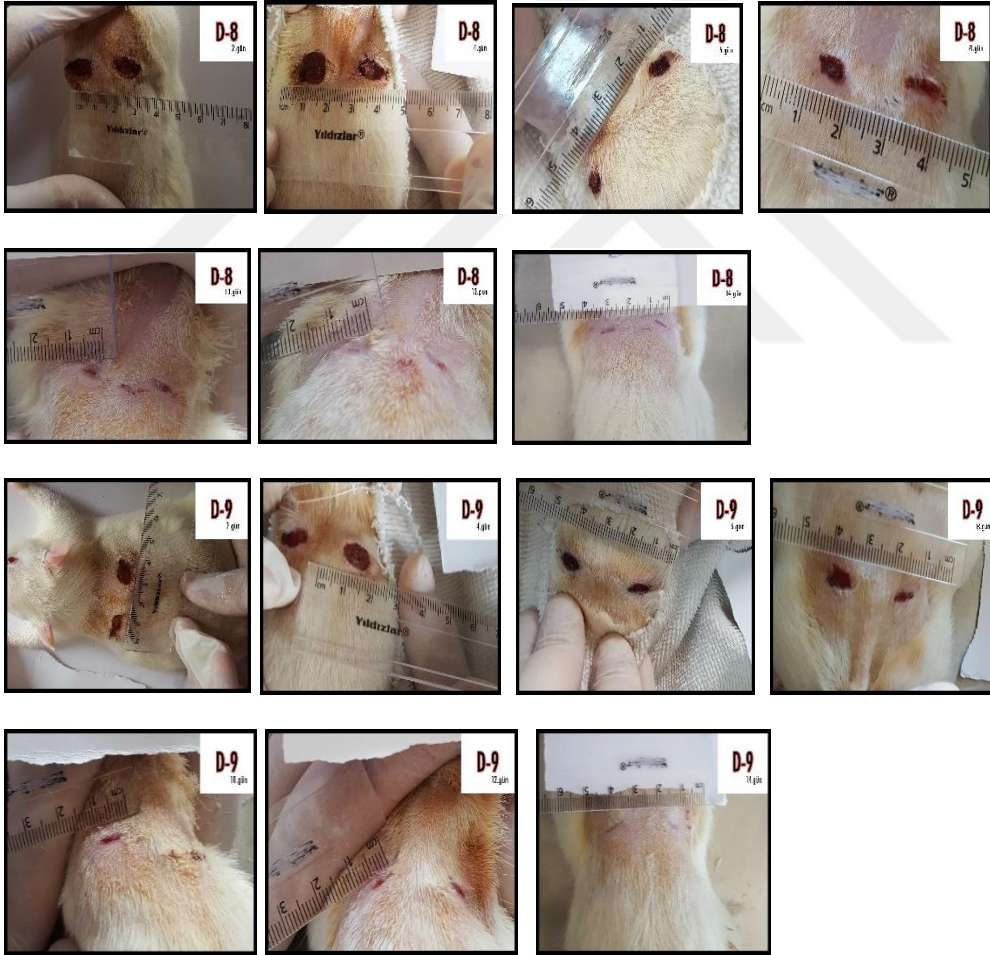
Şekil 3.15. B Grubu (Balast Madde) - 2., 4., 6., 8., 10., 12. ve 14. günler (8-14 Sıçan).

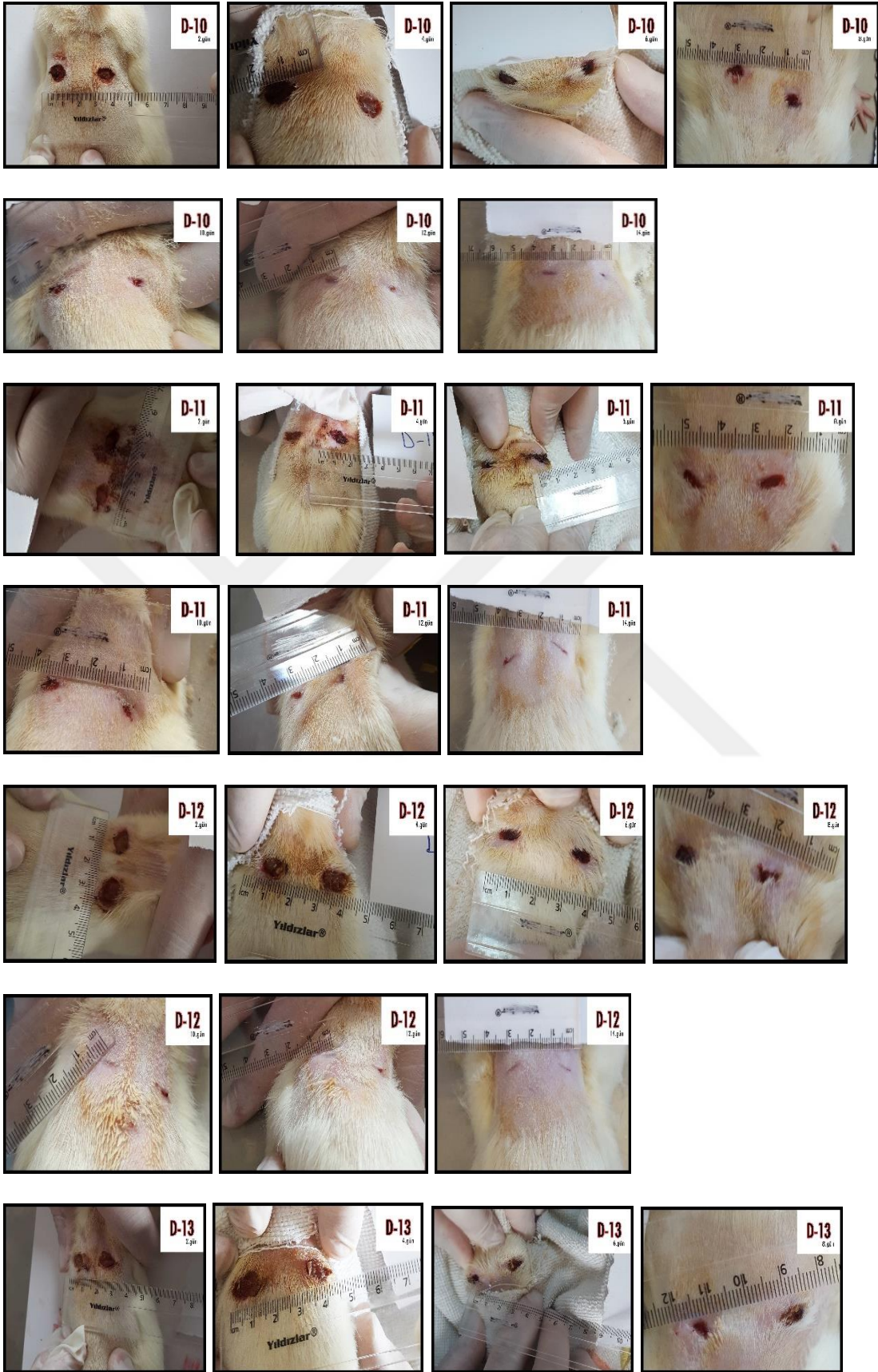






Şekil 3.16. C Grubu (Çam Ballı Krem) - 2., 4., 6., 8., 10., 12. ve 14. günler (-14 Sıçan).







**Şekil 3.17.** D Grubu (Kestane Ballı Krem) - 2., 4., 6., 8., 10., 12. ve 14. günler (8-14 Sıçan).

Yedinci günden sonra kontrol hayvanlarında insizyon alanı yara kabuğu ile kaplandı ve epitelizasyon yetersizdi. Krem uygulaması yapılan sıçanlarda cilt onarımı daha iyi gelişti ve yaralı bölgenin normal deriden tespit edilmesi zordu. Yara alanı yönüyle 14 gün krem uygulanan ve uygulanmayan gruplar arasında gözlenebilir bir farklılık tespit edilmiştir.

### 3.4. Sıçanlarda Yara Alanlarının Analizi

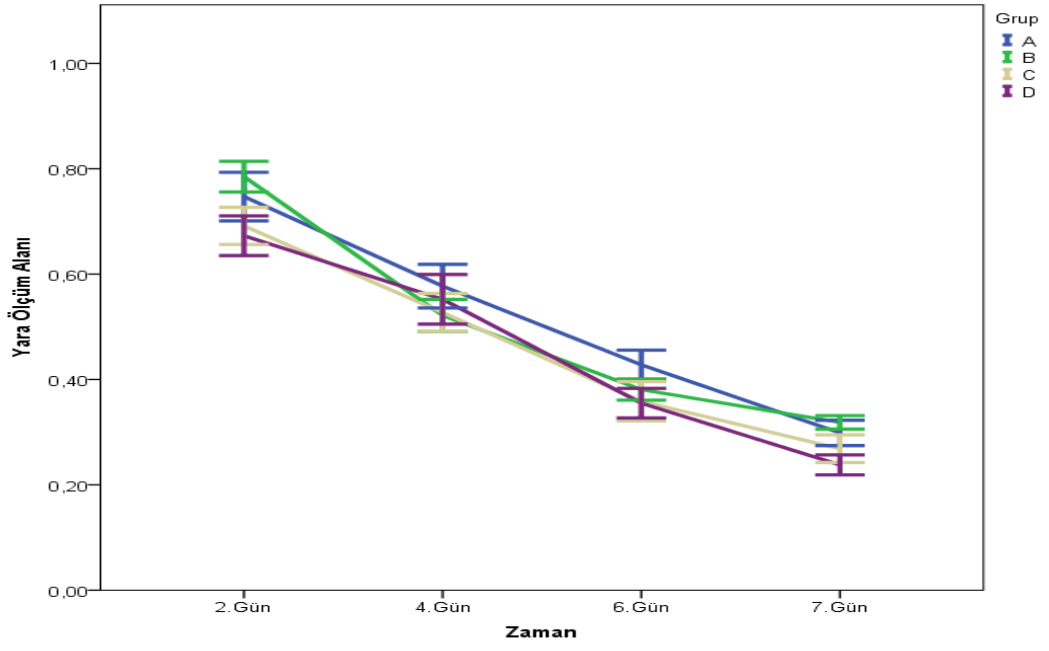
Sıçanlarda farklı günlerde yara alanlarının değişimleri Çizelge 3.16 ve 3.17’de gösterilmiştir.

**Çizelge 3.16.** Sıçanlarda 2., 4., 6. ve 7. günde yara iyileşme alanlarının ölçümleri (mm<sup>2</sup>).

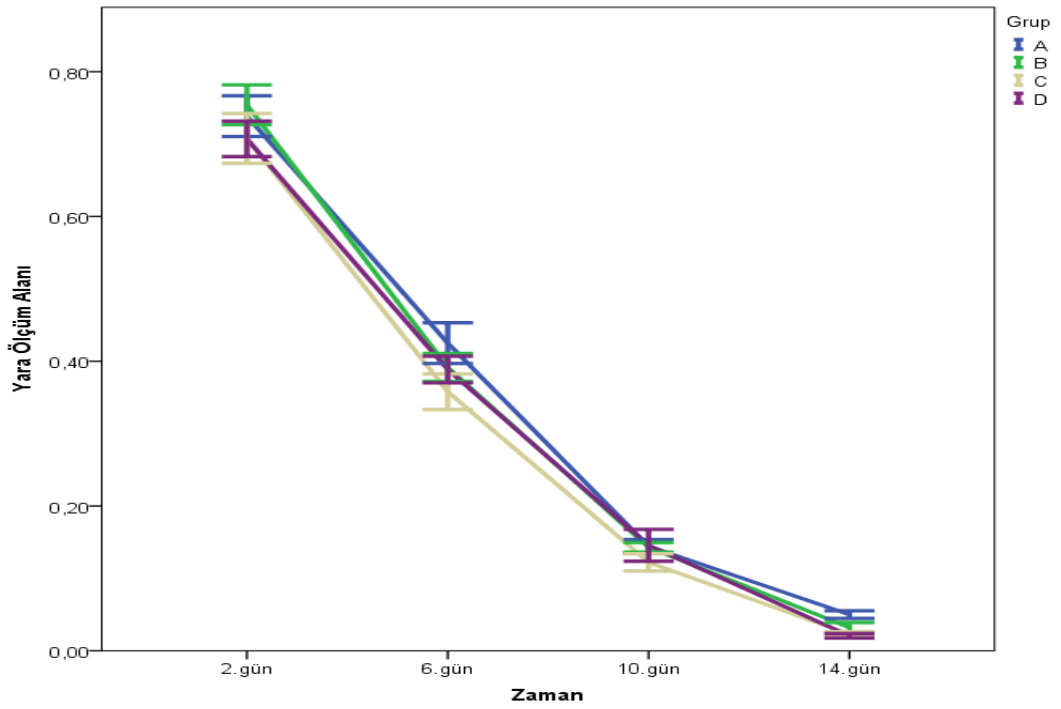
Parametre	Grup	Zaman					p		
		2. gün	4. gün	6. gün	7. gün	Marjinal Ort.	Grup	Zaman	Grup* Zaman
7 günlük Yara İyileşme	A	0,75 ± 0,05	0,58 ± 0,04	0,43 ± 0,03	0,30 ± 0,02	0,513 ± 0,029	0,424	<0,001	0,411
	B	0,79 ± 0,03	0,52 ± 0,03	0,38 ± 0,02	0,32 ± 0,01	0,501 ± 0,029			
	C	0,69 ± 0,04	0,53 ± 0,04	0,36 ± 0,04	0,27 ± 0,03	0,461 ± 0,029			
	D	0,67 ± 0,04	0,55 ± 0,05	0,36 ± 0,03	0,24 ± 0,02	0,454 ± 0,029			
	Marjinal Ort.	0,724 ± 0,019 <sup>a</sup>	0,544 ± 0,019 <sup>b</sup>	0,381 ± 0,019 <sup>c</sup>	0,281 ± 0,019 <sup>d</sup>				
<sup>a,b,c</sup> : Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel açıdan anlamlı farklılığı ifade eder (p<0.05) Değerler, ortalama±standart sapma									

**Çizelge 3.17.** Sıçanlarda 2., 6., 10. ve 14. günde yara iyileşme alanlarının ölçümleri (mm<sup>2</sup>).

Parametre	Grup	Zaman				p			
		2.gün	6.gün	10.gün	14.gün	Marjinal Ort.	Grup	Zaman	Grup* Zaman
14 günlük Yara İyileşme	A	0,74 ± 0,03	0,43 ± 0,03	0,14 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,339 ± 0,014	0,299	<0,001	0,841
	B	0,75 ± 0,03	0,39 ± 0,02	0,14 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,330 ± 0,014			
	C	0,71 ± 0,03	0,36 ± 0,02	0,12 ± 0,01	0,02 ± 0,004	0,303 ± 0,014			
	D	0,71 ± 0,02	0,39 ± 0,02	0,15 ± 0,02	0,02 ± 0,003	0,316 ± 0,014			
	Marjinal Ort.	0,727 ± 0,011 <sup>a</sup>	0,391 ± 0,011 <sup>b</sup>	0,139 ± 0,011 <sup>c</sup>	0,031 ± 0,011 <sup>d</sup>				
<sup>a,b,c</sup> : Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel açıdan anlamlı farklılığı ifade eder (p<0.05) Değerler, ortalama±standart sapma									

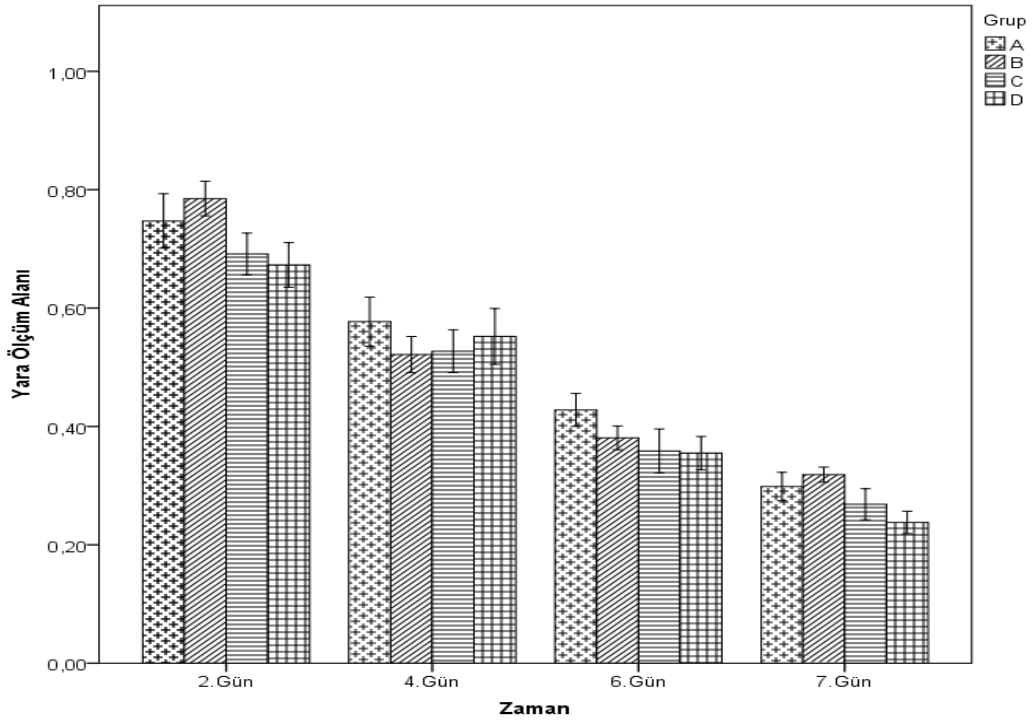


Şekil 3.18. Deney gruplarının ilk 7 günlük yara ölçüm alanları.

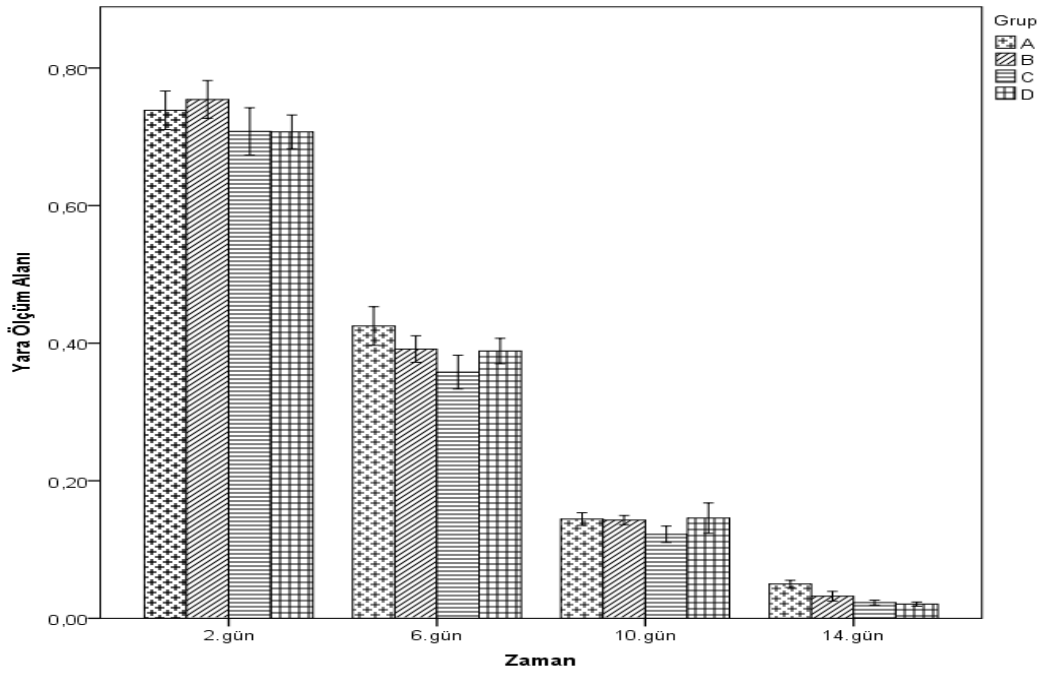


Şekil 3.19. Deney gruplarının 14 günlük yara ölçüm alanlarının çizgi grafikte gösterilmesi.





Şekil 3.20. Deney gruplarının ilk 7 günlük yara ölçüm alanlarının çubuk grafikte gösterilmesi.



Şekil 3.21. Deney gruplarının 14 günlük yara ölçüm alanlarının çubuk grafikte gösterilmesi.

Yara ölçüm alanları yönünden gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ( $P=0,424$ ). Tüm gruplarda yara ölçüm alanları benzer şekilde zaman

içerisinde azalmıştır ( $p<0.001$ ). Her bir zaman dilimindeki gruplar arasındaki farklı olduğu tespit edildi. Yedinci günde en küçük ortalama yara ölçümü D grubunda olsa da bu farklılık anlamlı ( $p<0.005$ ) bulunamadı.

### 3.5. Biyokimyasal (Hidroksiprolin) Analizler

Biyokimyasal değerlendirmeler hidroksiprolin analizi ile gerçekleştirilmiştir. Hidroksiprolin düzeyleri ise gruplar arasında (Şekil 3.21 ve Çizelge 3.18) anlamlı bir farklılık ( $P<0.005$ ) göstermemiştir.



Şekil 3.22. Hidroksiprolin analizi hazırlık aşaması.

Çizelge 3.18. Deneme gruplarındaki hidroksiprolin düzeyler ( $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ )

Numara	Sağlam deri	A grubu	B grubu	C grubu	D grubu
1	107,70	43,98	43,03	25,20	37,04
2	95,10	60,87	53,35	49,90	25,21
3	108,79	50,09	37,73	52,32	22,44
4	105,57	55,14	36,38	31,29	27,84
5	128,28	81,13	44,17	37,67	20,50
6	85,82	58,24	34,98	30,65	24,87
7	95,74	65,93	45,35	49,69	14,57
Ortalama $\pm$ SE	103,86 $\pm$ 5,13 <sup>d</sup>	59,34 $\pm$ 4,52 <sup>c</sup>	42,14 $\pm$ 2,41 <sup>b</sup>	39,53 $\pm$ 4,16 <sup>b</sup>	24,63 $\pm$ 2,61 <sup>a</sup>

Değerler ortalama  $\pm$  standart sapmayı ifade eder. (a,b,c,d) aynı satırda gruplar arasındaki farklılıkları gösterir,  $p<0.05$

Hidroksiprolin düzeyleri çalışma grupları yönüyle değerlendirildiğinde (14. Günde olacak şekilde) sağlam derideki en yüksek düzeyden sonra sırayla; hiçbir madde uygulanmayan A grubunda, krem dolgu maddesinin uygulandığı B grubunda, Çam bal kreminin uygulandığı C grubunda ve Kestane balı kremi uygulanan D grubunda tespit edilmiştir. İstatistiki yönden B ve D grupları arasındaki farklılık önemli ( $P < 0.005$ ) bulunmuştur.



#### 4. TARTIŞMA

Eski çağlarda Mısır, Yunan ve Hint hekimleri sağlıklı ve hızlı yara iyileşmesini sağlamak amacıyla bazı yöntemler geliştirmişlerdir. Bu amaçla bitkileri, mikroorganizmaları ve çevresel bazı maddeleri hasarlı dokuları onarmak ve iyileşme sürecini hızlandırmak için kullanmışlardır. Daha sonraki dönemlerde de çeşitli bitkiler ve bitki özütleri yara iyileşme sürecini hızlandırmak ve kontrol etmek için kullanılmıştır (Guba, 1998). Bununla birlikte son yıllarda doğal ürünler, sağlıklı bir yaşamı teşvik etmek ve desteklemek için de yaygın şekilde kullanılmaktadır. Birçok terapötik bitki ve doğal ürünün yara iyileştirme özelliğine sahip olduğu ve yaraların tedavisinde kullanılabileceği de bildirilmiştir (Özkormaz ve Özey, 2009).

Bal; geleneksel olarak Mısırlılar, Yunanlılar, Romalılar ve Çinliler tarafından mide ülseri de dahil olmak üzere yaraları ve bağırsak hastalıklarını iyileştirmek için kullanılmıştır. Ayrıca öksürük, boğaz ağrısı ve kulak ağrısı için de tedavide uygulanmıştır (Rao ve ark.,2016). Son yıllarda, bal, propolis, arı ekmeği, arı zehiri, polen ve arı sütü gibi ürünlerin hem geleneksel hem de modern tıpta tedavi amaçlı kullandığı görülmektedir (Molan,1999; Rao ve ark., 2016). Bal, insan sağlığı için yararlı olan yüksek besleyici bileşenleri nedeniyle dünya çapında bilinmektedir. Hindistan'da Lotus balı göz enfeksiyonlarını ve diğer hastalıkları tedavi etmek için geleneksel olarak kullanılmaktadır. Haricen kullanılması yanında, bal dahilen de kullanılmaktadır (Fratellone ve ark., 2016). Yine Hindistan'da, Madhu balı antibakteriyel, yara temizleyici, yara iyileştirici etkilerinden dolayı uygulama alanı bulmaktadır (Vijaya ve Nishteswar, 2012). Bazı kliniklerde yara bakımı için çene-yüz koltuğu üzerinde bal emdirilmiş pansumanlar da başarıyla kullanılmaktadır (Visavadia ve ark., 2008).

Balın, yara bakım ürünleri ile karşılaştırıldığı klinik çalışmaların sayısı gün geçtikçe artmaktadır. Amerikan İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanan ve içeriğinde bal bulunan yara bakım jelleri, krem ve pansuman malzemeleri bugün için yara

iyileşmesinde kullanılmaktadır. FDA'nın onayladığı ürünlerin içerikleri incelendiğinde farklı ülkelerin ballarından oluştuğu görülmektedir. Bunlar içerisinde özellikle Manuka balı ilk sıradadır. Manuka balı içeren onlarca ürün özellikle küçük sıyrıklar, kesikler, yanıklar, diyabetik ayak ülserleri, bacak ülserleri, basınç ülserleri (yatak yaraları)/yaralar (kısmi ve tam kalınlık), 1. ve 2. derece kısmi yanıklar ile travmatik ve cerrahi yaraların tedavisinde önerilmektedir (Saikaly ve Khachemoune, 2017).

Balın anti-enflamatuar, debride edici granülasyon ve epitelizasyon üzerine uyarıcı etki gibi iyileştirici özelliklere (Molan, 1999; Molan, 2001) sahip olduğu bilinmesine rağmen; tedavi edici etkisine ilişkin mekanizmalar henüz moleküler seviyede aydınlatılamamıştır. Bu konuda bazı görüşler ileri sürülmüştür (Molan, 2001); ancak, balın (Manuka) ozmolaritesi antibakteriyel etkisinin (Cooper ve ark., 1999) veya iyileştirici etkisinin (Molan, 2001; Tonks ve ark., 2001) oluşmasında kısıtlayıcı bir faktördür. Bununla birlikte, balın terapötik özelliklerinin moleküler mekanizmalarla belirlenmesine kadar, bal için klinik kullanım yönüyle antibakteriyel etki öncelikle düşünülebilecek tek yaklaşımdır.

Yara, normal deri anatomisi ve fonksiyonunda bozulma ile karakterize bir durum olup, oluştuğu bölgede epitelin sürekliliğini kaybetmesiyle sonuçlanan bir doku hasarıdır (Strodtbeck, 2001). Yara iyileşmesi, farklı doku ve hücrelerin birlikte organize olarak, yara alanında bulunan matriks sinyalleri ve büyüme faktörlerinin yanı sıra proliferasyon, migrasyon, matriks sentezi ve kontraksiyon fazlarını içeren ve sağlıklı bir skar dokusunun oluşmasıyla sonuçlanan kompleks bir süreçtir (Martin, 1997).

Yara iyileşmesinde miyofibroblastlar, kollagen artışı ve neoangiogenezis önemli bir yer tutmaktadır (Enoch ve Leaper, 2005; Akershoek ve ark., 2017). Anahtar hücre yara bölgesindeki fibroblastlardır; epidermal hücrelerin bölünmesi, migrasyonu ve yara alanını çevrelemesi ikinci derecede önemlidir (Kumar ve ark., 2004). Myofibroblastlar çok miktarda ekstraselüler matriks bileşenleri ile stres fiberleri içeren  $\alpha$ SMA üretimi ile karakterizedir ve bu sayede dokularda rejenerasyon sürecinde kontraksiyonun ve fibrozisin şekillenmesine katkı sağlar (Murphy ve ark., 2015;

Akershoek ve ark., 2017). Ekstraselüler matriks, kompleks protein ve diğer makromoleküllerinden meydana gelir. Bunlar arasında kollajen başlıca yapısal bileşendir ve tüm dokuların bütünlüğünün sağlanmasında ve yaraların iyileşmesinde hayati rolü bulunmaktadır (Enoch ve Leaper, 2005). Kollajenler olgun skar dokusu için başlıca bileşenlerdir ve fibroblastlardan sentezlenirler (Czubryt, 2012; Yang ve ark., 2013). Neoangiogenesis daha önce var olanlardan yeni kapılların oluşmasıdır ve artan besin ihtiyacından dolayı iyileşme sürecinin gerekli bir bileşenidir (Delavary ve ark., 2011). Yara iyileşmesi sürecinde, özellikle aktive olmuş trombositlerin, nötrofillerin ve makrofajların varlığı ve bir dizi faaliyetleri bu onarım sürecinde önemli rol oynar. Artan vasküler geçirgenlik ve anjiyogenesis iyileşmenin sonuçlarıdır. Birden fazla hücrenel ve sitokin aracılı olaylar işe karışır. Endotel hücreleri, fibroblast büyüme faktörleri, transforme edici büyüme faktörleri, epidermal büyüme faktörleri ve vasküler endotelial büyüme faktörlerinin etkileri ile yeniden düzenlenir (Ghosh ve Gaba, 2013).

Kutanöz yara iyileşmesinin bir hayvan modelinde yeni kollajen oluşumunu ve kalitesini ölçmek önemlidir. Kollajen, bağ dokusunun ana bileşenidir. Yara iyileşme süreçleri, kollajenin düzenleyici üretimi, birikimi ve müteakip olgunlaşmasını içeren kollajenin doğru metabolizmasına dayanır. Bu olaylar sadece kütanöz yara iyileşmesinde değil, aynı zamanda doku kollajeninin birikmesi veya kaybıyla karakterize edilen klinik olarak önemli bir dizi hastalıkta da hayati öneme sahiptir. Bir yandan, karaciğer sirozu, akciğer fibrozu ve hipertrofik ve keloid skarları gibi birçok bozuklukta aşırı kollajen üretimi ispatlanmıştır (Milner ve Cawston, 2005; Shih ve ark., 2010). Kollajen yapısal bütünlüğün korunmasında ve doku fonksiyonunun belirlenmesinde hayati bir rol oynar. Kollajenin iyileşmedeki önemli rolü göz önünde bulundurulduğunda, değerlendirilmesi ve ölçümü için birçok teknik geliştirilmiştir (Yung-Kai ve Che-Yung 2010). Biyolojik dokularda hidroksiprolinin analizi, çeşitli doku örneklerinin ekstraktlarında kollajen içeriğinin rutin ölçümü için altın standart yöntem olarak kabul edilmektedir (Reddy ve Enwemeka 1996). Hidroksiprolin analizi için tarif edilen çok sayıda test prosedürüne rağmen, bu testin özgüllüğü, duyarlılığı, tekrarlanabilirliği, doğruluğu ve pratik yaklaşımı ile ilgili sınırlamaları vardır. Genel olarak, prosedürler zahmetlidir ve birçok zaman alan adımları içerir (Kliment ve ark.

2011; Caetan ve ark., 2016). Prolin, hidroksiprolin ve glisin, normalde kolajen üçlü sarmalın ve özellikle de kollajen çapraz bağlarının oluşumunda esansiyel amino asitlerdir. Doğal balda bulunan bu amino asitlerin yüksek seviyeleri, kolajen oluşumunda önemli bir rol oynar ve erken iyileşmeye katkıda bulunabilir ve fibroblastik aktiviteyi başlatarak kollajen liflerinin erken sentezine neden olabilir (Irvin, 1984).

Ekstraselüler matriksin normal ve stabil bir hücresel yapısı, bir doku yaralanmasından sonra tam bir yara iyileşme sürecinin bir işaretidir. Granülasyon dokusunda artan hidroksiprolin içeriği, yara iyileşmesi sırasında daha iyi olgunlaşma ve kolajenin proliferasyonunu gösteren artan kollajen döngüsünün göstergesidir (Kumar ve ark., 2006; Veis ve Averej, 1965). Manuka balının kollajen üretimi üzerine yapılan *in vitro* bir çalışmada, hidroksiprolin üretiminin kontrol ve manuka balı uygulanmış hücreler arasında fark gözlenmemiştir (Sell ve ark., 2012). Nisbet ve ark. (2010) 3 çeşit balın (kestane, çiçek ve ormangülü) tavşanlarda oluşturulan tam kat yaralarının iyileşmesi üzerindeki etkilerini değerlendirmişler ve hidroksiprolin seviyelerinin bal ile tedavi edilen gruplarda 7 ve 14. günlerde kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. En yüksek hidroksiprolin seviyesini 14. günde kestane balı uygulanan grupta ( $P < 0.05$ ) gözlemişlerdir. Başka bir çalışmada, İftikhar ve ark. (2010) sıçanlarda kesi, eksizyon, yanık ve ölü alan yara modellerini kullanarak Akasya balının yara iyileştirici aktivitesini değerlendirmiş ve hidroksiprolin düzeyinin kontrol ile karşılaştırıldığında daha yüksek dozlarda bal uygulaması yapılan sıçanlarda da arttığını gözlemişlerdir. Benzer şekilde, sıçanlarda farklı bal türlerinin uygulandığı yanık yaralarında balla tedavi edilen yaraların, artan kollajen konsantrasyonuna ve liflerin stabilizasyonuna sahip oldukları gözlenmiştir (Rozaini ve ark., 2004). Bu çalışmada, 14. günde kestane balı ve çam balı içeren kremlerin hidroksiprolin düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Hidroksiprolin düzeyi Kestane balı içeren kremin uygulandığı yaralarda Çam balı içeren kremin uygulandığı yaralardan düşük bulunmuştur. Bu sonuçlar, Nisbet ve ark. (2010), Rozaini ve ark., (2004), İftikhar ve ark. (2010) yaptıkları çalışma sonuçlarından farklılıklar göstermektedir. Ayrıca, bu çalışmada krem dolgu maddelerinin de yara bölgesinde hidroksiprolin düzeyini düşürdüğü tespit edilmiştir.

Histopatolojik incelemede ise kollajen miktarı 7. ve 14. günlerde gruplar arasında anlamlı bir farklılık göstermemiştir.

Yara iyileşmesi üzerine yapılan birçok çalışmada, balın antibakteriyel aktivitesinin olduğu kanıtlanmıştır (Oryan ve Zaker, 1998). Özellikle mikrobiyal patojenlerde oluşan antibiyotik direncinin ortaya çıkması nedeniyle daha fazla bilimsel çalışmaya konu olmuştur. Manuka balı pansumanı, kronik yara enfeksiyonlarının (özellikle metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*) tedavisinde uzun zamandır kullanılmaktadır (Visavadia ve ark., 2008). Balın antibakteriyel özelliği kısmen asiditesine ve kısmen de belirli bitkilerin nektarından elde edilen fitokimyasallarla ilişkilidir (Malon ve Betts, 2004). Bu çalışmada, Kestane balı içeren krem uygulanan grupta kontrol grubuna göre kronik yangı durumu önemli derecede azalmasına ( $p<0,05$ ) rağmen Çam balı içeren kremin uygulandığı grup ile kontrol grubu arasında önemli fark görülmemiştir. Mohd Zohni ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada deneysel yanık modelinde bal içeren hidrojel örtü preparatı uygulanan grupta 7. günde inflamatuvar yanıt anlamlı derecede azaltmıştır. Bu çalışmada ise 7. günde gruplar arasında kronik yangı bakımından önemli bir farklılık gözlenmemiştir. Akut yangı bakımından incelendiğinde ise, 7. günde tüm gruplarda yangının oldukça azaldığı tespit edilmiştir. Sonuçlar kestane balının antiinflamatuvar etki gösterdiğini ortaya koymuştur. Balın antibakteriyel aktivitesinin, yüksek ozmolarite, düşük pH (3.6-3.7) ve hidrojen peroksit varlığından kaynaklandığı ifade edilebilir (Bergman ve ark., 1983; Oryan ve Zaker, 1998; Subrahmanyam, 1998).

Hidrojen peroksit, daha fazla lökositlerin iltihap alanlarına girmesine aracılık eden serbest radikaller oluşturur (Bunting, 2001). Lökositler tarafından proinflamatuvar sitokinlerin üretimini teşvik eder (Grimble, 1994). Bir çalışmada, Manuka balının proinflamatuvar sitokinlerin üretimini önemli ölçüde artırdığı bildirilmiştir (Tonk ve ark., 2001). Başka bir çalışmada ise, araştırmacılar tropik bir özelliği olan Endonezya balının nötrofiller üzerindeki kemotaktik aktivitesini incelemişlerdir. Bu çalışmadan farklı olarak, bal türünün rapor edilmediği ve saf bal kullanılarak yapılan bir başka çalışmada da, nötrofil sayısının 2. günde kontrol grubundakinden daha düşük olduğu bulunmuştur (Gheldof ve ark., 2002; Gheldof ve Engeseth, 2002). Yangı süreçlerinin



Endonezya balı ve Manuka balı uygulanan gruplarda kontrol grubundan daha kısa olduğu gösterilmiştir (Haryanto ve ark., 2012). Farelerde yapılan tam kat yara çalışmasında, 3. günde yapılan mikroskopik analizle, Endonezya balı ve Manuka balı gruplarındaki nötrofil sayılarının kontrol grubundan daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Ancak, 7. günde, Endonezya balı ve Manuka balı gruplarındaki nötrofil sayıları hızla azalmıştır. Her iki grupta yaraları çevreleyen bölgedeki kızarıklık da kaybolmuştur. Kontrol grubunda yara çevresinde ödem varlığı ve kontrol grubundaki nötrofil sayısı, Endonezya ve Manuka balı gruplarından daha büyük; ayrıca ikisi de kontrol grubundan önemli ölçüde farklı bulunmuştur. Bu çalışmada ise, kestane balı içeren kremin uygulandığı grupta 14. günde kronik yangı tamamen bitmesine rağmen diğer gruplarda yangı devam etmiştir. Bu farklılığın balın özelliklerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Epitelizasyon yara iyileşmesinde en önemli faktörlerden biridir. Farelerde yapılan bir çalışmada, epitelizasyonun bal ile hızlandırılmasının klinik ve histopatolojik olarak 6 ile 9 gün arasında olduğu bildirilmiştir (Subrahmanyam, 1998). Haryanto ve ark. (2012) yaptıkları çalışmada, Endonezya balı ile yaranın yeniden epitelizasyonunun 3. günde % 26'ya, 7. günde % 68'e ve 11. günde % 69'a ulaştığına ve 14. günde tam epitelizasyona ulaştığına işaret etmektedir. Bu çalışmada Manuka balı ile epitelizasyon 3. günde diğer gruplardan daha yüksek bulunmuş ve kontrol grubunununkinden de anlamlı derecede farklı olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte epitelizasyon da 7. günde % 56'ya, 11. günde % 86'ya yükselmiş ve 14. günde tam epitelizasyon sağlanmıştır. Endonezya balı ve Manuka balı grupları için bu epitelizasyon sonuçları anlamlı bir farklılık göstermemiştir. Diğer taraftan, 3. günde kontrol grubunun yeniden epitelizasyonu yaklaşık % 17 düzeyinde ve deney grubundakinden de daha yavaş bulunmuştur; iyileşme olmuş 7 günde ise deney gruplarına benzer şekilde hızlı bir iyileşme olmuş ve deney gruplarında ki gibi 11. günde neredeyse epitelizasyon tamamlanmıştır. Bu durum yeniden epitelizasyon için Endonezya ve Manuka balının etkinliğinin hidrokolloid pansumanınki (kontrol grubu) ile neredeyse aynı olduğunu göstermektedir (Haryanto ve ark., 2012). Mohd Zohni ve ark. (2012) ballı hidrojel örtü preparatının sıçanlarda oluşturulan deneysel yanık modelinde reepitelizasyonu hızlandırdığını bildirmiştir. Tavşanlarda yapılan tam kat

yara iyileşmesi çalışmasında ise, yara üzerine 3 bal çeşidi (kestane, çiçek ve orman gülü) saf olarak uygulanmış epitelizasyonun 7. günde bal ile tedavi edilen gruplarda anlamlı olarak arttığı ( $p < 0.05$ ) ve 21. Günde ise, tüm deneme gruplarının yaralarının neredeyse tamamen epitelize olduğu tespit edilmiştir (Nisbet ve ark., 2010). Diğer taraftan Mukai ve ark. (2015) ise yara iyileşmesinde Japon balı ve hidrokolloid pansumanın (HCD) kutanöz yara iyileşmesi üzerine kombine kullanımının etkilerini incelemişler; HCD grubu ile karşılaştırıldığında, akasya + HCD ve Manuka + HCD gruplarında ki reepitelizasyon gecikerek ortaya çıktığı tespit etmişlerdir. Bu çalışmada ise 7. ve 14. Günde görülen epitelizasyon gruplar arasında farklılık gözlenmemiştir. Epitelizasyon 14. günde tamamlanmıştır. 14. Günde elde edilen sonuçlar yönüyle Nisbet ve ark. (2010) ile Haryanto ve ark. (2012)'nin çalışmaları benzerlik göstermiştir. 7. günün sonuçlarına göre ise Nisbet ve ark. (2010) ile Mohd Zohni ve ark. (2012) aksine epitelizasyonda gruplar arasında herhangi bir farklılık gözlenmemiştir.

Mohd Zohdi ve ark. (2012) Malezya balı içeren hidrojel örtü formülasyonunu sıçanlarda oluşturulan deneysel yanık modelinde uygulamış; sonuçta ballı hidrojel grubunda gelişmiş granülasyon dokusu oluşumu, kılcak oluşum ve kollajen sentezi tespit edilmiştir. Başka bir çalışmada ise, miyofibroblastlar Endonezya ve Manuka balı gruplarında 3. günde görülmüş ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Endonezya ve Manuka balı gruplarında granülasyon dokusu oluşumu ve fibroblastların çoğalmasının kontrol grubundan daha hızlı olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, 3. günde, bal gruplarında yeni kılcak damarların şekillendiği ve bu durumun kontrol grubu bulgularından anlamlı ölçüde farklı olduğu tespit edilmiştir (Haryanto ve ark., 2012). Mukai ve ark. (2015) yaptığı çalışmada, mikroskopik analiz sonuçlarında, yara iyileşmesi ilerledikçe kollajen birikiminin arttığı belirlenmiştir. HCD grubunun (kontrol) kollajen lif oranı 11. ve 14. günlerde Manuka balı + HCD grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek; Akasya + HCD grubunun kollajen lif oranı; 11. günde Manuka balı + HCD grubundan daha yüksek bulunmuştur. Üçüncü günde tüm gruplarda yara bölgelerinde birkaç miyofibroblast ve 11. güne kadar granülasyon dokusunda birçok miyofibroblast mevcudiyeti gözlenmiş ve 3-4. günlerde dört grup arasında miyofibroblast sayısında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (Mukai ve ark.,

2015). İftikhar ve ark. (2010) sıçanlarda kesi, eksizyon, yanık ve ölü alan yara modellerini kullanarak Akasya balının yara iyileştirici aktivitesini değerlendirmiş ve epitelizasyon alanının artması, ardından yara kasılması, cilt kırma mukavemeti ile doku granülasyonunda bir artış tespit etmişlerdir. Yapılan bu çalışma ile granülasyon doku miktarında ve granülasyon doku/fibroblast olgunlaşmada 7. günde gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamasına rağmen 14. günde gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. D grubu, B ve C grubu ile benzer ancak A grubundan istatistiksel olarak farklı bulundu. Granülasyon dokusunda 7. günde artış miktarları bakımından gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Kestane balı grubunda granülasyon dokusu 14. günde diğer gruplara göre hızlı bir şekilde azalmıştır.

Sazegar ve ark. (2010) yapmış oldukları çalışmada çinko ve balın yara iyileşmesi üzerine etkisini araştırmışlardır. Balın cilt eksizyonlarında bakteriyel gelişmeyi inhibe edebileceği tespit edilmiştir. Histopatolojik çalışmanın sonuçları; çinko ile çinko+bal uygulanan gruplarda kollajen liflerinde, yeniden epitelizasyonda ve yeniden vaskülarizasyonda önemli bir artış olduğunu göstermiştir. Nisbet ve ark., (2010) Tavşanlarda yaptıkları tam kat yara iyileşmesi çalışmasında, yara üzerine 3 bal çeşidi (kestane, çiçek ve orman gülü) saf olarak uygulanmıştır. Kollajen düzeyi, 14 ve 21. günlerde, bal ile tedavi edilen gruplarda anlamlı olarak daha yüksek olmasına rağmen ( $P < 0.05$ ), balla tedavi edilen gruplar ve kontrol grubu arasında 7. günde anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Nisbet ve ark., 2010). Bu çalışmada ise, kollajen miktarında 7. günde ve 14. günde gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olmamıştır. Bu çalışmanın kollajen sonuçları, Mohd Zohdi ve ark. (2012), Nisbet ve ark. (2010), Mukai ve ark. (2015) ve İftikhar ve ark. (2010) sonuçları ile benzerdir. Kollajen sentezi enerji gerektirir. Bal içinde bulunan şeker fibroblastlar enerji kaynağı olarak kullanılabilir ve kollajenin sentezini sağlayabilir; bu, 8. günde fibroblast proliferasyonu ve kollajen sentezi ile gösterilebilir (Sumitra ve ark., 2009). Ghaderi ve Afshar'ın (2004) ve Haryanto ve ark., (2012)'nin çalışmalarında olduğu gibi, bu çalışmada da yara dokusunun kalınlığı fazla artmamış olsa da; Endonezya ve Manuka balının kollajen liflerinin oluşumu üzerindeki etkinliği hemen hemen aynı bulunmuştur. Bal hafif asidiktir ve 3,2-4,5 arasında bir pH'ya sahiptir (Molan, 1995).

Yaraların topikal asidifikasyonu iyileşmeyi de destekler (Kaufman ve ark., 1985). Balın ürettiği hidrojen peroksit, doku büyümesinin uyarılmasından sorumludur. Hidrojen peroksidin mikro ve nanomolar konsantrasyonlarda hücre kültüründe fibroblast büyümesini uyardığı gösterilmiştir (Schmidt ve ark., 1993). Ayrıca, zengin bir karbonhidrat kaynağı olan bal, fibroblastik çoğalma ve olgunlaşma ve kollajen oluşumu için gerekli ortamı ve enerjiyi sağlayabilir, yara büzülmesini artırır ve bu şekilde yaraların gerilme mukavemetini de yükseltir (Bergman ve ark., 1983; Efem, 1988). Balın düşük konsantrasyonları fibroblastların büyümesini ve anjiyojenezi teşvik eden hidrojen peroksiti yavaş salımlı bir taşıyıcı olarak düşük konsantrasyonlarda yara bölgesine verir (Molan, 1999). Kestane balı içeren krem kollajen üretimi ve fibroblast olgunlaşmasını diğer gruplara göre daha çok artırması gerek balın ürettiği hidrojen peroksit gerekse yara bölgesine sağlamış olduğu enerjiden kaynaklanabilir.

Mohd Zohdi ve ark. (2012) Malezya balı içeren hidrojel örtü formülasyonunun sıçanlarda yanık bölgesine uyguladığında kılcal oluşumunu arttığını gözlemişlerdir. Sazegar ve ark. (2010) yapmış oldukları çalışmada çinko ile çinko+bal uygulanan gruplarda yeniden vaskülarizasyonda önemli bir artış tespit etmişlerdir. Nisbet ve ark. (2010) anjiogenezle ilgili olarak bal ile tedavi edilen gruplarda ( $P < 0.05$ ) 7. ve 21. günlerde belirgin bir artış tespit ederken, 14. günde bir farklılık görememişlerdir. Bu çalışmada ise, neovaskülarizasyonda 14. günde gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamasına rağmen 7. günde gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. D grubu, B ve C grubu ile benzer ancak A grubundan istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. Yedinci günde neovaskülarizasyonun kestane balında diğer gruplara göre daha az olması ve 14. günde vaskülarizasyonun tamamen yok olmasının kestane balının iyileşmeyi hızlandırıcı etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Artan iyileşme oranı da, balın lenf çeken ozmotik etkisine atfedilebilir ve böylece çalışan kılcal damarlardan daha derin bir besin akışı sağlanmasından kaynaklanabilir (Molan, 2002).

Nisbet ve ark. (2010) farklı üç çeşit balın (kestane, çiçek ve orman gülü) tavşanlarda oluşturulan tam kat yaralarda iyileşme alanlarına etkilerine 7 ve 14.

günlerde değerlendirmişler; sonuçta yaralarda ki iyileşme sürecinde yaralarda önemli farklılıklar tespit edememişlerdir, ballar arasında bu yönde en zayıf etkili olarak çiçek balı bulunmuştur. Başka bir çalışmada, farelerde oluşturulan tam kat yarasında Manuka balı ve Endonezya balının etkileri karşılaştırılmış ve yara oluşturulduktan 11 gün sonra, kontrol bölgelerindeki yara alanları, Endonezya ve Manuka balı grupları arasında anlamlı fark göstermemiştir. Kontrol grubunda ilk 5 günde yara alanında küçülme çok yavaş kalmış ancak 11. günde bal uygulanan grupları yakalayabilmiştir (Haryanto ve ark., 2012). Bu çalışmada 14 gün boyunca yara iyileşme alanları tüm gruplarda benzer bulunmuştur. Bu yönüyle elde edilen sonuçlar Nisbet ve ark. (2010) ile Haryanto ve ark. (2012)'nin çalışmalarına benzerlik göstermiştir ile benzer bulundu.

Asidik pH'da oksihemoglobinden daha fazla oksijenin salındığı belirtilmektedir (Silver, 1982), bu nedenle tedavi edilen hayvanlarda yara kenarlarında nekrozun olmaması, balın düşük pH değerine bağlı olarak doku oksijenasyonundaki iyileşme ile ilişkili olabilir. Nekroz eksikliği, artmış yara kasılması, daha düşük inflamatuvar yanıtlar, daha iyi bir doku organizasyonu sağlar ve tedavi edilen yara lezyonlarının mekanik özelliklerinde bir iyileşme sağlar. Dolayısıyla göre bal, antibakteriyel etkisi ile yara iyileşmesinin enflamatuvar aşamasını kısaltırken, asidik pH'sı, iyileşme dokusuna O<sub>2</sub> verilmesini desteklemektedir. Balın yüksek karbonhidrat bileşenleri, iyileştirici doku için zengin bir besin ve enerji kaynağı sağlar dolayısıyla amino asitler kollajen oluşumu ve olgunlaşmasında önemli bir rol oynar, kasılmayı ve epitelizasyonu geliştirir, daha fazla fibroblastik bölünmeyi ve olgunlaşmayı, kolajen lifini yeniden şekillendirmeyi ve organizasyonu geliştirir ve sonuç olarak, gerilme mukavemetini artırır. Kollajen liflerinin organizasyonu ise ödem ve diğer enflamatuvar eksüdanların azalmasına bağlı olabilir. Bu durum, balın yüksek ozmolaritesinin ve yüksek enerji kaynağının bir sonucu olabilir (Oryan ve Zaker, 1998). Ayrıca, baldaki bazı bileşenler de yara iyileştirme özelliklerinden sorumlu olabilir. Bir bal türü, hepsi de yeni doku büyümesini uyarabilen arı poleni enzimleri ve propolis içerir. Bal, polen alındığı bitkiye bağlı olarak uçucu yağlar, flavonoidler, terpenler ve polifenoller dahil birçok tıbbi bileşik içerebilir (Azeredo ve ark., 2003; Ferreres ve ark., 1993; Gheldof

ve ark., 2002; Viuda-Martos ve ark., 2008). Ballardaki bu içerik farklılıkları yara iyileşmesi üzerine de etkilerin değişmesini beraberinde getirir.



## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışma kapsamında Türkiye'nin iki farklı bölgesinden elde edilen, iki farklı orjinli balların yara iyileştirici özelliklerinin deneysel olarak ortaya konulması amaçlanmıştır. Bu doğrultuda Muğla ve Düzce illerinden alınan çam balı ve kestane balının öncelikle içerik analizi yapılmış; antibiyotik başta olmak üzere kalıntı durumu araştırılmıştır. Ayrıca bal tebliğine göre de içerik analizleri yapılmıştır.

Deneysel çalışmalar sıçanlarda gerçekleştirilmiştir. Çalışmada 56 adet sıçan kullanılmış ve deney süresince tekli kafeslerde beslenmiştir. Sıçanların sırt bölgesine 2 adet 10 mm çapında punch aparatı ile yara açılmış ve geliştirilen kremler; yara bölgesine her gün uygulanmıştır. Çalışmanın başlangıcından itibaren, deneysel uygulamalar tamamlanana kadar her gün sıçanların yaraları kontrol edilmiştir. Çalışmanın 7. ve 14. günlerinde sakrifiye edilen hayvanlardan alınan deri örnekleri; biyokimyasal analizler için krio tüpler içerisine konularak kuru buz ile laboratuvara getirilmiş ve derin dondurucuda saklanmış; histopatolojik incelemeler için alınan örnekler ise formaldehit içerisine konularak laboratuvara getirilmiştir. Biyokimyasal analizler için getirilen dokulardan hidrokspirolin analizi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca yara alanlarının günlük takibi yapılarak alan ölçümleri ve fotoğrafları çekilerek tespit edilmiştir. Deneysel çalışmalar sırasında sıçanlardaki tüm klinik bulgular da ayrıca gözlenmiştir.

Apiterapi; bal, polen, propolis gibi arıcılık ürünlerinin sağlık sektöründe tedavi amaçlı kullanılması yaklaşımıdır. Bal özellikle yara ve yanıkların tedavisinde, cilt hastalıklarında ve mide rahatsızlıklarında kullanılmaktadır. Balın apiterapik etkisi başlıca antimikrobiyel özelliğinden kaynaklanmaktadır. Yüksek ozmotik dengesi, düşük pH değeri, içeriğinde bulunan hidrojenperoksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), flavonoidler, metilglioxal, lizozim, uçucu bileşenler gibi birçok parametrenin toplamı sonucu

oluşmaktadır. Bal sadece beşeri hekimlikte değil veteriner hekimlikte de son yıllarda kullanılmaya başlanmıştır.

Çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar, iki farklı bal çeşidi içerisinde özellikle Kestane balı içeren kremlerin yara iyileşmesinde daha etkili olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte balın elde edildiği kaynaktan etkinlik açısından son derece önemlidir. Ayrıca uygulama süresinin yara iyileşmesi üzerinde etkili bir faktör dür. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar temel alınarak, ileriye dönük olarak farklı bal çeşitleri, farklı hayvan modelleri ve doz çeşitliliği sağlayarak yeni bilimsel çalışmalar planlanabilir.





## ÖZET

### Ülkemize Özgü Çam Balı Ve Kestane Balı'nın Krem Tarzında Farmasötik Şeklinin Geliştirilmesi Ve Yara İyileşmesi Üzerine Etkisinin Araştırılması

Apiterapi, arı ürünlerinin, bazı hastalıkların tedavisinde tamamlayıcı olarak kullanılmasıdır. Bu doktora çalışmasında, ülkemize özgü çam balı ve kestane balı içeren krem formülasyonlarının geliştirilmesi ve bu formülasyonların açık yaralar üzerine iyileştirici etkilerinin belirlenmesi amaçlanmaktadır. Çalışmada, herhangi bir uygulama yapılmayan kontrol grubu (A), sadece krem taşıt maddesi uygulanan grup (B), Çam Balı kremi uygulanan grup (C) ve Kestane balı kremi uygulanan grup (D) olmak üzere 4 farklı denek grubu ile çalışılmıştır. İlk aşamada, her grupta (n=14) yer alan sıçanların sırt kısmına 10 mm çapında punch aparatı ile tam kat yara oluşturulmuştur. Oluşturulan yaraların yüzey alanını kapatacak şekilde hergün krem uygulaması yapılmıştır. Farklı gruplarda yer alan sıçanların yarısının deri örnekleri yara oluşumunu takip eden ilk 7. günde alınırken geri kalan yarısının deri örnekleri 14. günde alınarak çalışmanın sıçan uygulaması kısmı tamamlanmıştır. Alınan bu deri örneklerine; histopatoloji, hidroksiprolin ve yara iyileşme alanının belirlenmesi analizleri uygulanmıştır. Histopatolojik değerlendirme sonucuna göre, kronik yangının, kestane balı kremi uygulanan grupta kontrol grubuna göre önemli derecede azaldığı tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). Buna ek olarak, granülasyon doku ve granülasyon dokusu/fibroblast olgunlaşması'nın da kestane balı kremi uygulanan ve 14. gün alınan deri örneklerinde, kontrol grubuna göre önemli derecede azaldığı belirlenmiştir ( $p<0,05$ ). Kestane balı kremi uygulanan grubun 7.günde alınan deri örnekleri neovaskülarizasyon değerlerinin, kontrol grubu neovaskülarizasyon değerlerine göre daha düşük değerlerde olduğu gözlenmiştir ( $p<0,05$ ). Ayrıca, hidroksiprolin düzeyleri çalışma grupları yönüyle değerlendirildiğinde B ve D grupları arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Sonuçlar bütün halinde ele alındığında, kestane balı içeren kremin yara iyileşmesi üzerine katkısının olumlu yönde olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar temel alınarak, ileriye dönük olarak farklı bal çeşitleri, farklı hayvan modelleriyle, doz çeşitliliği sağlayarak yeni bilimsel çalışmalar planlanabilir.

**Anahtar kelime:** Apiterapi, çam balı, kestane balı, sıçan, yara iyileşmesi

## SUMMARY

### **The Investigation of the Effect of Country-Specific Pine Honey and Chestnut Honey on the Development of Pharmaceutical Form and Wound Healing in Cream Style**

Apitherapy is the supplementary usage of apicultural products during treatment of some diseases. The goal of this PhD study is, development of a cream formulation containing national honeydew and chestnut honeys and estimation of their open scar healing effects. The main four study groups (n=14) of the project are: control (A)-no treatment, only cream basic ingredients containing cream applied (B), honeydew honey cream applied (C) and chestnut honey cream applied. At first, all the analyze rats were 10mm full layer wounded from their back by punch instrument. Cream is applied to cover the surface area of the wounds formed every day. The derma samples from the each analyze group and rat were taken at the 7th and 14th following the creation of the scars by dividing the groups equally to two. All of the derma samples were analyzed for histopathology, hydroxyproline and healing area of the scars. According to histopathology results, chronic burnt decreased significantly in the scars treated by honeydew containing creams compared to control group ( $p<0,05$ ). Additionally, it was observed that granulation tissues, granulation tissue-fibroblast maturity was also decreased significantly in the 14th day sampled dermas compared to control, respectively ( $p<0,05$ ). Also, Neovascularization values of chestnut honey cream applied group were lower in the 7th day sampled dermas compared to control ( $p<0,05$ ). On the top of this, there were statistical difference observed between study groups B and D in the means of hydroxyproline levels ( $p<0,05$ ). Overall, the results shows that, there is a clear evidence that chestnut honey has a positive effect over scar healing. I believe that the results obtained in this study will be used as basis for many other high quality studies by application of different dosages, honeys, animal models etc.

**Key words:** Aphyteraphy, chestnut honey, honeydew honey, rat, wound healing

## KAYNAKLAR

- AKERSHOEK JJ, BROUWER KM, VLIIG M, BOEKEMA BKHL, BEELEN RHJ, MIDDELKOOP E, ULRICH MMW (2017). Differential effects of Losartan and Atorvastatin in partial and full thickness burn wounds. *PLoS One*. **12(6)**, e0179350. doi: 10.1371/journal.pone.0179350.
- AL-MANARY M, AL-MEERI A, AL-HABORI M (2002). Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*, **22(9)**: 1041-1047.
- AL-WAILI N S (2004). Investigating the antimicrobial activity of natural honey and its effects on the pathogenic bacterial infections of surgical wounds and conjunctiva. *Journal Of Medicinal Food*, **7.2**: **210-222**.
- ANONİM (2018). Türk gıda kodeksi yönetmeliği. Tarım ve Orman Bakanlığı, Bal Tebliği. Tebliğ No:2012/58. Resmi Gazete 27.07.2012/28366. Erişim Tarihi: 02.08.2018.
- AZEREDO LC, AZEREDO MAA, SOUZA SR, DUTRA VML (2003). Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins. *Food Chem*. **80(2)**:249–254.
- BARRIENTOS S (2008). Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair and Regeneration*, **16(5)**:585–602
- BERGMAN A, YANAI J, WEISS J, BELL D, DAVID MP (1983). Acceleration of wound healing by topical application of honey: An animal model. *The American journal of surgery*, **145(3)**, 374-376.
- BOGDANOV S, HALDIMANN M, LUGINBÜHL W, GALLMANN P (2007). Minerals in honey: environmental, geographical and botanical aspects. *J. Apicult. Res*. **46**, 269–275.
- BUNTING CM.(2001).The production of hydrogen peroxide by honey and its relevance to wound healing. University of Waikato (MSc thesis): New Zealand.
- BURUCU V.(2018). Tarım Ürünleri Piyasaları Arıcılık. Tarımsal Ekonomi Ve Politika Geliştirme Enstitüsü (TEPGE).Erişim: <https://arastirma.tarim.gov.tr/tepge>
- CAETAN GF, FRONZA M, LEITE MN, GOMES A, FRADE MAC (2016). Comparison of collagen content in skin wounds evaluated by biochemical assay and by computer-aided histomorphometric analysis. *Pharmaceutical biology*, **54(11)**, 2555-2559.
- CASTRO-VÁZQUEZ L, DÍAZ-MAROTO M C, DE TORRES C, PÉREZ-COELLO MS (2010). Effect of geographical origin on the chemical and sensory characteristics of chestnut honeys. *Food Res. Int*. **43**, 2335-2340.
- CODEX ALIMENTARIUS (1998). Draft revised for honey at step 6 of the Codex Procedure.CX5/10.2, CL1998/12-S 1998.
- COOPER R, MOLAN P, HARDING KG (1999). Antibacterial activity of honey against strains of *Staphylococcus aureus* from infected wounds. *Journal of the Royal Society of Medicine*, **92**: 283–285
- CRANE E (1990). Bees and Beekeeping. Science, Practice and World Resources. *New York: Cornell University Pres*, **593** pp.

- CZUBRYT MP (2012). Common threads in cardiac fibrosis, infarct scar formation, and wound healing,” *Fibrogenesis & Tissue Repair*, **5(1)**: 1–11.
- DELAVARY BM, VEER WM, EGMOND M, NIESSEM FB, BEELEN RH (2011). Macrophages in skin injury and repair. *Immunobiology*, **216(7)**: 753–762.
- DENEGAR CR, PRENTICE W (2010). Managing pain with therapeutic modalities. *Therapeutic Modalities: For Sports Medicine and Athletic Training*, McGraw-Hill Humanities/Social Sciences/Languages; 6 edition, San Francisco.
- DOĞANAY A, GİRİŞGİN AO (2017). Genel Arıcılık (Alınmıştır) *Bal Arısı Yetiştiriciliği Ürünleri Hastalıkları*. Editör: DOĞANAY A, AYDIN L. Dora Yayıncılık. Bursa-Türkiye, **22**.
- EFEM SEE, IWARA CI (1992). The antimicrobial spectrum of honey and its clinical significance. *Infection*, **20(4)**: 227-229.
- EFEM, SEE (1988). Clinical observations on the wound healing properties of honey. *British journal of Surgery*, **75(7)**, 679-681.
- EKMEKÇİ P, BOSTANCI S (2002). Yara iyileşmesi. *Türkiye Klinikleri Dermatoloji Dergisi*, **12**, 114-20.
- EL SOHAIMY S A, MASRY S D, SHEHATA M G (2015). Physicochemical characteristics of honey from different origins. *Annals of Agricultural Sciences*, 2015, 60.2: 279-287.
- ENOCH S, LEAPER DJ (2005). Basic science of wound healing. *Surgery*, **23(2)**: 37–42.
- FERRERES F, GARCÍA-VIGUERA C, TOMAS-LORENTE F, TOMAS- BARBERAN FA (1993). Hesperetin: a marker of the floral origin of citrus honey. *J Sci Food Agric*, **61(1)**:121–123.
- FRATELLONE PM, TSIMIS F, FRATELLONE G (2016). Apitherapy products for medicinal use. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, **22(2)**: 1020–1022.
- GHADERI R, AFSHAR M (2004). Topical application of honey for treatment of skin wound in mice. *IJMS*, **29(4)**:185–188
- GHELDOLF N, ENGESETH NJ (2002). Antioxidant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxidation in human serum samples. *J Agric Food Chem*, **50**: 3050–3055.
- GHELDOLF N, WANG XH, ENGESETH NJ (2002). Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources. *J Agric Food Chem* **50(21)**: 5870–5877.
- GHOSH PK, GABA A (2013). Phyto-extracts in wound healing. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, **16(5)**: 760-820.
- GIDA TARIM VE HAYVANCILIK BAKANLIĞI (GTHB) (2015). Arıcılık sektör raporu. 2-15, Ankara-Türkiye.
- GONZALEZ-MIRET ML, TERRAB A, HERNANZ D, FERNANDEZ-RECAMALES MA, HEREDIA FJ (2005). Multivariate correlation between color and mineral composition of honeys and by their botanical origin. *J. Agr. Food Chem*. **53**: 2574–2580.
- GRIMBLE GF (1994). Nutritional antioxidants and the modulation of inflammation: theory and practice. *New Horiz*, **2(2)**:175–185.

- GUBA R. (1998). Wound healing A pilot study using an essential oil-based cream to heal dermal wounds and ulcers. *International Journal of Aromatherapy*, 9(2), 67-74.
- HARYANTO TU, MUKAI K, SURIADI JS, NAKATANI T (2012). Effectiveness of Indonesian honey on the acceleration of cutaneous wound healing: an experimental study in mice. *Wounds*, 24(4): 110-119.
- HILDEBRAND KA, BEHM C, KYDD A (2005). The basics of soft tissue healing and general factors that influence such healing. *Sports Med Arthroscopy Review*, 13(3):136.
- IFTIKHAR F, ARSHAD M, RASHEED F, AMRAIZ D, ANWAR P, GULFRAZ M (2010). Effects of acacia honey on wound healing in various rat models. *Phytotherapy Research*, 24(4): 583-586.
- IRVIN TT (1984). The healing wound. In: B NAI.1. T. E. and H. EILIS (eds) *Wound healing for surgeons* pp. 1-28. Ballier Tindall
- KARACAOĞLU M, UÇAK KA (2007). Ege Bölgesi arıcılığında kısıtlar ve fırsatlar. *Ege Bölgesi Arıcılık Semineri, Bildiriler Kitabı*, s:25- 32.
- KARADENİZ V (2013). Türkiye’de kestane tarımı ve başlıca sorunları. *Uluslararası Sosyal Araştırmalar Dergisi*, 6(27): 279-291.
- KAUFMAN T, EICHENLAUB EH, ANGEL MF, LEVIN M, FUTRELL JW (1985). Topical acidification promotes healing of experimental deep partial thickness skin burns: a randomised doubleblind preliminary study. *Burns*, 12(2): 84-90.
- KIRK R S, SAWYER R (1991). *Sugars and preserves in Pearson’s composition and analysis of foods*, 9th edn, Longman Scientific and Technical, Essex.
- KLIMENT CR, ENGLERT JM, CRUM LP, OURY TD (2011). A novel method for accurate collagen and biochemical assessment of pulmonary tissue utilizing one animal. *Int J Clin Exp Pathol*. 4: 349-355.
- KOLAYLI S, KÜÇÜK M, ULUSOY E, SARIKAYA A O. KARAOĞLU Ş, DURAN C (2006). Kestane ve Çiçek Ballarının Antioksidan ve Antimikrobiyal Yöneden Karşılaştırılması. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen- Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Trabzon.
- KUMAR R, KATOCH SS, SHARMA S (2006).  $\beta$ -Adrenoceptor agonist treatment reverses denervation atrophy with augmentation of collagen proliferation in denervated mice gastrocnemius muscle. *Indian. J. Exp. Biol.* 44(5): 371-376.
- KUMAR V, ABBA A, FAUSTO N (2004). *Pathologic Basic of Disease*. 7th Edn. Philadelphia: Saunders Co., s: 2030
- KWAKMAN P HS, ZAAT S AJ (2012). Antibacterial components of honey. *IUBMB life*, 64(1): 48-55.
- MARTIN P (1997). Wound Healing-Aiming for Perfect Skin Regeneration. *Science*, 276(5309): 75-81
- MCLOONE P, WARNOCK M, FYFE L (2016). Honey: A realistic antimicrobial for disorders of the skin. *Journal Of Microbiology, Immunology And Infection*, 49(2): 161-167.
- MERCAN NAZIME, GUVENSEN A, CELIK A, KATIRCIOGLU H (2007). Antimicrobial activity and pollen composition of honey samples collected from different provinces in Turkey. *Natural Product Research*, 21(3): 187-195.

- MILNER JM, CAWSTON TE (2005). Matrix metalloproteinase knockout studies and the potential use of matrix metalloproteinase inhibitors in the rheumatic diseases. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*, 4: 363–375.
- MOHD ZOHDI R, ABU BAKAR ZAKARIA Z, YUSOF N, MOHAMED MUSTAPHA N, ABDULLAH MNH (2012). Gelam (*Melaleuca spp.*) honey-based hydrogel as burn wound dressing. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012: 1-7
- MOLAN PC (1996). The antibacterial properties of honey. *CINZ*. 1995;10–14.
- MOLAN PC (1999). The role of honey in the management of wounds. *Journal of Wound Care*, 8(8): 415–418.
- MOLAN PC (2001). Why honey is effective as a medicine. The scientific explanation of its effects. *Bee World*, 82: 22–40.
- MOLAN PC (2002). Re-introducing honey in the management of wounds and ulcers—theory and practice, *Ostomy/Wound Management*, 48(11): 28–40.
- MOLAN PC, BETTS JA (2004). Clinical usage of honey as a wound dressing: an update. *J Wound Care*, 13(9): 353–356.
- MTO (2012). Türkiye Arıcılığı. Marmaris Ticaret Odası.
- MUKAI K, KOIKE M, NAKAMURA S, KAWAGUCHI Y, KATAGIRI F, NOJIRI S, YAMADA Y, MIYAJIMA E, MATSUMOTO M, KOMATSU E, NAKAJIMA Y, URAI T, MURAKADO N, NAKATANI T (2015). Evaluation of the effects of a combination of japanese honey and hydrocolloid dressing on cutaneous wound healing in male mice. *Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015: 1-9 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2015/910605>.
- MURPHY AM, WONG AL, AND BEZUHLY M (2015). Modulation of angiotensin II signaling in the prevention of fibrosis. *Fibrogenesis Tissue Repair*, 8: 1-7. <https://doi.org/10.1186/s13069-015-0023-z> PMID: 25949522
- MUTLU C, ERBAŞ M, TONTUL SA (2017). Bal ve diğer arı ürünlerinin bazı özellikleri ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Akademik Gıda*, 15(1): 75-83.
- NİSBET HO, NİSBET C, YARİM M, GULER A, OZAK A (2010). Effects of three types of honey on cutaneous wound healing. *Wounds: a compendium of clinical research and practice*, 22(11): 275-283.
- ORYAN A, ZAKER SR (1998). Effects of topical application of honey on cutaneous wound healing in rabbits. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 45(1-10): 181-188.
- ÖZKORKMAZ E G, YUSUF Ö Z AY. (2009). Yara iyileşmesi ve yara iyileşmesinde kullanılan bazı bitkiler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, (2), 63-67.
- ÖZKÖK A., YÜKSEL D., SORKUN K (2018). Chemometric Evaluation Of The Geographical Origin Of Turkish Pme Honey. *FOOD and HEALTH*, 2018, 4.4: 274-282.
- PARK S I, SUNWOO Y Y, JUNG Y J, CHANG W C, PARK M S, CHUNG Y A, LEE S H (2012). Therapeutic effects of acupuncture through enhancement of functional angiogenesis and granulogenesis in rat wound healing. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012.

- PAYDAR S, AKRAMÍ M, DEHGHANIAN A, ALAVÍ MOGHADAM R, HEİDARPOUR M, BAHARÍ KHOOB A, DALFARDÍ B. (2016). A Comparison of the Effects of Alpha and Medical-Grade Honey Ointments on Cutaneous Wound Healing in Rats. *Journal of pharmaceutics*, 2016.
- RAO P V, KRISHNAN KT, SALLEH N, GAN SH (2016). Biological and therapeutic effects of honey produced by honey bees and stingless bees: a comparative review. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, **26(5)**: 657–664.
- REDDY GK, ENWEMEKA CS (1996). A simplified method for the analysis of hydroxyproline in biological tissues. *Clin Biochem*, **29**: 225–229.
- ROZAINI MZ, ZUKI ABZ, NOORDIN M, NORIMAH Y, NAZRUL HAKIM A (2004). The effects of different types of honey on tensile strength evaluation of burn wound tissue healing. *Int J Appl Res Vet Med*. 2(4): 290–296.
- SAMI K. SAIKALY SK, KHACHEMOUNE A (2017). Honey and Wound Healing: An Update. *Am J Clin Dermatol*, **18(2)**:237-251.
- SANZ M L, GONZALEZ M, LORENZO C, SANZ J, MARTINEZ-CASTRO I (2005). A contribution to the differentiation between nectar honey and honeydew honey. *Food Chemistry*, **91**, 313-317.
- SARIÖZKAN S, İNCİ A, YILDIRIM A, DÜZLÜ Ö (2009). Kapadokya’da arıcılık. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **6(2)**: 143-155.
- SAZEGAR G, REZA S, HOSSEINI A, BEHRAVAN E (2011). The Effects of Supplemental Zinc and Honey on Wound Healing in Rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, **14(4)**: 391-398.
- SCHMIDT RJ, CHUNG LY, ANDREWS AM (1993). Hydrogen peroxide is a murine (L929) fibroblast cell proliferant at micro- to nanomolar concentrations. In: Harding KG, Cherry G, Dealey C, Turner TD, eds. Proceedings of the Second European Conference on Advances in Wound Management; London: October **20–23**, 1993.
- SELL SA, WOLFE PS, SPENCE AJ, RODRÍGUEZ IA, MCCOOL JM, PETRELLA RL, GARG K, ERICKSEN JJ, BOWLİN GL (2012). A preliminary study on the potential of manuka honey and platelet-rich plasma in wound healing. *International journal of biomaterials*, 2012: 1-14
- SEMERCİ A (2017).Türkiye Arıcılığının Genel Durumu ve Geleceğe Yönelik Beklentiler. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, **22(2)**: 107-118.
- SHIH B, GARSIDE E, MCGROUTHER DA, BAYAT A (2010). Molecular dissection of abnormal wound healing processes resulting in keloid disease. *Wound Repair Regen*. **18**: 139–153.
- SILVER A (1982). Basic physiology of wound healing in the horse. *Equine Vet. J.* 14: 7-15.
- SIRALI R, SIRBİL Y, SIRALI B (2007). Ordu, Posof ve İkizdere balarılarının (*Apis mellifera* L.) Anzer yaylası kosullarında bazı davranış özelliklerinin karşılaştırılması. *Uludag Arıcılık Dergisi*, **2007(1)**: 20–25.
- STRODTBECK F (2001). Physiology of Wound Healing. *Newborn and Infant Nursing Reviews*, **1(1)**: 43-52.
- SUBRAHMANYAM M (1998). A prospective randomized clinical and histological study of superficial burn wound healing with honey and silver sulfadiazine. *Burns*. **24(2)**: 157–161.

- SUMITRA M, MANIKANDAM P, GAYATHRI VS, SUGUNA L (2009). Influence of honey on energy metabolism during wound healing in rats. *Scholarly Res Exchange*, (1):1–6.
- ŞAHİN A (2000). Marmaris-Muğla yöresinde üretilen çam ballarının mikroskopik analizi ve organoleptik özelliklerinin saptanması, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- TAORMINA PJ, NIEMIRA BA, BEUCHAT LR (2001). Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power. *International Journal Of Food Microbiology*, **69(3)**: 217-225.
- THOMPSON L (2002). Skeletal muscle adaptations with age, inactivity, and therapeutic exercise. *J Orthop Sports Phys Ther* 32(2).
- TONKS A, COOPER RA, PRICE AJ, MOLAN PC, JONES KP (2001). Stimulation of TNF-alpha release in monocytes by honey. *Cytokine*. **14**: 240–242.
- TÜİK (2018). TÜİK hayvansal üretim istatistikleri. Erişim adresi: [ [http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt\\_id=1002](http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1002) ]. Erişim tarihi 07/02/2018.
- ULUSOY E (2012). Bal ve apiterapi, *Uludağ Arıcılık Dergisi Ağustos*, **12(3)**: 89-97.
- VEIS A, AVEREY J (1965). Modes of intermolecular crosslinking in mature insoluble collagen. *J. Biol. Chem.*, **240(10)**: 3899-3908.
- VELNAR T (2009). The wound healing process: An overview of the cellular and molecular mechanisms. *Journal of International Medical Research* , **37(5)**:1528–42.
- VIJAYA KK, NISHTESWAR K (2012). Wound healing activity of honey: A pilot study. *Ayu*, **33(3)**: 374-377.
- VISAVADIA BG, HONEYSETT J, DANFORD MH (2008). Manuka honey dressing: An effective treatment for chronic wound infections. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, **46(1)**: 55-56.
- VIUDA-MARTOS M, RUIZ-NAVAJAS Y, FERNÁNDEZ-LÓPEZ J, PEREZ- ALVAREZ JA (2008). Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. *J Food Sci*, **73(9)**: R117–124.
- YANG L, WITTEN TM, PIDAPARTI RM (2013). A biomechanical model of wound contraction and scar formation, *Journal of Theoretical Biology*, 332: 228–248.
- YENİNAR H, AKYOL E, ŞAHİNLER N, YÖRÜK A, BAYRAM A, CEYLAN A (2010). Tarıma ve çevre şartlarının gezginci arıcılık koşullarında, bal arısı kolonileri üzerine etkilerinin belirlenerek uygun taşımacılık ve kışlama yöntemlerinin geliştirilmesi. TÜBİTAK 105O437 Nolu proje.
- YEŞİL A, GÜRKAN B, SARAÇOĞLU Ö, ZENGİN H (2005). Effect of the pest *Marchalina hellenica* Gennadius (Homoptera, Margarodidae) on the growth parameters of *Pinus brutia* Ten. in Muğla region (Turkey). *Polish Journal of Ecology*, **53(3)**: 451-458.
- YUNG-KAI L, CHE-YUNG K (2010). Development of 4-hydroxyproline analysis kit and its application to collagen quantification. *Food Chem Toxicol*. **119**:1271–1277.
- ZWAKA TP, THOMSON JA (2005). A germ cell origin of embryonic stem cells? *Development*, **132**: 227- 33.



## EKLER

### EK-1 Etik Kurul Kararı

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi:31.03.2016

Toplantı Sayısı:16/03

Karar No:16/44

Üniversitemiz Hayvan Deneyleri Yerel Etik 31.03.2016 Perşembe günü saat 13:00'de Prof.Dr.Siyami KARAHAN'ın başkanlığında toplanarak gündemdeki konuları görüştü.

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr.Ender YARSAN tarafından yürütülen "Ülkemize Özgü Çam Balı ve Kestane Balı'nın Krem Tarzında Farmasötik Şeklinin Geliştirilmesi ve Yara İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması " isimli projesinin Kırıkkale Üniversitesi Hüseyin Aytemiz Deneysel Hayvanları Ünitesinde yapılmak şartıyla Kırıkkale Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu Yönergesinde belirtilmiş olan Etik İlkelerine uygun olduğuna karar verilmiştir.

PROJEDE GÖREVLİ PERSONEL			
Sıra	Proje Görevi	İsim	Kurum
1	Yürütücü	Prof.Dr.Ender YARSAN	Ankara Üniversitesi
2	Araştırmacı	Arş.Gör Sedat SEVIN	Ankara Üniversitesi

Prof.Dr.Siyami KARAHAN

Başkan

Prof.Dr.Umut TEKİN

Üye

Prof.Dr.Zuhal AKTUNA

Üye

Prof.Dr.Murat YILDIRIM

Üye

Doç.Dr.Mustafa TÜRK

Üye

Yrd.Doç.Dr.Uğur TIFTIKÇI

Üye

Yrd.Doç.Dr.Nahit PAMUKOĞLU

Üye

Yrd.Doç. Dr.Şerap YÖRÜBULUT

Üye

Vet.Hek. Yusuf BOSTANCI

Üye

Mustafa AKIN

Üye

Vet.Hek.Yasar SAHİN

Üye

## ÖZGEÇMİŞ

### Bireysel Bilgiler

Adı	Sedat
Soyadı	SEVİN
Doğum yeri ve tarihi	Tekirdağ, 27/09/1988
Uyruğu	T.C.
Medeni durumu	Evli
Askerlik durumu	Tecilli
İletişim adresi ve Telefonu	Barbaros Mah. Büklüm Sok. Park Aprt.No:93/15 /Ankara 03123160315-4552

### Öğrenim Durumu

Lisans	ANKARA ÜNİVERSİTESİ
2006-2011	VETERİNER FAKÜLTESİ

### Görevler

ARAŞTIRMA GÖREVLİSİ 2012	ANKARA ÜNİVERSİTESİ / VETERİNER FAKÜLTESİ / KLİNİK ÖNCESİ BİLİMLERİ BÖLÜMÜ / FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI
--------------------------------	--

### Projelerde Yaptığı Görevler:

1. Antropojenik Kaynaklı Sucul Toksisitenin Belirlenmesinde Alternatif ve Yeni Bir Yaklaşım Olarak PLHC-1 ve RTG-2 Hücre Hatlarının Kullanılması ve CYP1A1 Biyobelirteci ile Birlikte Değerlendirilmesi.  
BAP/BAP Projeleri. 13B3338010. 22.01.2014-22.07.2016. (Araştırmacı)
2. Bal Arısı (*Apis mellifera* L.) Kolonilerinde *Varroa destructor*'un Erken Teşhisine Yönelik Görüntüleme Sisteminin Geliştirilmesi.  
Bilim Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı /Teknogirişim Sanayi Desteği.  
0932.TGSD.2015. 08.06.2015-07.07.2016.(Proje Yürütücüsü)
3. Sığır Eti, Yağ ve Organlarında İndikatör Poliklorlu Bifenil (PCB) Kalıntılarının Gaz Kromatografi Kütle Spektrometrisi (GC-MS) İle Belirlenmesi. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı (TAGEM).  
TAGEM/HSGYAD/15/A05/P01/83. 01.01.2015-31.12.2016. (Araştırmacı)
4. Bal Arısı (*Apis mellifera* spp.) Bağırsak Mikrobiyotasının Probiyotik Olarak Geliştirilmesi ve *Nosema* spp. Enfeksiyonu Sağaltımında Alternatif Bir Uygulama Olarak Değerlendirilmesi. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı (TAGEM). TAGEM-16/AR-GE/42. 12.07.2016- 12.07.2018. (Proje Yürütücüsü).
5. Farklı Çeşitten Dezenfektanların Bal Arısında (*Apis mellifera* spp.) Kullanımı ve Etkinliklerinin Araştırılması. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı (TAGEM). 15.01.2018- Devam Ediyor. (Proje Yürütücüsü).
6. Evcil Hayvanlar İçin Yerli ve Biyolojik Gıda Takviyelerinin Geliştirilmesi ve Prototip Üretimi.T.C. Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı, KOSGEB T.C.

Küçük ve Orta Ölçekli İşletmeleri Geliştirme ve Destekleme İdaresi Başkanlığı. 26.02.2018- Devam Ediyor. (Proje Yürütücüsü)

## Eserler

### Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

1. Yurdakök Dikmen Begüm, Tutun Hidayet, Sevin Sedat, Aydın Farah Gönül (2015). Evaluation of antropogenic ecotoxicity in Ankara River using RTG2 Cell line. *Journal Of Veterinary Pharmacology And Therapeutics*, 38(1), 29-30.
2. Kuzukıran Özgür, Yurdakök Dikmen Begüm, Fılazı Ayhan, Sevin Sedat, Aydın Farah Gönül, Tutun Hidayet (2015). A novel method based on ultrasound assisted extraction with low-density solvent and dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of selected polychlorinated biphenyls in marine sediments by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal Of Veterinary Pharmacology And Therapeutics*, 38(1), 166-166.
3. Özg Kuzukıran Özgür, Yurdakök Dikmen Begüm, Fılazı Ayhan, Sevin Sedat, Aydın Farah Gönül, Tutun Hidayet.(2016). Determination of Polychlorinated Biphenyls in Marine Sediments by Ultrasound-Assisted Isolation and Dispersive Liquid-Liquid Microextraction and Gas Chromatography-MassSpectrometry. *Analytical Letters*. 49(15): 2525-2536, DOI: 10.1080/00032719.2016.1151890.
4. Baydan E., Küçükersan S., Yurdakök Dikmen B., Aydın F.G., Sevin S., Arslanbaş E., Çetinkaya M.A. (2016). Comparison of nutritional composition ( moisture, ash, crude protein, nitrogen) and safety ( aflatoxin, nitrate/nitrite) of

organic and conventional rice and lentil samples consumed in Ankara. Veterinary Journal of Ankara University.63,365-370.

5. Bilir E.K., Sevin S., Tutun H, Alcigir M.E., Yarsan E. (2018): Cytotoxic and Antiproliferative Effects of Rhododendron Ponticum L. Extract on Rat Glioma Cell Line (F98). Int J Pharm Sci Res, 9 (5): 1000-1007. DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.9(5).1000-07
6. Bilir E.K., Tutun H., Sevin S., Kismali G., Yarsan E(2018).: Cytotoxic effects of Rhododendron ponticum L. extract on prostate carcinoma and adenocarcinoma cell line (DU145, PC3). Kafkas Univ Vet Fak Derg. DOI: 10.9775/kvfd.2017.19219

**Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:**

1. Tutun H., Sevin S., Yurdakök B., Altıntaş L., Aydın F.G. Bazı Albendazol Preparatlarının Etken Madde Miktarının Belirlenmesi,/ Determination of Active Ingredient Contents of Some Albendazole Preparations 2013. IV. Ulusal Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Kongresi,174.
2. Sevin, S., Baydan, E., Tutun, H. (2015). Varroa destructor'a Karşı Kullanılan Biyolojik Mücadele Yöntemleri, Ekoloji 2015 Sempozyumu Kitapçığı, Sinop, s:280.
3. Tutun, H., Baydan, E., Sevin, S. (2015). Genetiği Değiştirilmiş Mısırın Toksikolojik Değerlendirmesi, Ekoloji 2015 Sempozyumu Kitapçığı, Sinop, s:367

**Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:**

1. Sevin,S., Baydan,E (2014):Varroa Destructor'un Biyolojisi ve Mücadele Yöntemleri. Türk Vet. Hek. Derg. Cilt:14, Sayı: 1-2 sf: 101-108.
2. Altıntaş L, Tutun H, Sevin S, Yarsan E. (2016). Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde Prebiyotik ve Probiyotik Kullanımı./ Use of Probiotics and Prebiotics in Aquaculture.Türkiye Klinikleri J Vet Sci Pharmacol Toxicol-Special Topics. 2(1):29-37
3. Sevin S, Yarsan E., 2017. Yemlerdeki Olumsuzluk Faktörlerinin Tespitinde Analitik Yöntemler./ Analyzing Methods for Undesirable Factors İn Feeds.Türkiye Klinikleri J Vet Sci Pharmacol Toxicol-Special Topics 2017; 3(2):144-148.

**Ul Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında (proceedings) basılan bildiriler :**

1. Kuzukıran Ö., Yurdakök Dikmen B., Filazi A., Tutun H., Sevin S., Aydın F. G. Investigation of selected PCBs in water samples from Ankara River by ultrasound-assisted emulsification–microextraction (USAEME) and gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). Food Safety: Toxicology from Farm to Fork, Belgian Society of Toxicology and Ecotoxicology. 4 December 2014. Brussels, Belgium.
2. Mutlu S., Sevin S., 2014. Organik Arıcılık ve Organik Bal./ Organic Apiculture And Organic Honey. 4. Uluslararası Muğla Arıcılık ve Çam Balı Kongresi ve Eş Zamanlı Olarak 20. Apislvavia Kongresi, 5-9 Kasım 2014/ Ölüdeniz- Muğla./ 4 th International Muğla Beekeeping and Pine Honey Congress 5-9 November, 2014, Ölüdeniz- Muğla, TURKEY.
3. Sevin, S., Baydan, E., 2014. Türkiye’de Deli Bal Zehirlenmesi ve OrmanGülleri./ Mad Honey Poisoning in Turkey And Rhododendrons. 4.

Uluslararası Muğla Arıcılık ve Çam Balı Kongresi ve Eş Zamanlı Olarak 20. Apislavia Kongresi, 5-9 Kasım 2014/ Ölüdeniz- Muğla./ 54 th International Muğla Beekeeping and Pine Honey Congress 5-9 November, 2014, Ölüdeniz- Muğla, TURKEY.

4. Sevin, S., Mutlu, S., 2015."Chemical Composition And Consumption Effects Of Mad Honey From Black Sea Region".The 3rd International Symposium on "Traditional Foods from Adriatic to Caucasus " 01-04 October 2015 Sarajevo – BOSNIA and HERZEGOVINA.
5. Sevin, S., Kaya, U., Çevrimli, B.M.,2015."Determining In formation And Ideas Of Students About Education On Beekeeping In Veterinary Medicine At Ankara University".44nd Apimondia International Apicultural Congress, September 15-19, 2015, Daejeon Convention Center, South Korea. S: 358.
6. Schiesser,A., Sevin, S.,Baydan, E.,Özkırım,A., 2015. In Vitro Assessment of the Antibacterial Potential of Rhododendron sp. Extracts as an Alternative Remedy for American Foulbrood Disease. 44nd Apimondia International Apicultural Congress, September 15-19, 2015, Daejeon Convention Center,South Korea. S: 190. (Oral Presentation).
7. Sevin, S.,Kaya, S. M., Baydan, E.,2015. Antibacterial Effects Of Four Different Rhododendron L.Species .International Gazi Symposium, November 12-15, 2015, Belek/ANTALYA. S: 155.
8. Yurdakok-Dikmen, B., Kuzukıran, O., Aydın, F. G., Tutun, H., Sevin, S., Fılazı, A. (2016). Occurrences, Distributions And Monthly Variations Of Some Persistent Organic Pollutants In Water And Surface Sediments From Ankara River, Turkey. The Society Of Toxicology 55th Annual Meeting And Toxexpo. 13 - 17 March 2016. New Orleans, Luisiana, Us. (Poster Presentation).

9. Bektaş N., Altıntaş L., Tutun H., Sevin S. (2016). Apiterapide Arı Zehirinin Kullanımı./ The Usage of Bee Venom in Apitherapy. 5. uluslararası Muğla Arıcılık ve Çam Balı Kongresi Kitapçığı, 1-5 Kasım 2016, Muğla. S: 352/5 th International Muğla Beekeeping and Pine Honey Congress , 1-5 November, 2016, Fethiye, TURKEY.
10. Genç G., Tutun H., Sevin S., Bilgili A. (2016). Nosema spp. Enfeksiyonlarına Karşı Kullanılan İlaçlar ve Alternatif Tedavi Seçenekleri./ Drugs Used Against Nosema spp. Infection and Alternative Treatment Options. 5. uluslararası Muğla Arıcılık ve Çam Balı Kongresi kitapçığı, 1-5 kasım 2016, Muğla. S: 319./ 5 th International Muğla Beekeeping and Pine Honey Congress , 1-5 November, 2016, Fethiye, TURKEY.
11. Yurdakok Dikmen, B., Tutun, H., Sevin, S., Aydın, F.G. (2015). Evaluation of Antropogenic Ecotoxicity in Ankara Using RTG-2 Cell Line. 13th International Congress of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology (EAVPT 2015), 2015. (Oral Presentation).
12. Yurdakok-Dikmen, B., Kuzukıran, O., Tutun, H., Sevin, S., Aydın, F.G., Filazlı, A. (2016). Antropogenic ecotoxicity evaluation in vitro and its relation to the occurrence of some persistent organic pollutants in water and sediment samples collected from Ankara River. (Poster No: 12-008, Abstract Reference No: 0797). EUROTOX2016. 52nd European Congress of the European Societies of Toxicology. 04-07 September 2016, Seville, Spain. (Poster Presentation).
13. Sevin S., Kaya M.S., Özkan C., Yarsan E. (2016). Ülkemize Özgü Çam, Kestane ve Sedir Ballarının Antimikrobiyal Etkinliklerinin Araştırılması./ Investigation Antimicrobial Effects of National Pine, Chestnut and Cedar Honeys. 5. Uluslararası Muğla Arıcılık ve Çam Balı Kongresi Kitapçığı, 1-5 kasım 2016, Muğla. S:188/ 5 th International Muğla Beekeeping and Pine Honey Congress, 1-5 November, 2016, Fethiye, TURKEY .(Oral Presentation).



14. Yurdakök Dikmen B., Bilir E.K., Sevin S., Alçıgır E., Yarsan E. Propolisin Sitotoksik Etkisinin Glioma Hücre Hattında (F98) Araştırılması./ Cytotoxic Effects of Propolis on Rat Glioma Cell Line (F98). 5. Uluslararası Muğla Arıcılık ve Çam Balı Kongresi Kitapçığı, 1-5 Kasım 2016, Muğla. S:94/ 5 th International Muğla Beekeeping and Pine Honey Congress , 1-5 November, 2016, Fethiye, TURKEY. (Oral Presentation).
15. Sevin S., Kaya M.S., Özkan C., Yarsan E. (2016). Ülkemize Özgü Çam, Kestane ve Sedir Ballarından Hazırlanan Kremlerin Antimikrobiyal Etkinliklerinin Araştırılması./ Investigation of Antimicrobial Effectiveness of Creams Prepared from National Pine, Chestnut and Cedar Honey. 5. Uluslararası Muğla Arıcılık ve Çam Balı Kongresi Kitapçığı, 1-5 Kasım 2016, Muğla. S:384/5 th International Muğla Beekeeping and Pine Honey Congress , 1-5 November, 2016, Fethiye, TURKEY
16. Yurdakök Dikmen B., Bilir E.K., Sevin S., Kısmalı G., Yarsan E. Propolisin Sitotoksik Etkisinin Prostat Karsinoma Hücre Hattında (Du145) Araştırılması./ Cytotoxic Effects of Propolis on Prostat Carsinoma Cell Line (DU145). 5. Uluslararası Muğla Arıcılık ve Çam Balı Kongresi Kitapçığı, 1-5 Kasım 2016, Muğla. S:365/5 th International Muğla Beekeeping and Pine Honey Congress , 1-5 November, 2016, Fethiye, TURKEY
17. Sevin S., Yarsan E., 2017. Mor Çiçekli Ormangülü (Rhododendron ponticum L.) Ekstraktlarında Grayanotoksin Analizi./ Grayanotoxin Analyse of Common Rhododendron (Rhododendron ponticum L.) Extracts. Uluslar Arası Katılımlı 1. Tarım ve Gıda Etiği Kongresi,10-11 Mart 2017,Ankara. S:459-464.
18. Bilir E.K., Sevin S., Tutun H., Alçıgır E., Yarsan E., 2017. Cytotoxic Effects Of Rhododendron Ponticum L. Extract On Rat Glioma Cell Line (F98). 1th International Congress on Medicinaland Aromatic Plants, 9-12 May 2017, Konya. S: 1477.

19. Sevin S. , Mutlu S., 2017. “Eco-friendly development of an early warning system against *Varroa destructor*”. Sixth International Conference on Environmental Management, Engineering, Planning and Economics (CEMEPE 2017) and SECOTOX Conference, 25-30 June 2017, Thessaloniki, Greece.P:54-55. (Oral Presentation).
20. Sevin S., Tutun H., Yarsan E., 2017. Arı Hastalıklarıyla Mücadelede Akıllı Uygulamaların Geliştirilmesi ( Development of Program For Management of Honey Bee Disease). 45th Apimondia International Congress. September 29th - October 4th, 2017, İstanbul. (Oral Presentation).
21. Ceylan A., Özgenç Ö., Erhan F., Sevin S., Yarsan E.,2017. Histochemical Observations of Nosemosis in Honey Bee Midgut. 45th Apimondia International Congress. September 29th - October 4th, 2017, İstanbul.
22. Sevin S., Kara E., Şahal M., Yarsan E., 2017. Helleboms (*Helleborus orientalis*) Toxicosis In Merinos Ram In Ankara-Turkey - A Case Study. 2nd International Conference on Advances in Veterinary Sciences&Technicsis. 4-8 October 2017, Skopje, Macedonia. (Oral Presentation).
23. Bilir E.K., Tutun H., Sevin S., Kısmalı G., Yarsan E., 2017. Cytotoxic Effects Of *Rhododendron Ponticum* L. Extract On Prostat Carcinoma And Adenocarcinoma Cell Line (du145, Pc3). 2nd International Conference on Advances in Veterinary Sciences&Technicsis. 4-8 October 2017, Skopje, Macedonia. (Oral Presentation).
24. Bilir E.K., Sevin S., Tutun H., Kısmalı G., Yarsan E., 2017. Cytotoxic Effects Of The Genus Of *Rhododendron* Flowers Extract On Human Epithelial Colorectal Adenocarcinoma Cell Line (Caco-2). 2nd International Gazi Pharma Symposium Series (GPSS-2017), 11-13 October 2017, Ankara.

25. Mutlu S., Sevin S., Ozturk S., Yarsan E.,2017. Sustainability And Economy 4.0 From Halal Point Of View. 4rd International Halal and Healthy Food Congress, 03-05 November 2017, Ankara.
26. Yurdabakan Z., Sevin S., Yarsan E. The Potential Usage Of Urginea Maritima As A Rodenticide And Preparing For Experimental Studies. IV. International Biocidal Congress. 25-29 March 2018, Antalya.
27. Yipel M., Tekeli İ.O., Sevin S., Yarsan E., 2018. Veterinary Phytotherapy in Cancer Therapy: Popular Medicinal Plants and Classification by Mechanisms or Target Organ/System. 1st International Congress on Environment and Animal Health: Linking Endocrine Disrupters, Epigenetics, Biotechnology for Cancer in Animals. 6-8 April 2018,Ankara.
28. Yarsan E., Sevin S. (2018). Arılarda İlaç Uygulama. İçinde: Veteriner Hekimlikte İlaç Uygulama Yöntemleri. Ed: Yarsan E., Ankara Nobel Tıp Kitap Evi, Ankara,sf: 163-181.