

Araştırma makalesi
Research article

Geliş tarihi: 18 Mayıs 2021

Kabul tarihi: 4 Temmuz 2021

Anahtar kelimeler:

Fare,
Sarı Kantaron Yağı,
Hypericum perforatum,
Tam Katmanlı Deri Yarası,
Yara İyileşmesi

Key words:

Mice,
St. John's Worth,
Hypericum perforatum,
Full thickness skin wound,
Wound healing

Sorumlu yazar:

İbrahim AKIN

Adres:

Aydın Adnan Menderes
Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
Cerrahi Anabilim Dalı, Işıklı,
09100, Aydın, Türkiye

E-posta:

ibraak@adu.edu.tr

ORCID iD

Cansu AKDOĞAN
<https://orcid.org/0000-0001-5442-5117>
Yalçın Alper ÖZTURAN
<https://orcid.org/0000-0003-0589-5686>
Aykut Göktürk ÜNER
<https://orcid.org/0000-0002-9242-8279>
Yılmaz KALKAN
<https://orcid.org/0000-0003-1261-5857>
İbrahim AKIN
<https://orcid.org/0000-0002-4387-7115>

Farelerde Sarı Kantaron
(*Hypericum perforatum*) Yağının
Yara İyileşme Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Investigation of the Effects of St. John's Wort (*Hypericum perforatum*)
Oil on Wound Healing in Mice

Cansu AKDOĞAN¹, Yalçın Alper ÖZTURAN¹, Aykut Göktürk ÜNER²,
Yılmaz KALKAN³, İbrahim AKIN¹

¹ Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye

² Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye,

³ Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Elektrik-Elektronik Mühendisliği Bölümü, Aydın, Türkiye

ÖZ

Amaç: Sarı kantaron otu (*Hypericum perforatum*) yağı geleneksel yara tedavisinde sıkça kullanılan bitkisel ürünlerden biri olsa da kontrollü hayvan deneyleri ile etkisinin daha ayrıntılı incelenmesi gerekmektedir. Çalışmada sarı kantaron yağının farelerde eksizyonel tam katmanlı deri yarası iyileşmesi üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. **Materyal ve Metot:** Bu amaçla 6 haftalık, erkek, 15 adet BALB/c ırkı fare kullanıldı. Fareler, her grupta 5'er adet fare olacak şekilde sarı kantaron yağı, zeytinyağı ve fizyolojik tuzlu su grubu olarak 3 gruba ayrıldı. Genel anestezi altında her farenin sırt derisine eksizyonel tam katmanlı 6 adet deri yarası açıldı. Yaraların iyileşme süreçlerinin takip ve kayıt edilebilmesi için yara bölgelerinden düzenli olarak fotoğraf alındı ve görüntü işleme teknikleri ile yara alanının günlük küçülmesi 3'er gün ara ile izlendi. İyileşen yara dokuları 22. günde ELISA yöntemi ile hidroksiprolin ve total protein düzeyleri ölçüldü. **Bulgular:** Elde edilen veriler ile yapılan istatistiksel çalışmada; gruplar arası yara iyileşme süresi, yara kapanma miktarı, hidroksiprolin ve total protein miktarları arasında istatistiksel olarak fark bulunmadı ($p>0,05$). **Sonuç:** Sonuçlar sarı kantaron otu yağının yara iyileşmesi üzerine olumsuz bir etkisinin olmadığını, ancak yara iyileşmesini hızlandırmadığına da işaret etmektedir.

ABSTRACT

Objective: Although St. wort John's (*Hypericum perforatum*) oil is one of the most commonly used herbal products in traditional wound treatment, its effects should be examined further with controlled animal experiments. This study aimed to investigate the effects of St. John's wort oil on excisional full layer skin wound healing in mice. **Material and Methods:** For this aim, 6-week-old male, 15 BALB / c rats were used. The mice were divided into 3 groups as St. John's wort oil, olive oil, and physiological saline, each group of 5 mice. On the back skin of each mouse, six full-layered excisional skin wounds were created under anesthesia. The wound areas were photographed on a routine basis and the daily shrinkage of the wound area was observed with image processing techniques at three-day intervals in order to track and record the wound healing processes. On the 22nd day, wound tissues were collected and hydroxyproline and total protein levels were determined using an ELISA method. **Results:** The wound healing time, wound closure amount, hydroxyproline, and total protein levels between the groups were not statistically significant ($p>0.05$). **Conclusion:** Based on the present study, St. John's wort oil does not have a negative effect on wound healing, also it does not speed up wound healing.

GİRİŞ

Yara; yumuşak dokuları oluşturan yapıların iç ve dış yüzeyinde herhangi bir kesici, delici, yaralayıcı ve buna benzer cisimler ile normal anatomik durumunda değişiklik oluşması ve doku fonksiyonlarının bozulması olarak tanımlanır.^{1,2} Yara iyileşmesi ise, yara oluşumundan sonra gerçekleşen onarımsal süreçlerin bir bütünü olarak değerlendirilir. Bu iyileşme sürecine lokal ve sistemik faktörler aracılık eder.³ Yara iyileşmesinin başarılı olarak sonlanmasında dokuyu kuvvetlendirip destekleyen kollajendir. Kollajenin yapısındaki temel aminoasitler prolin ve hidroksiprolindir ve özellikle doku kollajeni içeriğindeki hidroksiprolin önemli bir biyobelirteçtir.³⁻⁵ Biyobelirteçler, fizyolojik veya fizyopatolojik bir sürecin göstergesi olarak değerlendirilebilen ve objektif olarak ölçülebilir maddelerdir.⁶

Önemli bir biyobelirteçlerden biri olan total protein miktarı granülasyon dokusunun temel maddesini oluşturur.⁹ Dokudaki proteinler arasında kollajen yara iyileşmesinde büyük önem taşır ve kollajen içeriğindeki hidroksiprolin omurgalı canlıların dokularındaki kollajen miktarının belirlenmesinde sıklıkla kullanılır.^{4,5,10} Ayrıca, doku iyileşmesinde önemli bir değerlendirme kriteri olan doku gerilim kuvveti ile hidroksiprolin miktarı arasında pozitif korelasyon olduğu bildirilmektedir.¹¹ Dokudaki hidroksiprolin konsantrasyonu artışının hücre proliferasyonuna ve yara iyileşmesine hız kazandırdığı bildirilirken, düşük hidroksiprolin konsantrasyonunun ise zayıf bir yara iyileşmesine işaret etmektedir.⁹

Yara iyileşmesinin değerlendirilmesi ve takibi sürecinde spesifik ve objektif kriterler aranmaktadır. Bu amaçla biyobelirteçlerin yara boyutunun ölçülmesini hedefleyen ve çekilen fotoğrafik görüntüleri inceleyen çalışmalarda mevcuttur.^{12,13} Bu çalışmalar yara yüzeyinin alanını, piksel sayısını, hacmini kantitatif verilere dönüştürerek analiz etmeyi ve nesnellığı artırmayı hedeflemektedir. Sarı kantaron bitkisinde (*Hypericum perforatum*) bulunan başlıca aktif bileşenler hiperforin ve hiperisindir.¹⁴⁻¹⁷ Sarı kantaron yağının insan ve hayvanlarda yaralanmalar da dâhil çeşitli kullanım alanları mevcuttur.¹⁸⁻²¹

Sarı kantaron bitkisinin zeytinyağı içerisinde bekletilmesi ile elde edilen sarı kantaron yağının özellikle deri yaralanmalarında kullanılması halk arasında bilinen bir uygulamadır. Sunulan çalışma deneysel olarak oluşturulan deri yaralarında yukarıda bahsedilen biyobelirteçler ve yara alanlarının piksel değişimlerini hesaplayarak sarı kantaron yağının tedavi etkinliğini araştırmayı amaçlamıştır.

MATERYAL ve METOT

Hayvanlar

Bu çalışma, ADÜ-HADYEK'in 13 Haziran 2017 tarih ve 64583101/2017/051 sayılı onayı ile Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesi'nde gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada 6 haftalık yaşta toplam 15 adet erkek BALB/c ırkı fare kullanıldı. Bu fareler her grupta 5'er adet fare olacak şekilde 3 gruba ayrıldı (n=5/grup). Çalışma süresince fareler, her kafeste bir (1) adet fare olacak şekilde bireysel kafesleme yapılarak, uygun aydınlatma (12 saat aydınlık/12 saat karanlık) ve oda ısısı sıcaklığında (22±2°C) barındırıldı. Fareler çalışma sonlandırılana kadar standart fare yemi ile beslendi. Yem ve su ad libitum olarak verildi. Kafeslerin temizlikleri haftalık olarak gerçekleştirildi.

Çalışma Grupları

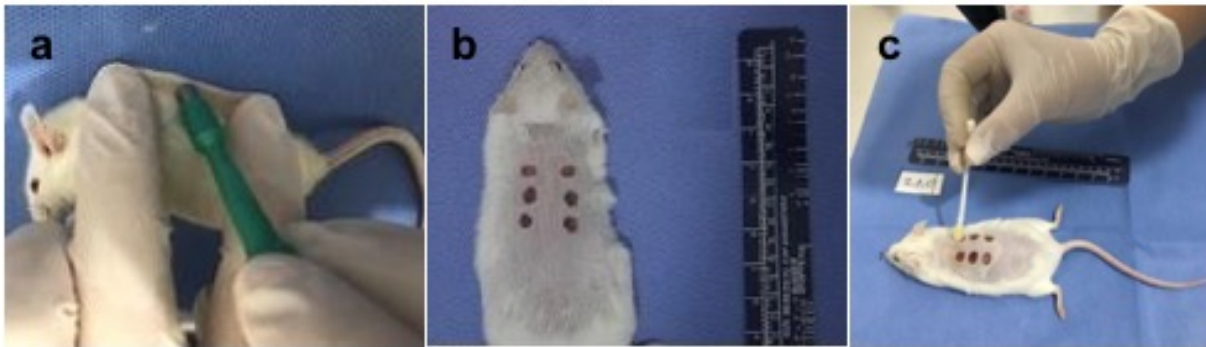
Çalışmada kullanılacak fareler 3 gruba ayrıldı. Grup 1'deki farelerde oluşturulan yaralara sarı kantaron (*Hypericum perforatum*) yağı (Zade Vital®, Konya/Türkiye); Grup 2'deki farelerin yaralarına zeytinyağı (Zade Vital®, Konya/Türkiye); Grup 3'te bulunan farelerin yaralarına ise %0,9'luk izotonik NaCl solüsyonu (Polifarma®, Tekirdağ/Türkiye) uygulandı.

Farelerin Anestezisi

Farelerin anestezisi amacı ile 50mg/kg ketamin HCl (Ketasol®, Interhas, Ankara/Türkiye) ve 10mg/kg ksilazin HCl (Xylazin bio®, Bioveta, Ankara/Türkiye) kombinasyonu kullanıldı. On ml'lik solüsyonun içerisinde 9,1 ml %0,9'luk izotonik NaCl solüsyonu, 0,8 ml ketamin (100 mg/ml) ve 0,1 ml ksilazin HCl (100 mg/ml) karıştırılarak stok solüsyon elde edildi. Hazırlanan bu stok solüsyon, vücut ağırlığının (gram) 10-15 katı olacak şekilde µl olarak intraperitoneal yolla verildi.¹³

Eksizyonel Tam Katmanlı Yaraların Oluşturulması

Eksizyonel tam katmanlı yara oluşturmak amacı ile derin anestezide alınan farelerin sırt bölgesindeki kıllar tıraş makinesi ile tıraş edildi. Bölge %70'lik alkol ile temizlendikten sonra dorsal deri (sırt derisi), kranial ve kaudalde median hattan her iki elin işaret parmağı ve başparmağı aracılığı ile (örneğin sol el ense derisinden ve sağ el sağrı derisinden) tutularak kaldırılarak fareler yan yatırıldı. Kıvrılan sırt derisi sol elin parmakları ile zemin arasına sıkıştırıldı; takiben 5 mm çaplı steril



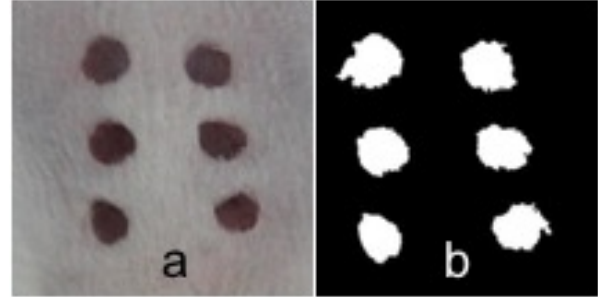
Şekil 1. Çalışmada kullanılan farelerde deri yarası oluşturma aşamaları. a: Parmaklarla derinin gerdirilmesi ve punch biyopsi aletinin uygulanması, b: Oluşturulan yaraların görüntüsü, c: Etken maddenin yaraya uygulanması (Grup 1= sarı kantaron grubu, 1 numaralı fare).

punch biyopsi aleti (Biopsy punch®, Kai medical, Gifu/Japan) sağ ele alındı, birbirine temas etmiş ve yere yaslanmış olan iki deri katmanı tamamen ortadan kaldırılacak şekilde biyopsi aleti zemin doğrultusunda bastırılarak (Şekil 1a) her fareye tam katmanlı 6 adet simetrik deri yarası (Şekil 1b) oluşturuldu.¹³ Gruplardaki tüm yaraların oluşturulma işlem basamakları aynı araştırmacı (C.A.) tarafından yapıldı. Etken Madde Uygulamaları ve Yara İyileşmesinin Takibi Oluşturulan yaralara sürülen etken maddeler aynı araştırmacı (C.A.) tarafından uygulandı. Grup 1'deki farelerin yaralarına sarı kantaron yağı (SK), Grup 2'deki farelerin yaralarına zeytinyağı (ZY), Grup 3'deki farelerin yaralarına ise fizyolojik tuzlu su (FTS) uygulandı. Bu sürme işlemi kulak pamuğu yardımı ile gerçekleştirildi. Her fare için farklı kulak pamuğu kullanıldı. Kulak pamuğunun ucu önce etken maddeye batırıldı ve ardından da farelerin deri yüzeyindeki yaralara tek seferde sürmek suretiyle uygulandı (Şekil 1c). Her bir yara için etken maddeye batırma işlemi tekrar edildi. Bu işlem 22 gün boyunca, günde bir kere olacak şekilde uygulandı. Farelerin genel sağlık durumları ile yaraların iyileşmeleri her gün takip edildi ve klinik olarak değerlendirildi. Üç günde bir olacak şekilde yara alanlarının fotoğrafları çekilerek takibi yapıldı (Şekil 2).

Fotoğraflar Aracılığı ile Yara İyileşmesinin Takibi/Değerlendirmesi

Yaraların iyileşme süreçlerinin takip ve kayıt edilebilmesi için yara bölgeleri düzenli olarak fotoğraflandı ve bu fotoğraflar bilgisayar ortamında depolandı. Bu amaçla Canon® EOS 550D marka ve modelde fotoğraf makinesi kullanılarak her 3 günde bir yara bölgelerinin fotoğrafı çekildi. Fotoğraf çekim işlemi aynı kişi (C.A.) tarafından yapıldı. Çekim sırasında fotoğraf kalitesinin artırılabilmesi ve yara bölgesinin sabitlenebilmesi için fareler izofluran (Isoflurane USP®, Adeka ilaç, İstanbul/Türkiye) ile kısa süreli anestezide alındı. Elde edilen fotoğraflar daha sonra bilgisayar ortamında MATLAB® (Mathworks Inc., Natick, Massachusetts/United States) programı kullanılarak R2015a sürümünde geliştirilen/yazılan bir ara yüz (yazılım) ve görüntü işleme teknikleri ile analiz edilerek her bir fare için yara alanının büyüklükleri hesaplandı. Bu amaçla MATLAB® programının görüntü işleme fonksiyonları ve kütüphaneleri kullanıldı. Geliştirilen programın işlem adımları sırası ile şu şekil gerçekleştirildi: 1- Bilgisayarda kaydedilmiş görüntü programa yüklendi; 2- Yara bölgesi kullanıcı tarafından seçildi; 3- Elde edilen kırılmış resim renk süzgeçlerinden geçirilerek her bir yaralı alan program tarafından algılandı; 4- Renkli olarak kaydedilen resim (Şekil 2a), daha doğru sonuç alabilmek için siyah-beyaz resme dönüştürüldü (Siyah bölge sağlam dokuyu, beyaz bölge ise yara oluşturulmuş dokuyu

göstermektedir, Şekil 2b); 5- Beyaz bölgenin (yara) alanı, beyaz piksellerin sayısı hesaplanarak bulundu; 6- Bulunan ve ekranda gösterilen sonuç bir dosyaya kayıt edildi. Çalışmanın ilk günü (1. gün) tüm farelere ait çekilen fotoğraflar, MATLAB® programı ile görüntü işleme aşamasından geçirildi. Elde edilen yara dokusu alanı verileri (piksel), iyileşme süresi olan 22. gün temel alınarak piksel/gün verisi elde edildi. Böylece yara dokusu alanının günlük ortalama küçülme miktarı piksel cinsinden bulunmuştur (Tablo 2).



Şekil 2. a: Fotoğraf görüntüsünün MATLAB® programı ile işlenmeden önceki hali; b: Fotoğraf görüntüsünün MATLAB® programı ile işlendikten sonraki hali.

Farelerin Ötenazi Prosedürü ve Yara İyileşmesinin ELISA Yöntemi ile Değerlendirmesi

Çalışma sonunda iyileşen yara dokularının değerlendirilmesi amacı ile fareler izofluran (Isoflurane USP®, Adeka ilaç, İstanbul/Türkiye) ile ötenazi edildi. Anestezide bağlı solunumun durmasıyla birlikte servikal dislokasyon işlemi yapılarak ötenazi prosedürü tamamlandı.²² Ötenaziyi takiben iyileşen yara alanı dokuları toplandı.²³ Yara dokularının toplanması işlemi, her seferinde aynı kişi tarafından (C.A.) yapıldı. Her bir fareden toplam 6 adet iyileşen yara alanı dokusu toplandı. Toplama işlemi, iyileşen yara alanı dokusunun 1 mm çevresinden yapıldı ve dokular -70°C'de saklandı. Daha sonra hidrokspirolin [SunRed® Mouse (Hyp) ELISA Kit (Shanghai/China), katalog no: 201-02-0543] ve total protein [ThermoScientific® Pierce BCA Protein Assay Kit (Rockford/USA), katalog no: 23225] düzeylerine üretici firmalar tarafından önerilen protokoller dâhilinde ELISA yöntemi ile bakıldı.^{12,24} Dokular tartıldıktan sonra mekanik homojenizasyon için hazırlıklar gerçekleştirildi. Bu işlem için dokular oda sıcaklığında (22°C) bir neşter ile küçük parçalara kesildi. Daha sonra 10 dakika boyunca 2000 rpm'lik devir hızında mekanik homojenizasyona tabi tutuldu ve eppendorf tüplerine aktarıldı. Eppendorf tüplerindeki homojenatlar tekrar 3000 rpm devir hızında santrifüj edildi. Bu işlemde elde edilen santrifüj katları, total protein ve hidrokspirolin ölçümleri için yeni eppendorf tüplerine aktarıldı. Bu adımlarda kullanılan zaman, sıcaklık, miktar, dalga boyu gibi tüm işlem adımları ve veriler ürün için önerilen prosedürlere göre yapıldı.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel çözümlemede SPSS 22.0 (IBM Corp. Armonk, NY) paket programları kullanılmıştır. Elde edilen verilerin dağılımı Shapiro-Wilk testi, varyansların homojenliği ise Levene testi ile değerlendirildi. Normal dağılım tespit edilmediği ve varyansların homojen olmadığı veriler Kruskal-Wallis testi ile analiz edildi. Farelerden toplanan doku ağırlıklarının normal dağılım göstermesi ve varyansların homojen olduğunun tespiti sonrası One-way ANOVA testi ile tedavi grupları arası farklılıklar analiz edildi. İstatistiksel anlamlılığın tespiti amacı ile $p < 0,05$ anlamlı kabul edildi. Sonuçlar ortalama \pm standart hata (SH) olarak verildi.

BULGULAR

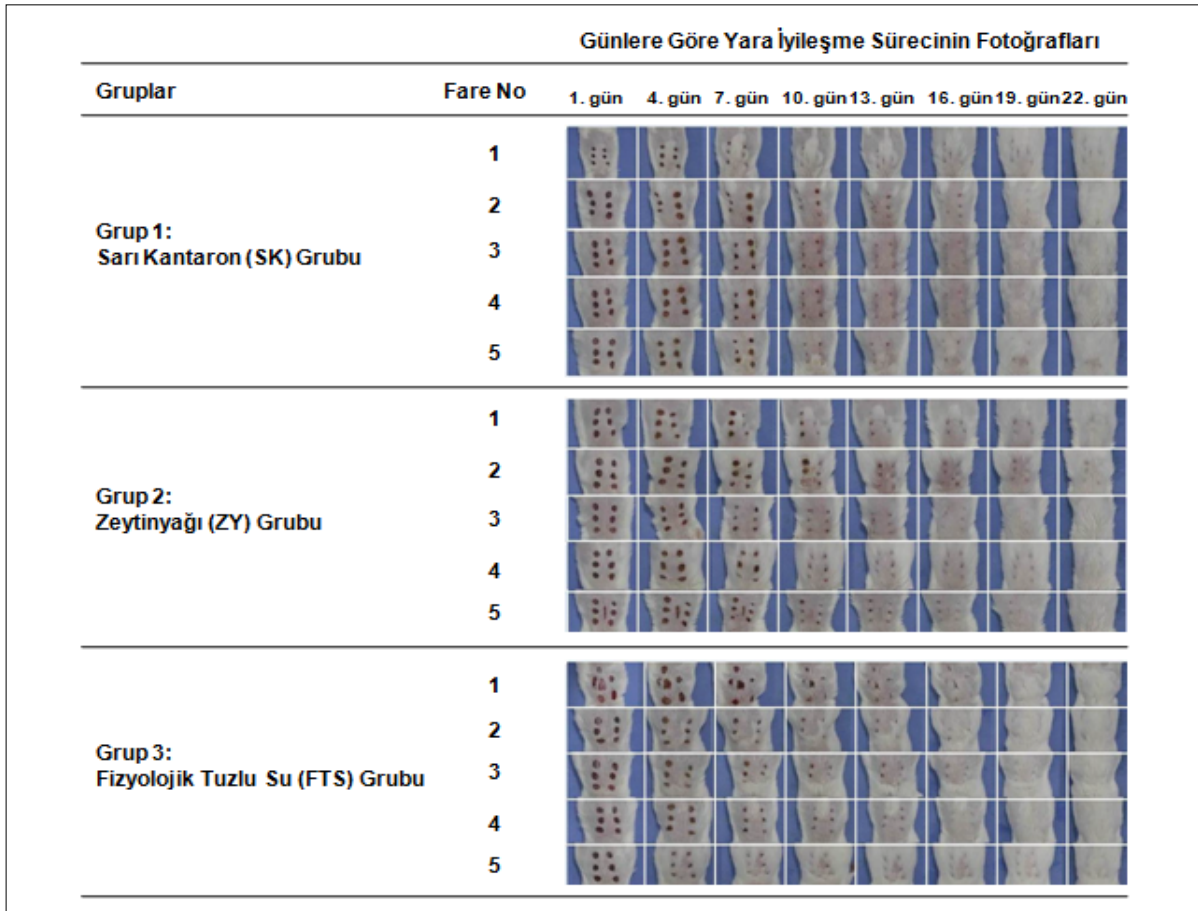
Gruplardaki farelerin iyileşme sürecindeki fotoğraf takipleri Şekil 3'de gösterilmektedir. Çalışma sonunda her bir grubun iyileşen yara dokularına ait doku ağırlık ortalamaları arası istatistiksel bir farklılık ($p > 0,05$) bulunmadı (Tablo 1).

Tablo 1. Gruplardaki her bir fareye ait doku ağırlıkları.

Grup no (Etken madde)	Doku Ağırlığı Ortalama+SH(g)*
1 (Sarı Kantaron)	0,28±0,03
2 (Zeytinyağı)	0,22±0,06
3 (Fizyolojik Tuzlu Su)	0,25±0,02

Yara Alanının Gözlenmesi

Yara alanlarının fotoğraflanması ve MATLAB® yazılım programı ile elde edilen veriler Tablo 2'de sunulmuştur. Birinci gün piksel ölçümlerinde tedavi gruplarının ortalama değerleri arasında (SK: 40291±3548,66; ZYT: 43981±4701,34; FTS: 54606±16872,32) istatistiksel anlamlı bir farklılık ($p > 0,05$) bulunmadı. Yara kapanma günleri açısından tedavi grupları değerlendirildiğinde (SK: 21±0,73; ZYT: 21±0,60; FTS: 20±0,73) istatistiksel bir farklılık ($p > 0,05$) tespit edilmedi. Günlük ortalama küçülme değeri ve yüzdesinin (piksel/gün) tedavi grupları temel alınarak irdelendiğinde, en yüksek oranın FTS grubunda (2766±912,95; 4,97±0,17) olduğu gözlenmekle birlikte, tedavi grupları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p > 0,05$) saptanmadı.

**Şekil 3:** Gruplardaki her bir farenin yara iyileşme süreci fotoğrafları.

Tablo 2. Yara alanı küçülmesi ve kapanması ile ilgili elde edilen bilgiler ile hidrokspirolin ve total protein düzeylerine ait test sonuçları.

Grup No	Yara Alanı Özellikleri (Ortalama±SH)				ELISA Test Sonuçları	
	1. gün (piksel)	Kapanma (gün)	Günlük Küçülme (piksel/gün)	Günlük Küçülme (%)	HP (µg/gram doku)	TP (gr/gram doku)
1 (SK)	40291±3548,66	21±0,73	1957±220,53	4,83±0,17	44,87±8,32	0,07±0,01
2 (ZYT)	43981±4701,34	21±0,60	2039±180,80	4,68±0,14	45,20±12,33	0,08±0,02
3 (FTS)	54606±16872,32	20±0,73	2766±912,95	4,97±0,17	53,66±3,33	0,07±0,01
P Değerleri	0,811	0,459	0,878	0,459	0,827	0,911

Her bir farenin sırtında bulunan 6 adet iyileşen yara dokusunun toplam ağırlığı; her grupta 30, toplamda 90 adet iyileşen yara dokusu. SH: Standart hata.

Yara Dokusundaki Hidrokspirolin ve Total Protein Seviyeleri

Gruplara ait yara dokularındaki ortalama total protein ve hidrokspirolin seviyeleri Tablo 2’de gösterilmektedir.

TARTIŞMA

Yara iyileşmesi ile ilgili yapılan çalışmalarda çeşitli avantajları nedeni ile fareler tercih edilmektedir.²⁵ Sunulan çalışma halk arasında deri yaralanmaları sonrasında yaralanan bölge üzerine sıklıkla sürülerek kullanılan ve evlerde bireysel üretiminin yapıldığı bilinen sarı kantaron yağının farelerin tam katmanlı deri yaralarında iyileşme üzerine etkisini ortaya koymak amacı ile yapıldı. Çalışma başlangıcında yara oluşturma sürecinde tıraş esnasında 2 faredede öngörülemez deri yaraları oluştu. Bu yaraların çalışma amacına uygun yara olmaları ve etik açıdan daha az sayıda farenin ötenazi edilmesi düşünülerek, bu yaralarda açılması planlanan yaralar gibi çalışmaya/analizlere dâhil edildi.

Yaralarda iyileşme, makroskopik veya mikroskopik gözlem olarak incelenebildiği gibi, ELISA metotları ile bazı biyobelirteçlerin düzeylerinin ölçülmesi şeklinde de incelenebilir.^{12,18} Yara iyileşmesinde yara kapanmasının makroskopik incelenmesi önemli kriterlerdendir ve son yıllarda birçok alanda olduğu gibi, bilimsel çalışmalarda da yara boyutlandırılması işleminin bilgisayar ortamında gerçekleştirilmesi, ölçümlerde bireysel hataları önlemek ve farklı avantajlarının geliştirilebilmesi amacı ile önem kazanmıştır.^{26,27} Sunulan çalışmada makroskopik olarak daha objektif veriler elde etmek amacı ile yara kapanmasının takibi fotoğraflar aracılığı ile gerçekleştirilmiştir ve bilgisayar ortamında yara alanı büyüklükleri hesaplanmıştır. Bu amaçla 3 günde bir farelerin fotoğraflarının çekilmesi sureti ile yara takipleri gerçekleştirilmiştir. Yara iyileşmesi belirteçlerinden olan hidrokspirolin, kollajenin temel maddelerinden birisidir ve doku gerilim kuvvetinde

(dayanıklılığında) önemli katkısı vardır.^{10,28} Bu bakımdan, sunulan çalışmada iyileşen yara dokularının kalitesini göstermesi amacı ile total protein ve hidrokspirolin düzeyleri de araştırılmıştır (Tablo 2).

Sarı kantaron bitkisi yağının elde edilmesi sürecinde sarı kantaron bitkisi zeytinyağı içerisinde bir süre bekletilir. Bu durum, yani sarı kantaron yağının zeytinyağı ile karışık olması, iyileşen dokuda zeytinyağının etkisi olabileceği ihtimalini ortaya çıkarmaktadır. Bu nedenle çalışmadaki yaraların iyileşmesinde zeytinyağının etkisinin ayrıştırılabilmesi amacı ile çalışmaya bir adet zeytinyağı grubu (n=5) eklenmiştir. Negatif kontrol grubunu oluşturmak amacı ile de fizyolojik tuzlu suyun yaralara uygulandığı bir grup (n=5) çalışmaya dâhil edilmiştir. Sunulan çalışmanın planlanması aşamasında Aydın ve Antalya illerinde toplam 7 adet aktar ziyaret edilerek sarı kantaron yağının yapımında kullanılan zeytinyağının da satılıp satılmadığı sorulmuş ve “aynı yağın bulunmadığı, bulunmasının da oldukça zor olduğu” bildirilmiştir. İçeriği ve hazırlanmasında standardı olmayan bu ürünlerin kullanılmasının çalışma sonuçlarının güvenilirliğine etki edebileceği düşünülmüştür. Ek olarak bilimsel çalışmalarda tekrarlana bilirliğin önemi de düşünülerek, aktarlarda satılan veya elde/evde üretilmiş sarı kantaron yağlarının kullanımı sunulan çalışmada tercih edilmemiştir. Bunun üzerine, üretiminde standartları olan bir ürün (sarı kantaron yağı ve zeytinyağı) varlığı piyasada araştırıldı ve Zade Vital® (Konya/Türkiye) sarı kantaron yağının çalışmada kullanımı (aynı firmanın zeytinyağının olması ve çalışmada kullanılması da olumlu değerlendirilmiştir) uygun görülerek yaralar üzerine uygulandı. Sunulan çalışmada sarı kantaron ve zeytinyağı grupları ile fizyolojik tuzlu su grubu arasında yara iyileşmesi süresi, yara kapanma miktarı, HP ve TP miktarları arasında istatistiksel olarak fark bulunmadı ($p>0,05$). Çalışmada kullanılan ve aynı firmaya ait sarı kantaron yağı ve zeytinyağının içeriğinde çeşitli doymuş (palmitik asit vb.) ve doymamış (oleik,

palmitoleik vb.) yağ asitleri ile tekli doymamış yağ, çoklu doymamış yağ, doymuş yağ, trans yağ asitleri bulunduğu bilinmektedir. Sunulan çalışma sonuçlarının değerlendirilmesinde bu maddelerin göz önünde bulundurulması önemli olabilir. Ayrıca, farklı firmalara ait veya geleneksel yöntemlerle elde edilen zeytinyağı ve sarı kantaron yağı ile yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar çıkabilir.^{18,19} Zira bu savı bir araştırma konusu olarak ele alan, geleneksel yöntemlerle hazırlanmış sarı kantaron yağı ile fabrikasyon yöntemlerle hazırlanan sarı kantaron yağının yara iyileşmesindeki etkilerini karşılaştıracak ek çalışmalar konu ile ilgili değerli bilgiler sunabilir.

Yara iyileşmesinde hidroksprolin düzeylerinin de takip edildiği bir çalışmada topikal olarak fizyolojik tuzlu su ile tedavi edilen gruptan elde edilen yara dokularındaki hidroksprolin seviyelerinin, diğer bazı gruplara kıyasla daha yüksek olduğu, bu etkinin topikal fizyolojik tuzlu su uygulamasına bağlı olabileceği bildirilmiştir.¹⁰ Sunulan çalışmamızda iyileşen yara dokularında hidroksprolin düzeyleri bakımından fizyolojik tuzlu su grubunun hidroksprolin düzeyi diğer iki gruba göre daha fazla tespit edilmesine rağmen dokulardaki HP düzeyleri arasında (Tablo 2) istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Sunulan çalışmada hidroksprolin düzeylerinin üç grupta da farklı çıkmaması, benzer bir çalışmada, benzer şekilde topikal uygulanan fizyolojik tuzlu suyun iyileşen deri yarası dokusunda hidroksprolin düzeyini etkileyebileceği yönünde bir düşünceye yol açabileceği gibi, zeytinyağı ve sarı kantaronun hidroksprolin düzeyleri üzerine etkisi olmadığı şeklinde de yorumlanabilir.¹⁰ Başka bir çalışmada yara iyileşme sürecinde hidroksprolinin en yüksek seviyeye 5. günde ulaştığı bildirilmiştir.²⁸ Çalışmamızda, oluşturulan tam katmanlı deri yaraları klinik olarak iyileştikten sonra hidroksprolin düzeylerinin incelenmesini amaçlamıştır. Bu nedenle sunulan çalışmada yara iyileşme sürecinde belirlenebilecek hidroksprolin düzeyi farklılıkları tespit edilememiş olabilir. Çalışma grupları arasında istatistiksel fark olmamasına ($p>0,05$) rağmen, sarı kantaron yağı grubu ve zeytinyağı grubunda tespit edilen hidroksprolin düzeylerinin fizyolojik tuzlu su grubundan düşük olması, hidroksprolin düzeyleri üzerinde ilk iki grupta ortak madde olan zeytinyağının etkisinin olabileceğini düşündürmüştür. Bu bağlamda zeytinyağı kalitesinin yara iyileşmesi, total protein ve hidroksprolin düzeyleri üzerinde etkisi olabileceği düşünülmüştür. Zeytinyağının kalitesi (içeriği, asitliği, peroksit değeri vb.) birçok faktöre bağlıdır.²⁹ Ülkemizde 2017 yılında yapılan bir çalışmada piyasadan toplanan yedi adet zeytinyağı örneği incelenmiş ve örneklerin asitlik ve peroksit değerleri bakımından standart dışı olarak değerlendirildiği bildirilmiştir.³⁰ Sunulan çalışmada kullanılan zeytinyağı ve sarı kantaron yağının kalitesi/asitlik ve peroksit değerleri incelenmedi. Bu

nedenle, sarı kantaron ve zeytinyağı gruplarında zeytinyağı kalitesinin yara iyileşmesi üzerine etkisi irdelenemedi ve çalışmamızın kısıtlayıcı bir yönü olarak değerlendirildi. İçeriğinde zeytinyağı bulunan etken maddeler ile yapılması planlanan tam katmanlı deri yarası çalışmalarında zeytinyağı kalite faktörlerinin dikkate alınması önerilebilir.

Sonuç olarak, sunulan çalışmada gruplar arasında fark bulunmaması, çalışmada kullanılan sarı kantaron yağının BALB/c farelerin sırtında oluşturulan tam katmanlı deri yaralarının iyileşen dokularındaki total protein ve hidroksprolin düzeyleri üzerine olumlu ya da olumsuz bir etkisi olmadığı şeklinde yorumlanabilir. Bununla birlikte, tartışma bölümünde değindiğimiz konular (farklı firmalara ait olan ve/veya geleneksel yöntemler ile evde yapılan zeytinyağı ve farklı miktarlarda sarı kantaron bitkisi kullanılarak elde edilen sarı kantaron yağlarının kullanılması, hayvan türü ve dokuya göre farklı sonuçlar elde edilebileceği, kullanılan etken maddenin asitliği vb.) dikkate alınarak yapılacak spesifik çalışmalarda farklı sonuçlar ortaya çıkabilir.

Teşekkür

Bu çalışmanın bir kısmı Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir (ADU BAP VTF-17062). Bu çalışma, ADÜ-HADYEK'in 13 Haziran 2017 tarih ve 64583101/2017/051 sayılı onayı ile Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesinde gerçekleştirilmiştir. Sunulan çalışma "Diyabetli farelerde sarı kantaron (*Hypericum perforatum*) ve çörek otu (*Nigella sativa*) yağının yara iyileşmesi üzerine etkilerinin görüntü işleme tekniği ile araştırılması" isimli proje çalışmasından (ADU BAP VTF-17062) üretilmiş ve birinci yazarın (Cansu Akdoğan) tez çalışmasından (Farelerde sarı kantaron (*Hypericum perforatum*) yağının deri yarası iyileşmesi üzerine etkilerinin araştırılması) özetlenmiştir. Yazarlar, sunulan çalışmaya yaptıkları değerli katkılar için, Murat Sarierler, Nuh Kılıç, Nihal Yaşar Gül Satar ve Göksen Çeçen Ayalp'e teşekkür eder.

KAYNAKLAR

1. Karasu A., Bakır B.: Yara ve yara iyileşmesi. Veteriner Cerrahi Dergisi 2008, 14(1): 36-43.
2. Yanık K.: Veteriner Genel Cerrahi, Medipres Matbaacılık, Ankara, 2012, sayfa: 301-332.
3. Behm B., Babilas P., Landthaler M., Schreml S. Cytokines, chemokines and growth factors in wound healing. J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. 2012, (26): 812-820.
4. Nayak S. B., Sandiford S., Maxwell A.: Evaluation of the wound-healing activity of ethanolic extract of *Morina citrifolia* L. leaf. Evid. Based Complement. Alternat. Med. 2009, 6(3): 351-356.
5. Bekem A., Ünal A., Aydın H., Tüzün İ. S., Karşıdağ T.: Deri iyileşmesinin mekanik olarak incelenmesi. SDÜ-JESD. 2014, 2(3): 141-145.

6. Lindley L. E., Stojadinovic O., Partar I., Tomic-Canic M.: Biology and biomarkers for wound healing. *Plast. Reconstr Surg.* 2016, 138(3): 18-28.
7. Gurtner G. C., Werner S., Barrandon Y., Longaker M. T.: Wound repair and regeneration. *Nature* 2008, 453(7193): 314-21.
8. Balsa I. M., Culp W. T.: Wound care. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 2015, 45(5): 1049-1065.
9. Honnegowda T. M., Kumar P., Udupa P., Rao P., Bhandary S., Mahato K. K., Sharan A., Mayya S. S.: Effect of limited access dressing on hydroxyproline and enzymatic antioxidant status in non healing chronic ulcers. *Indian J. Plast. Surg.* 2014, 47(2): 216-220.
10. Shukla A., Rasik A. M., Jain G. K., Shankar R., Kulshrestha D. K., Dhawan B. N.: In vitro and in vivo wound healing activity of asiaticoside isolated from *Centella asiatica*. *J. Ethnopharmacol.* 1999, 65(1): 1-11.
11. Nagelschmidt M., Struck H.: Hydroxyproline fractions in serum and urine of rats during wound healing. *Res. Exp. Med.* 1977, 170(3): 211-215.
12. Lin T. S., AbdLatiff A., Abd Hamid N. A., WaNgah W. Z., Mazlan M.: Evaluation of topical tocopherol cream on cutaneous wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2012, (2012): 491027.
13. Moreira C.F., Cassini-Vieira P., da Silva M. F., da Silva Barcelos L.: Skin wound healing model-excisional wounding and assessment of lesion area. *J. Immunol.* 2015, 22(5).
14. Bombardelli, E., Morazzoni P.: *Hypericum perforatum*. *Fitoterapia* 1995, (66): 43-68.
15. Bruneton, J.: *Pharmacognosy, Phytochemistry and Medicinal Plants*, Lavoisier Publishing, Paris, 1995, sayfa: 265.
16. Barnes J., Anderson L. A., Phillipson. J. D.: St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.): A review of its chemistry, pharmacology and clinical properties. *J. Pharm. Pharmacol.* 2001, 53(5): 583-600.
17. Fu P., Zhang W. D., Liu R. H., Li T. Z., Shen Y. H., Li H. L., Chen H. S.: Two new xanthenes from *Hypericum japonicum*. *Nat. Prod. Res.* 2006, 20(13): 1237-1240.
18. Mukherjee P. K., Verpoorte R., Suresh B.: Evaluation of in-vivo wound healing activity of *Hypericum patulum* (Family: Hypericaceae) leaf extract on different wound model in rats. *J. Ethnopharmacol.* 2000, 70(3): 315-321.
19. Hemmati A. A., Rashidi I., Jafari M.: Promotion of wound healing by *Hypericum perforatum* extract in rabbit. *Jundishapur J. Nat. Pharm. Prod.* 2007, 2(2): 78-86.
20. Greeson J. M., Sanford B., Monti D. A.: St. John's wort (*Hypericum perforatum*): A review of the current pharmacological, toxicological, and clinical literature. *Psychopharmacology.* 2001, 153(4): 402-414.
21. Crockett S. L., Robson N. K.: Taxonomy and chemotaxonomy of the Genus *Hypericum*. *Med. Aromat. Plant Sci. Biotechnol.* 2011, 5(1): 1-13.
22. Buitrago S., Martin T. E., Tetens-Woodring J., Belicha-Villaneueva A., Wilding G. E.: Safety and efficacy of various combinations of injectable anesthetics in BALB/c mice. *J AALAS* 2008, (47): 11-17.
23. Liu X., Wang Z., Wang R., Zhao F., Shi P., Jiang Y., Pang X.: Direct comparison of the potency of human mesenchymal stem cells derived from amnion tissue, bone marrow and adipose tissue at inducing dermal fibroblast responses to cutaneous wounds. *Int. J. Mol. Med.* 2013, 31(2): 407-415.
24. Teoh S. L., Latiff A. A., Das S.: The effect of topical extract of *Momordica charantia* (bitter melon) on wound healing in non diabetic rats and in rats with diabetes induced by streptozotocin. *Clin. Exp. Dermatol.* 2009, 34(7): 815-822.
25. Zomer H. D., Trentin A. G.: Skin wound healing in humans and mice: Challenges in translational research. *J. Dermatol. Sci.* 2018, 90(1): 3-12.
26. Gupta A., Kumar P.: Assessment of the histological state of the healing wound. *Plast. Aesthet. Res.* 2015, 2(5): 239-239.
27. Lucas Y., Niri R., Treuillet S., Douzi H., Castaneda B.: Wound Size Imaging: Ready for Smart Assessment and Monitoring. *Adv. Wound Care.* 2021, 10(11):641-661.
28. Kaplan B., Gönül B., Dinçer S., Dinçer Kaya F. N., Babül A.: Relationship between tensile strength, ascorbic acid, hydroxyproline, and zinc levels of rabbit full-thickness incision wound healing. *Surg. Today.* 2004, 34(9): 747-751.
29. Conte, M. S., Bradbury, A. W., Kolh, P., White, J. V., Dick, F., Fitridge, R., Mills J. L., Ricco B. J., Suresh K. R., Murad M. H., Diamant, M.: Global vascular guidelines on the management of chronic limb-threatening ischemia. *J. Vasc. Surg.* 2019, 69(6): 3-125.
30. Hepsağ F.: Geleneksel Yöntemlerle Osmaniye İlinde Üretilen Zeytinyağlarının Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi. *ADYÜTAYAM* 2020, 8(1): 1-9.