



**T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK CERRAHİSİ
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

**ROSMARİNİK ASİDİN YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**ABDULSAMET BİLGİÇ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Büşra KİBAR**

AYDIN – 2026

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK CERRAHİSİ
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
YL-2026-0040

ROSMARİNİK ASİDİN YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ABDULSAMET BİLGİÇ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Büşra KİBAR

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-24040 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2026

KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veterinerlik Cerrahisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Abdulsamet Bilgiç tarafından hazırlanan “Rosmarinik Asidin Yara İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:.../.../.....

Üye (T.D.): Doç. Dr. Büşra KİBAR Aydın Adnan Menderes
Üniversitesi
Üye : Doç. Dr. Sıtkıcan OKUR Atatürk Üniversitesi
Üye : Dr. Öğr. Üye. Zeynep CENGİZ Aydın Adnan Menderes
Üniversitesi

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün tarih ve sayılı oturumunda alınan nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK
Enstitü Müdürü V

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim ve tez çalışma sürecim boyunca yol gösterici, sabırlı, anlayışlı tutumunun yanında mesleki olarak da gelişimime katkılar sağlayan, öğrencisi olmaktan onur ve gurur duyduğum, mesleğimizin kutup yıldızı pek kıymetli danışmanım Doç. Dr. Büşra KİBAR'a bana ve bu tez çalışmasına sağladığı bütün katkılardan dolayı saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tanıdığım ilk günden bu yana duruşuna, düşüncelerine ve davranışlarına hayran kaldığım, hassas noktalardaki inceliği ve sebatkâr oluşuyla bana hem insani hemde mesleki olarak her daim ilham kaynağı ve rehber olan saygıdeğer ve sevgili hocam Prof. Dr. Ali BELGE'ye gönülden teşekkürlerimi sunarım.

Çalışma prensipleri ve teknikleriyle bana profesyonellik kazandıran, ameliyat ortamındaki tutumlarıyla bana mesleğimi sevdiren,beraber çalışmaktan keyif aldığım, bilgi ve tecrübelerine danışmaktan asla çekinmeyeceğim sevgili hocalarım Prof. Dr. İbrahim AKIN'a, Doç. Dr. Rahime YAYGINGÜL'e, Doç. Dr. Zeynep BOZKAN ÜNAL'a ve Dr. Öğr. Üye. Zeynep CENGİZ'e en içten duygularıyla saygı ve sevgilerimi sunarım.

Mesleğine olan tutkusu, güler yüzlü, yardımsever ve samimi oluşunun yanısıra mesleki becerilerimin gelişmesinde özel katkısı olan, tez çalışma sürecimde ihtiyacım olan her konuda yanımda olup desteklerini her anlamda hissettiren pek kıymetli sevgili ağabeyim ve meslek büyüğüm Dr. Öğr. Gör. Eser ÇAKMAKÇI' ya özel olarak teşekkür ederim.

Varlığıyla çevresindekilere huzur veren, kadirşinas, arif, hemraz ve hemrah olan, davranışlarında vicdanına kulak veren, karıncayı incitmeyecek pamuk gibi bir yüreğe sahip olan ve şecaat sahibi cerrahi bilim uzmanı Vet. Hek. Bilal BAYIR' a tanıştığımız günden bu yana iyi günlerde ve kötü günlerde her zaman yanımda olduğu için ve beni kendine dost bildiği için gönülden sevgilerimi ve şükranlarımı sunarım.

Her zaman akla ve mantığa kulak veren, vefalı, halim, kalender, râsih, aleyhinde olsa bile doğruyu söyleyen ve tercih eden onurlu bir yüreğe sahip olan pek kıymetli cerrahi bilimi uzmanı Vet. Hek. Uğur ÇAKIR'a beraber çalıştığımız süre boyunca her daim yanımda olduğundan ve bana kattığı şeylerden dolayı gönülden sevgilerimi ve şükranlarımı sunarım.

Kaderin özel olarak bir araya getirdiği çok değerli, çalışkan, vefalı, bilgili, donanımlı, eğlenceli ve güzel bağlar kuran, geleceğin alanında uzman cerrahları, birbirinden özel arkadaşlarım ve dostlarım; sâkit ve münferit hasletleri olan Vet. Hek. Yahya Muhammed SARIŞEN'e, her konuda muvazeneli ve pür-neşeli Vet. Hek. Simge Nur ÇAYIRTEPE'ye, erkin ve esrik ruhlu olan Vet. Hek. İlayda SİEL'e, sâmit ve muhtasar kişilikli Vet. Hek. Cemre DEREKÖYLÜ'ye lisansüstü eğitimim ve tez çalışma sürecim boyunca yanımda olup bu yolculuğumu keyifli ve anlamlı kıldıkları için teşekkür ederim.

Çalışmamın ilk zorlu ve yorucu günlerinde bana yardımcı olup omzumdaki yükü paylaşarak işlerimi kolaylaştıran ve hafifleten, birlikte çalıştığımız zamanlardan keyif aldığım, alanlarında uzman meslektaşlarım; ruhi mevsimi hep ilkbahar ve diğerkâm olan Dr. Ahmet GÜRSEL'e, muazzez ve mürşide Arş. Gör. Ezgi Sude AYBAK'a işinde metodik hayatında coşkulu olan Dr. Vet. Hek. Aylin ATEŞ'e, musannif ve gözü pek Vet. Hek. Berfin PETEK'e tez çalışma sürecimdeki yardımları için ayrıca teşekkür ederim.

Şimdiye kadar attığım her adımın altında olduğu gibi, bu tez çalışmamda da kendi adımlarımdan vazgeçen, güneş gibi parlayan iki koca yüreğin izi var. Annem, Rahime BİLGİÇ ... Dünyanın tüm badirelerine karşı beni bağrında büyüten şefkat limanım, dualarıyla karanlığımı aydınlatanım. Babam, Şefik BİLGİÇ ... Varlığına sırtımı dayadığım, gölgesinde huzur bulduğum asil sarsılmaz dağım. Sizler bana sadece hayatı vermediniz, kişilikleriniz ve eşsiz ruhlarınız ile insana ve insanlığa dair ne kadar özel ve güzel şey varsa bana siz öğrettiniz. Ömrünüzden ömrüme kattığınız her bir zerre için, saçlarınıza düşen her bir ak, alınınıza kazınan her bir çizgi için size minnettarım. İyi ki benim annem ve babamsınız. Hakkınızı ödemeye ömrüm yetmez... Bana inandığımız, beni her halimle sardığımız, karşılıksız sevginin ne demek olduğunu hayatınızla kanıtladığınız ve bu tez çalışmamda bana her zamanki gibi destek olduğunuz için size sonsuz teşekkür ederim.

Tez çalışmamama VTF-24040 numaralı proje ile sağladığı maddi kaynaklarından dolayı Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
RESİMLER DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ.....	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Deri (Kutis).....	3
2.1.1. Epidermis.....	3
2.1.2. Dermis	4
2.1.3. Hipodermis	4
2.2. Yara ve Yara İyileşmesi	5
2.2.1. Yara İyileşme Fazları.....	5
2.2.1.1. Hemostaz	5
2.2.1.2. İnflamasyon	6
2.2.1.3. Proliferasyon.....	8
2.2.1.4. Remodelizasyon (Yeniden Şekillenme)	8
2.3. Yaraların Sınıflandırılması	9
2.3.1. Oluş Zamanına Göre Yaralar.....	9
2.3.2. Deri Bütünlüğüne Göre Yaralar	9
2.3.3. Enfekte Olma Durumuna Göre Yaralar.....	10
2.4. Yara İyileşmesinin Sınıflandırılması.....	10
2.4.1 Birincil İyileşme	10
2.4.2. İkincil İyileşme	10

2.4.3. Üçüncül İyileşme.....	11
2.5. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler.....	11
2.5.1. Lokal Faktörler	12
2.5.1.1. Oksijenizasyon	12
2.5.1.2. Enfeksiyon.....	12
2.5.1.3. Yabancı Cisim	13
2.5.1.4. Biyofilm Tabakası	13
2.5.2. Sistemik Faktörler	13
2.5.2.1. Yaş.....	13
2.5.2.2. Beslenme	14
2.5.2.3. Stres	15
2.5.2.4. Obezite.....	15
2.6. Rosmarinik Asit.....	16
2.7. Kitosan.....	17
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	18
3.1. Materyal.....	18
3.1.1. Hayvan Materyali	18
3.1.2. Rosmarinik Asit.....	19
3.1.3. Kitosan.....	19
3.2. Yöntem	19
3.2.1. Deneysel Çalışma ve Grupların Belirlenmesi	19
3.2.2. Hayvanların Anestezisi ve Yara Oluşturma	22
3.2.3. Yara Boyutunun Ölçülmesi	22
3.2.4. Histopatolojik Muayene	22
3.2.5. İstatistiksel Değerlendirme	23
4. BULGULAR	24
4.1. Klinik Bulgular	24
4.2. Yara İyileşmesinin Değerlendirilmesi.....	24
4.3. Histopatolojik Bulgular	28
5. TARTIŞMA.....	34
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	44

KAYNAKLAR.....	46
EKLER	56
Ek 1. Etik Kurul Formu	56
BİLİMSEL ETİK BEYANI	57
ÖZ GEÇMİŞ.....	58

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ATP	: Adenozin trifosfat
CK14	: Sitokeratin 14
ESM	: Ekstraselüler matriks
GAG	: Glikozaminoglikanlar
GLM	: Genel lineer model
GSH	: Glutasyon
H&E	: Hematoksilen-eozin
HIF-1	: Hipoksiye indüklenbilir faktör-1
HPA	: Hipotalamus-hipofiz-adrenal
İP	: İntraperitoneal
MDA	: Malondialdehit
MMP	: Metalloproteinazlar
PDGF	: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
RA	: Rosmarinik asit
ROS	: Reaktif oksijen türleri
TGF-β	: Transforme edici büyüme faktörü-beta
TIMP	: Metalloproteinaz inhibitörleri
TxA2	: Tromboxan A2
UV	: Ultraviyole
VEGF	: Vasküler endotelial büyüme faktörü
vWF	: Willebrand faktörü
XII	: Faktör XII (Hageman faktörü)
XIII	: Faktör XIII (fibrin stabilize edici faktör)

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Derinin hazırlanması.....	20
Resim 2. Deride punch biyopsi aleti ile tam katmanlı yaraların oluşturulması.	20
Resim 3. Ratların sırtında iki adet yara oluşturulması.	21
Resim 4. Grupların oluşturulması.	21
Resim 5. Gruplarda yaranın klinik görünümü.....	25
Resim 6. Defekt alanında ülser. Ülser yüzeyi nötrofil lökositlerden zengin eksudatla örtüldüğü görülmekte.....	28
Resim 7. Ülserin tabanında dermiste ödem, damarlarda hiperemi ve orta düzeyde nötrofil lökosit ve makrofaj infiltrasyonları görülmekte.....	28
Resim 8. Defekt alanında ülser. Ülser yüzeyi nötrofil lökositlerden zengin eksudatla örtüldüğü görülmekte.....	29
Resim 9. Ülserin komşuluğundaki dermiste yangısal hücre infiltrasyonları ile birlikte fibroblast sayısında artış görülmekte.	29
Resim 10. Defekt alanında ülser. Ülser yüzeyi nötrofil lökositlerden zengin eksudatla örtüldüğü görülmekte.....	30
Resim 11. Ülserin tabanında dermiste hafif düzeyde yangısal hücre infiltrasyonu ve fibroblast proliferasyonu görülmekte.....	30
Resim 12. Defekt alanında ülser. Ülser yüzeyinin eksudatla örtüldüğü, tabanında ise granülasyon dokusunun şekillendiği görülmekte.....	31
Resim 13. Ülser tabanında fibroblast proliferasyonu, yeni damar oluşumları ve az sayıda yangı hücrelerinden oluşan granülasyon dokusu görülmekte.	31
Resim 14. Ülserin yüzeyi eksudatla örtüldüğü, tabanında ise granülasyon dokusunun şekillendiği görülmekte.....	32
Resim 15. Ülser tabanında granülasyon dokusu görülmekte.....	32
Resim 16. Defekt alanında ülser. Ülser yüzeyinin eksudatla örtüldüğü, tabanında ise granülasyon dokusunun şekillendiği görülmekte.....	33
Resim 17. Ülser tabanında granülasyon dokusu görülmekte.....	33

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. RAC, C ve K gruplarında 0., 24., 48., 60., 72., 96. ve 120. saatlerde ölçülen yara alanı değerlerinin zamana bağlı değişimi. Veriler ortalama \pm standart sapma (Mean \pm SD) olarak sunulmuştur.26

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1. Güç analizi testi verileri.....	18
Tablo 2. Gruplarda yara alanı ölçümlerinin zamana göre değişimi (mm ²) (ortalama ± SS). Büyük harfler (A–G): Aynı grup içinde zamanlar arası karşılaştırmayı gösterir (Friedman + Wilcoxon-Holm post-hoc). Küçük harfler (a,b,c): Aynı zaman noktasında gruplar arası karşılaştırmayı gösterir (Kruskal-Wallis + Dunn-Bonferroni post-hoc). Aynı harfi paylaşan değerler arasında fark yoktur (p>0.05). Farklı harf taşıyan değerler arasında anlamlı fark vardır (p<0.05). Son sütundaki p değeri ilgili grubun zamana bağlı değişiminin genel Friedman test sonucudur. En alttaki satır her zaman noktası için gruplar arası genel p değerini gösterir.	26

ÖZET

ROSMARİNİK ASİDİN YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

**Bilgiç A. Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veterinerlik Cerrahisi
Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2026.**

Amaç: Bu araştırma, rosmarinik asit ve kitosanın belirli formülasyonla bir araya getirilerek ortaya çıkan biyoaktif bir kompozit sistem olan jel formunun yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini incelemeyi amaçlamaktadır.

Gereç ve Yöntem: Materyali Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları biriminden temin edilmiş 20–24 haftalık 210-380 g ağırlığında Sprague Dawley ırkı 27 dişi rat oluşturmuştur. Her bir ratın sırt bölgesinde iki adet tam katlı yara oluşturulmuş toplam 54 yara incelenmiştir. Yara iyileşmesinin fizyolojik süreci göz önünde bulundurularak çalışma süresi 6 gün olarak belirlendi. Deney hayvanları üç gruba ayrıldı. Birinci grupta sol yara bölgesine rosmarinik asit – kitosan karışımı (RAC), sağ yara bölgesine kitosan uygulandı. İkinci grupta sol yara bölgesine RAC uygulanırken sağ yara kontrol olarak bırakıldı. Üçüncü grupta sol yara bölgesine kitosan uygulanırken sağ yara kontrol olarak bırakıldı. Tüm ratlar, 10 mg/kg ksilazin ve 70 mg/kg ketamin kombinasyonu ile intraperitoneal (İP) yolla genel anestezi altına alındı. Anestezi sonrası sırt bölgesi tıraş edilerek aseptik koşullar altında hazırlandı ve 6 mm çaplı punch biyopsi aleti kullanılarak tam kat simetrik yaralar oluşturuldu. Deri büzülmesine bağlı ölçüm hatalarını önlemek amacıyla yara çevresine sabitleyici süturlar atıldı. Yara alanlarının, oluşturulduğu andan itibaren belirlenen zamanlarda fotoğrafları çekildi. Elde edilen görüntüler ImageJ programına aktarıldı ve yara alanları poligon yöntemi ile ölçülerek mm² cinsinden kaydedildi. Histopatolojik değerlendirme amacıyla, deneyin 3. ve 6. gününde yara bölgelerinden alınan deri örnekleri formaldehit ile fikse edilerek parafine gömüldü, 4–5 µm kalınlığında kesitler hazırlanarak Hematoksilen-eozin (H&E) ile boyandı ve ışık mikroskopunda incelendi. İstatistiksel analizlerde, gruplar arası ve zamana bağlı değişimlerin değerlendirilmesi amacıyla tekrarlı ölçümlerde varyans

analizi kullanıldı; normal dağılım ve küresellik varsayımları ilgili testlerle doğrulandı ve anlamlı farklılıklar için post-hoc analizler uygulandı.

Bulgular: Yara bölgelerinde erken dönemde minimal eritem (kızarıklık) ve ödem saptanmış olup, bu bulgular yara iyileşmesinin fizyolojik inflamatuvar evresi ile uyumlu değerlendirilmiştir. Topikal uygulamalar süresince hiçbir deney hayvanında belirgin rahatsızlık, ağrı veya ciddi komplikasyona işaret eden davranışsal değişiklikler gözlenmemiştir. Makroskobik değerlendirmelerde, yara iyileşmesinin inflamatuvar ve proliferatif evrelerinde gruplar arasında belirgin farklılıklar ortaya çıkmıştır. Kontrol grubunda yara bölgesinde eksüdasyon (akıntı), renk değişiklikleri ve yara alanında genişleme gözlenmiştir. Kitosan uygulanan grupta sınırlı kontraksiyon (büzülme) ve ilerleyen dönemde kapanma hızında azalma belirlenmiştir. RAC uygulanan grupta ise enfeksiyon veya belirgin eksüdasyon bulgularına rastlanmamış; granülasyon dokusunun erken ve düzenli oluşumu ile birlikte çalışmanın 2. gününden itibaren yara alanlarının daha hızlı kapanma eğilimi gösterdiği belirlenmiştir.

Sonuç: Rosmarinik asitin yara iyileşmesini hızlandırdığı ve iyileşme evrelerini olumlu etkilediği gözlemlenmiştir. Yara iyileşmesinde jel kullanımının umut vadeden bir tedavi seçeneği olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Biberiye, Biyopolimer, Kitin, Yenilenme

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF ROSMARINIC

ACID ON WOUND HEALING

Bilgiç A. Aydın Adnan Menderes University, Institute of Health Sciences, Department of Veterinary Surgery, Master's Thesis, Aydın, 2026.

Objective: This study aimed to investigate the effects of a bioactive composite gel system, formed by combining rosmarinic acid and chitosan in a specific formulation, on wound healing.

Materials and Methods: The study material consisted of twenty-seven female Sprague Dawley rats, aged 20–24 weeks and weighing between 210–380 g, obtained from the Experimental Animal Unit of Aydın Adnan Menderes University Faculty of Veterinary Medicine. Two full-thickness wounds were created on the dorsal region of each rat, resulting in a total of 54 wounds examined. Considering the physiological process of wound healing, the study duration was determined as 6 days. The experimental animals were divided into three groups. In the first group, rosmarinic acid – chitosan mixture (RAC) was applied to the left wound area, while chitosan was applied to the right wound area. In the second group, RAC gel was applied to the left wound area, and the right wound area was left untreated as the control. In the third group, chitosan was applied to the left wound area, while the right wound area served as the control. All rats were anesthetized intraperitoneally (IP) with a combination of 10 mg/kg xylazine and 70 mg/kg ketamine. Following anesthesia, the dorsal area was shaved and prepared under aseptic conditions, and symmetrical full-thickness wounds were created using a 6 mm punch biopsy instrument. To prevent measurement errors caused by skin contraction, fixation sutures were placed around the wound margins. Photographs of the wound areas were taken immediately after wound creation and at predetermined time points. The obtained images were transferred to the ImageJ software, and wound areas were measured using the polygon method and recorded in mm². For histopathological evaluation, skin samples collected from the wound regions on days 3 and 6 were fixed in formaldehyde, embedded

in paraffin, sectioned at 4–5 μm thickness, stained with Hematoxylin–Eosin (H&E), and examined under a light microscope. Statistical analyses were performed using repeated measures analysis of variance to evaluate intergroup and time-dependent changes; assumptions of normal distribution and sphericity were verified with appropriate tests, and post-hoc analyses were conducted to determine significant differences.

Results: Minimal erythema and edema were observed in the wound areas during the early period, which were considered consistent with the physiological inflammatory phase of wound healing. Throughout the topical treatment period, no behavioral changes indicating significant discomfort, pain, or severe complications were observed in any experimental animal. Macroscopic evaluations revealed distinct differences among the groups during the inflammatory and proliferative phases of wound healing. In the control group, exudation, discoloration, and enlargement of the wound area were observed. In the chitosan gel-treated group, limited wound contraction and a decrease in closure rate during the later stages were identified. In contrast, no signs of infection or significant exudation were detected in the RAC gel-treated group; furthermore, early and organized granulation tissue formation was observed, and wound areas showed a tendency for faster closure beginning from the second day of the study.

Conclusion: Rosmarinic acid was observed to accelerate wound healing and positively influence the stages of the healing process. The use of rosmarinic acid in gel form may represent a promising therapeutic option for wound healing.

Keywords: Rosemary, Biopolymer, Chitin, Regeneration

1. GİRİŞ

Vücudun en büyük organı olan kutis (deri), dış çevreyle doğrudan temas halinde olup, altta bulunan doku ve organları mekanik, kimyasal, biyolojik ve fiziksel zararlı etkenlere karşı koruyarak bir bariyer görevi görmektedir (Han, 2023). Epidermis, dermis ve hipodermis (subkutan doku) olmak üzere üç temel katmandan oluşur. Bu kompleks yapı, aynı zamanda termoregülasyon, duyu algısı, immünolojik yanıtlar ve D vitamini sentezi gibi çeşitli fizyolojik süreçlerde kritik rol oynamaktadır. Derinin yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünün korunması, organizmanın homeostazı için hayati öneme sahiptir (Gonzalez ve diğerleri, 2016; Han 2023; Charlesworth ve Klaassen 2024).

Yaralar; fiziksel, kimyasal, termal, radyasyon veya cerrahi müdahaleler sonucu doku bütünlüğünün bozulduğu durumlar olarak tanımlanmaktadır (Gonzalez ve diğerleri, 2016). Yara iyileşmesi, derinin ve diğer dokuların yeniden yapılandığı, kompleks ve dinamik bir biyolojik süreçtir (Flanagan, 2013). Bu süreç; hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve remodelizasyon (yeniden şekillenme) olmak üzere dört ana evreye ayrılmaktadır. İnflamasyon evresi, yara oluşumunu takiben ilk birkaç gün içinde gerçekleşmekte olup, iyileşme sürecinin diğer evreleri için temel oluşturmaktadır (Flanagan, 2013). Proliferasyon evresinde, yara alanında yeni doku ve neovaskülarizasyon gelişmektedir. Son evre olan yeniden şekillenme evresinde ise doku dayanıklılığı artar ve deri bütünlüğü geri kazanılır (Rodrigues ve diğerleri, 2019). Yara iyileşmesi süreci, metabolik faaliyetler ve bağışıklık sistemi yeterliliği gibi çeşitli faktörler tarafından etkilenmektedir. Yaralı bölgenin enfekte olması, dolaşım bozuklukları, obezite ve diyabet gibi durumlar, yara iyileşme sürecini ve hızını olumsuz yönde etkilemektedir (Rodrigues ve diğerleri, 2019).

İnsanlık, yaralanmaların tedavisi için binlerce yıldır doğanın sunduğu çözümlerden yararlanmaktadır. Özellikle bitkiler, içerdikleri biyoaktif bileşikler sayesinde geleneksel tıbbın vazgeçilmez bir parçası olmuştur. Polifenoller, bu biyoaktif bileşiklerin önemli bir sınıfını oluşturmaktadır. Antioksidan ve antiinflamatuvar gibi çeşitli farmakolojik etkileri ile bilinmektedir (Bulgakov ve diğerleri, 2012). Bu polifenollerden biri olan rosmarinik asit (RA), ilk olarak bazı

eğrelti otu ve boynuz otu türlerinde tespit edilmiş olup (Petersen & Simmonds, 2003), daha sonra ballıbabagiller (*Lamiaceae*) familyasına ait biberiye (*Rosmarinus officinalis*), kekik (*Origanum vulgare*), adaçayı (*Salvia officinalis*) gibi aromatik bitkilerde yüksek oranda bulunduğu gösterilmiştir (Corral-Lugo ve diğerleri, 2016; Petersen ve Simmonds 2003). Bu bitkilerin yüzyıllardır çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde kullanılması, içeriklerindeki RA gibi bileşiklerin potansiyel terapötik etkilerine işaret etmektedir.

Doğada yaygın olarak bulunan ve selüloza yapısal benzerlik gösteren katyonik bir polisakkarit olan kitosan, kabuklu deniz canlılarının dış iskeletinden elde edilmektedir. Biyoyumluluk, biyobozunurluk, hemostatik ve antimikrobiyal özellikleriyle öne çıkan kitosan, farmasötik ve tıbbi uygulamalar için umut vadeden bir biyomateryaldir (Adnan ve diğerleri, 2020). Kitosanın yara iyileşmesi üzerindeki olumlu etkileri çeşitli çalışmalarla gösterilmiş olup, inflamatuvar hücre aktivasyonunu, sitokin üretimini, kollajen sentezini ve anjiyogenezi desteklediği bilinmektedir (Okamoto ve diğerleri, 1995; Ishihara 2002; Wang ve diğerleri, 2008).

Bu tez çalışmasında, güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklere sahip rosmarinik asidin kitosan ile birlikte jel formunda kullanılarak yara iyileşmesi üzerindeki olası sinerjik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. RA'nın bilinen farmakolojik etkileri ile kitosanın yara iyileşmesini destekleyici özellikleri literatürde ayrı ayrı detaylı olarak tanımlanmıştır. Ancak iki maddenin sinerjik etkisinin, topikal jel formunda ve deneysel bir yara modelinde birlikte incelenmesine yönelik çalışmalar sınırlıdır. Bu nedenle söz konusu yaklaşımın literatüre özgün bir katkı sağlaması beklenmektedir. Bu çalışmadan elde edilecek bulgular, rosmarinik asit ve kitosan kombinasyonunun yara iyileşmesi üzerindeki potansiyelini bilimsel olarak ortaya koyması ve gelecekte daha etkili ve doğal kaynaklı yara tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Deri (Kutis)

Vücudun en büyük organı olan deri; epidermis, dermis ve hipodermis olmak üzere üç temel katmandan oluşmaktadır. Bu kompleks yapı, organizma için hayati öneme sahip çok sayıda fonksiyonu yerine getirmektedir (Borena ve diğerleri, 2015).

Derinin temel görevi, vücudu dış ortamdan gelebilecek çeşitli zararlı etkenlere karşı koruyan bir bariyer oluşturmaktır (Han, 2023). Bu işlevi sayesinde deri, patojenlerin (bakteri, virüs vb.), ultraviyole (UV) ışınların, kimyasal maddelerin ve mekanik travmaların etkilerini engelleyerek iç organları ve dokuları korumaktadır. Deri bütünlüğünün korunması, bu koruyucu işlevin sürdürülebilmesi için kritik öneme sahiptir. Aksi durumda, deri bariyerinin zarar görmesi enfeksiyon riskini artırabilir ve hatta ciddi doku ve organ hasarına yol açabilir (Borena ve diğerleri, 2015; Simões 2018).

2.1.1. Epidermis

Epidermis, derinin en dış tabakasını oluşturan yapıdır ve vücudu dış etkenlere karşı temel bir bariyer olarak korumaktadır. Çeşitli katmanlardan oluşan bu avasküler yapının temel hücreleri keratinositlerdir. Keratinositler, su geçirmezlik sağlayan keratini sentezler ve yara iyileşmesinde rol oynayan sitokinleri salgılamaktadır. Epidermis ayrıca, asidik yapısı sayesinde mikroorganizmalara karşı koruma sağlamaktadır. UV ışığıyla D vitamini sentezler ve pigment üreten melanositler ile bağışıklık hücreleri olan Langerhans hücrelerini içermektedir. Epidermisin kalınlığı vücut bölgelerine göre değişmekle birlikte, epidermis organizmada koruyucu ve düzenleyici işlevleri yerine getirmektedir (Kordestani, 2019; Han, 2023; Charlesworth ve Klaassen, 2024).

2.1.2. Dermis

Epiderminin altında yer alan dermis, bağ dokusu açısından zengin bir katmandır. Papiller ve retiküler lifler olmak üzere iki ana tabakadan oluşmaktadır. Papiller dermis, epidermisle iç içe geçmiş parmak benzeri çıkıntılar (dermal papillalar) içermektedir. Retiküler dermis ise yoğun kollajen yapısı ile deriye mekanik dayanıklılık sağlamaktadır. Dermis, kıl folikülleri, ter ve yağ bezleri, kan ve lenf damarları ile sinir uçları gibi çeşitli yapıları içermektedir. Dermisin temel hücre tipi fibroblastlar olup, kollajen, elastin, retikulin ve glikozaminoglikanlar (GAG) gibi ekstraselüler matriks (ESM) bileşenlerini sentezler. Kollajen deriye sertlik ve dayanıklılık kazandırırken, elastin dokuya esneklik sağlamaktadır. Dermis, enfeksiyonlara karşı koruma, epidermise besin desteği sağlanması ve termoregülasyon gibi önemli fonksiyonları yerine getirir (Kordestani, 2019; Han, 2023; Charlesworth ve Klaassen, 2024).

2.1.3. Hipodermis

Hipodermis, derinin en derin katmanını oluşturmaktadır ve embriyonik gelişim sürecinde dermisten farklılaşmaktadır. Dermisi alttaki kas ve kemik yapılarına bağlamaktadır. Zengin vasküler yapı ve sinir ağı içerir. Somatik sinir sistemi tarafından innervasyonunun yanı sıra, otonom sinir sistemi aracılığıyla vücut sıcaklığı, kan akışı ve yağ depolaması gibi çeşitli fizyolojik süreçlerin düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Hipodermisin temel hücre tipi yağ hücreleri (adipositler) olup, ana bileşenini, vücudun enerji deposu olan trigliserit içeren yağ dokusu oluşturmaktadır. Adipositler, enerji depolamanın yanı sıra çeşitli hormonal fonksiyonlara da katkıda bulunmaktadır. Hipodermisin sinir sistemi ile olan bu karmaşık etkileşimi, subkutan yağ dokusunun sağlıklı ve dengeli bir şekilde işlev görmesini sağlamaktadır (Kordestani, 2019; Han, 2023; Charlesworth ve Klaassen, 2024).

2.2. Yara ve Yara İyileşmesi

Yara, fiziksel, kimyasal veya termal etkenlerle canlı dokunun bütünlüğünün bozulması ve derinin fonksiyon kaybı olarak tanımlanmaktadır. Yara iyileşmesi ise bu hasarın ardından başlayan, hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenme olmak üzere birbiriyle örtüşen dört temel aşamadan oluşan karmaşık bir biyolojik süreçtir. Bu süreç, hasarlı dokunun yeni hücreler ve dokularla yer değiştirmesini amaçlamaktadır, ancak oluşan yeni doku, orijinal dokunun yapısal ve fonksiyonel özelliklerini tam yansıtmayabilmektedir (Goldberg ve Diegelmann, 2010).

Yara iyileşmesinin temel amacı, doku bütünlüğünü ve fonksiyonunu mümkün olduğunca geri kazandırmaktır. Bu süreç; lokal ve sistemik faktörler, yaralanmanın tipi ve moleküler-hücreyel olayların etkileşimi gibi birçok faktörden etkilenmektedir. Yeterli doku perfüzyonu, oksijenasyon, yeterli beslenme ve uygun nemli ortam iyileşme için kritik öneme sahiptir (Janis ve Harrison, 2016).

Yara iyileşmesi, rejenerasyon (hasarlı hücrelerin aynı tipte hücrelerle yenilenmesi) ve reparasyon (bağ dokusunun hasarlı dokunun yerini alması) olmak üzere iki temel onarım mekanizmasını içermektedir. İyileşme sürecinin zamanlaması ve kalitesi, yaranın tipine (akut veya kronik), derinliğine ve enfeksiyon varlığı gibi faktörlere bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir. Primer (birincil), sekonder (ikincil) ve tersiyer (üçüncül) iyileşme gibi farklı yara iyileşme tipleri tanımlanmaktadır (Singh ve diğerleri, 2017).

2.2.1. Yara İyileşme Fazları

2.2.1.1. Hemostaz

Doku bütünlüğünün bozulmasıyla tetiklenen yaralanma sonrasında başlayan hemostaz fazı, öncelikle kanamayı kontrol altına almayı, ardından iyileşme sürecinin ilerlemesi için bir zemin hazırlamayı amaçlamaktadır. Hasar gören damarlarda açığa çıkan subendotelial kollajen ve von Willebrand faktörü (vWF), trombositlerin damar duvarına adezyonuna ve aktivasyonuna yol açar (LaPelusa ve Dave, 2019).

Etkinleşen trombositler, vazokonstriksiyonu ve daha fazla trombositin agregasyonunu artıran Tromboxan A2 (TxA2) gibi maddeleri salgılamakla, aynı zamanda Faktör XII'yi (Hageman faktörü) uyararak pıhtılaşma (koagülasyon) zincirini başlatır. Koagülasyon kaskadı sonucu oluşan fibrin ağı, trombositlerle birleşerek geçici bir tıkaç (primer tıkaç) oluşturur ve kanamayı durdurur. Oluşan bu fibrin ağı aynı zamanda inflamatuvar hücreler ve fibroblastlar (bağ dokusu hücreleri) için geçici bir ESM işlevi görür. Fibrin moleküllerinin Faktör XIII (fibrin stabilize edici faktör) ile çapraz bağlanması, pıhtının daha kalıcı ve dayanıklı olmasını sağlamaktadır. Fibrinoliz (pıhtının çözülmesi) mekanizması ise, pıhtının aşırı büyümesini engelleyerek hücre göçü ve doku onarımı için gerekli alanın açılmasına yardımcı olur. Endotel hücreleri (damar iç yüzey hücreleri), trombositler, pıhtılaşma faktörleri ve fibrinoliz arasındaki hassas denge, hemostazın başarısını ve yara iyileşmesinin sonraki evrelerini belirleyen kritik bir faktördür (Levy ve diğerleri, 2010; Periyah, Halim, ve Saad 2017).

İnflamatuvar faz, doku hasarından hemen sonra başlamaktadır. Bu faz sırasında fibrin pıhtısı parçalanır ve kapiller damarlar dilate olarak damar geçirgenliğini artırmaktadır. Plazma ve ana inflamatuvar hücre (örn. nötrofiller ve makrofajlar) yaralanma bölgesine göç eder ve kompleman sistemi aktive olur. Nötrofiller yaralanmadan hemen sonra yara bölgesinde toplanır ve 24 ile 48 saat içinde maksimum seviyeye ulaşmaktadır (Eming ve diğerleri, 2007).

İnflamatuvar fazdaki ilk olay, yaradan kan akışının durdurulmasıdır; daha önce de belirtildiği gibi, bazı kaynaklarda bu süreç başlı başına ayrı bir “hemostaz” fazı olarak kabul edilmektedir (LaPelusa ve Dave, 2019).

2.2.1.2. İnflamasyon

İyileşmenin ikinci fazında temel amaç yaralanma sonrası bölgedeki hasarlı ve ölü hücrelerin, dokuların ve bölgeye yerleşmiş olan zararlı bakteri ve mikroorganizmaların fagositoz yapabilme yeteneğine sahip lökosit hücreleri vasıtasıyla eliminasyonu ve yeni hücrelerin çoğalabilmesi için uygun ortamı sağlamaktır. Kendi içinde iki ana döneme ayrılır; erken inflamasyon fazı ve geç inflamasyon fazı (Eming ve diğerleri, 2007; Medzhitov 2008).

Erken inflamasyon fazında ilk müdahale ve temizlik olayları gerçekleşmektedir. Trombosit ve mast hücrelerinden vazoaktif mediyatörler (lökotrien, histamin, bradikinin) salgılanmaktadır.

Bunlar vazodilatasyonu ve vasküler permeabilite artışını sağlamaktadır. Artan kan akışı ve içindeki inflamatuvar hücreleri ile birlikte kızarıklık (rubor), sıcaklık artışı (kalor), şişlik (tumor), ve ağrı (dolor) gibi inflamasyon belirtileri ortaya çıkmaktadır. Trombosit ve fibrinojenlerin oluşturduğu pıhtıdan, bölgedeki hasarlı ve ölü hücrelerden salınan proinflamatuvar sitokinleri ve büyüme faktörleri nötrofillerin yara bölgesine kemotaksisini sağlamaktadır. Yara bölgesine ilk gelen lökosit grubu nötrofillerdir, yaralanma sonrasında bölgede 6 saat içerisinde görülürler ve 24-48 saat içerisinde sayıları maksimuma ulaşır. Nonspesifik bağışıklık sisteminin parçası olan nötrofiller enfeksiyona yönelik savunmanın birincil hattıdır. Ana görevleri yabancı cisimleri ve patojenleri fagosite etmekle birlikte kollajenaz, elastaz gibi proteazlar açığa çıkararak nekrotik dokuları sindirmektir. Nötrofillerin fagositoz olayı devam ettikçe bölgedeki pH düşer. Düşen pH, nötrofillerin hücre duvarını eriterek nötrofillerin nekrozuna yol açmaktadır. Yıkılan nötrofillerin içindeki bazı proteazlar ve reaktif oksijen türleri ortaya çıkarak ölü hücreleri ve hücre artıkları parçalayarak temizlemektedir. Yaralanmadan sonra 48-72 saat sonra nötrofillerin sayısı azalır ve yerlerini kökenlerini monositlerden alan makrofajlara bırakırlar (Beyer ve diğerleri, 2018; Pradhan ve diğerleri, 2009; Zhao ve diğerleri, 2016).

Geç inflamasyon fazında asıl rolü makrofajlar alır. Makrofajlar damarlarda dolaşan monositlerin ve yara bölgesindeki mononükleer hücrelerin aktifleşerek fagositoz yapabilen formlarıdır. Makrofajların yara iyileşmesindeki başlıca görevleri; fagositoz, antimikrobiyal fonksiyon, debritman, matriks sentezi regülasyonu, hücre aktivasyonu ve anjiyogenez olarak özetlenebilir. Makrofajlar nötrofillere göre daha uzun ömürlü olup etkili fagositoz yaparlar ve yara bölgesindeki proteolitik enzimler sebebiyle düşen pH' a bağlı olarak oluşan asidik ortamda dahi hücre işlevlerini ve görevlerini sürdürebilmektedirler. Makrofajların nötrofillerden farklı olarak yapmış olduğu ana görev ise yara iyileşme sürecinin ileri fazlara geçişini sağlayan, başlatan ve düzenleyen platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), transforme edici büyüme faktör-beta (TGF- β) gibi çeşitli büyüme faktörleri ve sitokinler salgılamaktır. Ayrıca fibroblastlar, keratinositler ve endotel hücrelerin aktivasyonunu sağlayan mediyatörleri salgılamaktadırlar (Martin ve Leibovich, 2005; Ud-Din ve Bayat, 2016).

2.2.1.3. Proliferasyon

Yara bölgesindeki doku defektini doldurmak ve anjiyogenez için yeni hücrelerin ve matriksin oluşturulmasını kapsayan bu aşamaya proliferasyon fazı denir. Ana görevi üstlenen hücreler fibroblastlar ile endotel ve epitel hücre tipleridir. Hemostaz ve inflamasyon aşamalarında yara bölgesinde bulunan patojenler ve nekrotik doku artıkları temizlendikten sonra çeşitli hücrelerin ve hücre dışı matrikslerin proliferasyonu olmaktadır. Yaranın kabuk bağladığı ve kapandığı aşamadır; epitelizasyon, ESM birikmesi ve yara kapanması süreçleri bu fazda gerçekleşmektedir. İnflamasyon fazında baskın olan makrofaj hücrelerinin sayıları azaldıkça fibroblastlar, makrofajlar tarafından salgılanan büyüme faktörlerinin etkisiyle çevre dokulardan yara bölgesine göç etmektedir. Endotelyal hücreler ise yara bölgesindeki sağlam venüllerden ya da anjiyogenez sonucu oluşan kapiller damarlardan ortaya çıkmaktadır. Fibroblastlar yara onarımını yapan hücrelerdir ve bağ dokusunun ana bileşenleri olan kollajen, retikülin, proteoglikan, ve elastini üretmektedir. İlk üretilen kollajen fibriller tip III olup, genellikle düzensizdir ve gerilme kuvvetine karşı zayıf kalmaktadırlar (Kao ve diğerleri, 2011; Landén, Li, ve Stähle 2016; Chong ve diğerleri, 2020).

2.2.1.4. Remodelizasyon (Yeniden Şekillenme)

Remodelizasyon fazı (yeniden şekillenme), granülasyon dokusunun olgun skar dokusuna dönüşümünü ve ekstraselüler matriksin fonksiyonel ve yapısal olarak yeniden düzenlenmesini içermektedir. Haftalar, aylar ve hatta yıllar boyunca sürebilen iyileşme sürecinin son ve en uzun evresidir. Proliferasyon fazının sonlarına doğru granülasyon dokusunun yerini daha az damar ve hücre içeriğine sahip skar dokusu alır. Makrofajlar ve inflamatuvar hücreler apoptoz yoluyla yara bölgesinden uzaklaştırılırken kapiller damarlaşma azalır ve yara alanının rengi soluklaşmaktadır. Kollajen liflerinin yeniden organizasyonu ise erken dönemde yoğun olarak bulunan düzensiz yerleşimli tip III kollajenin yerini daha kalın, mekanik yüklerle dayanıklı ve organize tip I kollajenin almasıyla olmaktadır. Kollajen yıkımı ve sentezi eş zamanlı ilerler, matriks metalloproteinazlar (MMP) ve inhibitörleri (TIMP) arasındaki uyum sayesinde anormal veya aşırı skar oluşumu dengelenerek sağlıklı matriks olgunlaşması sağlanmaktadır. Kollajen fibrillerinin gerilme kuvveti

doğrultusu boyunca hizalanması ile kovalent çapraz bağların artması dokunun dayanıklılığını aşamalı olarak yükseltir; ancak oluşan skar, asla normal dokunun biyomekanik niteliklerine tam olarak ulaşmamaktadır (Kao ve diğerleri, 2011; Ud-Din ve Bayat, 2016).

2.3. Yaraların Sınıflandırılması

2.3.1. Oluş Zamanına Göre Yaralar

Akut yaralar; genellikle ani oluşan ve travma kaynaklı yaralardır. İyileşme sürecinde normal fizyolojik olaylar birbirini takip eder ve kesintiye uğramamaktadır. Yara bölgesi 2–3 hafta içerisinde tamamen kapanmış bir şekilde iyileşme süreci tamamlanmaktadır (Martin ve Nunan, 2015; Cañedo-Dorantes ve Cañedo-Ayala, 2019).

Kronik yaralar; klinik olarak iyileşmeyen, geç iyileşen ya da iyileşme sürecini üç ay içerisinde tamamlayamayan yaralar olarak tanımlanmaktadır. Tekrarlayan travmalar, sistemik hastalıklar ve lokal faktörler yara iyileşmesini geciktiren sebepler arasında yer almaktadır (Siddiqui ve Bernstein 2010; Raziyeve ve diğerleri, 2021).

2.3.2. Deri Bütünlüğüne Göre Yaralar

Açık yaralar; derinin yüzeysel tabakalarının (epidermis ve dermis) kesilmesi, delinmesi, yırtılması, aşınması sonucu altında bulunan dokuların, kasların veya kemiklerin açığa çıkarak dış ortama maruz kaldığı yara tipleridir; ateşli silah yaralanması, abrazyon, avülsiyon, ezilme, insizyon, laserasyon ve penetrasyon. (Lenarz ve diğerleri, 2010; Mayhew ve diğerleri, 2012).

Kapalı yaralar; derinin yüzeysel katmanlarının bütünlüğünün bozulmadığı ancak altta bulunan kasların, kemiklerin ve dokuların hasar alması sonucu fonksiyonlarında azalma ya da bozulma meydana geldiği yara tipleridir. Genellikle künt travmalar sonucu oluşurlar; blast etki yaralanmaları ve kontüzyonlar (Pang ve diğerleri, 2020).

2.3.3. Enfekte Olma Durumuna Göre Yaralar

Temiz yaralar; genellikle cerrahi müdahaleler sırasında asepsi ve antisepsi kurallarına uygun koşullarda oluşturulan deri ve doku kesileri sonucu oluşan yara tipleridir (Dumville ve diğerleri, 2013).

Enfekte yaralar; deri bütünlüğünün bozulmasını takiben, vücudun savunma sisteminin yara bölgesine yerleşmiş olan zararlı patojenlerin çoğalmasını engelleyememesi sonucu oluşan ve klinik görünümde belirgin inflamatuvar belirtilerle karakterize yara tipleridir (Dumville ve diğerleri, 2013; Bessa ve diğerleri, 2015).

2.4. Yara İyileşmesinin Sınıflandırılması

2.4.1 Birincil İyileşme

Birincil yara iyileşmesi genellikle derinin epidermis ve dermis katmanlarının etkilendiği, doku kaybının sınırlı olduğu ve yara kenarlarının birbirine yakın olduğu durumlarda yara kenarlarının medikal müdahale ile kapatıldığı, vücudun kendi iyileşme mekanizmasının desteklendiği iyileşmedir. Yara kenarları süturlar, deri zımbası ya da medikal bantlarla birbirine yaklaştırılır. Yara kenarları arasındaki boşluğu doldurmak için gereken granülasyon dokusu ihtiyacı minimum seviyeye indirgenerek yaranın iyileşmesi hızlanır. Yara kapandığı için yaranın sonucu açığa çıkan dokuların dış ortamla teması sonlanır, bakteri ve mikroorganizmaların yara alanına girişi zorlaşarak enfeksiyon riski azalmaktadır (Kordestani 2019; Price ve diğerleri, 2021).

2.4.2 İkincil İyileşme

İkincil yara iyileşmesi derinin bütün katmanlarının ve altındaki dokuların etkilendiği, yara boyutunun büyük ve derin, yara kenarlarının birbirine yaklaştırılmayacak kadar uzak olduğu ve yara bölgesinin enfeksiyon yükünün fazla olduğu durumlarda görülen iyileşme tipidir. Bu iyileşme

tipinde yara kenarları cerrahi olarak yaklaştırılıp kapatılmaz. Yara boşluğunu granülasyon dokusu doldurmaktadır. Fibroblastların kasılabilir tipi olan miyofibroblastların kontraksiyonuyla yara kenarları yara alanının merkezine doğru çekilerek yaranın kapanması sağlanır. Bu süreç yavaş gelişir ve uzun zaman almaktadır. İyileşme sonucunda birincil iyileşme tipine göre daha büyük ve belirgin bir sikatriks kalır (Flanagan, 2013; Kordestani, 2019; Vachhrajani ve Khakhkhar, 2020).

2.4.3. Üçüncül İyileşme

Üçüncül yara iyileşmesi diğer adıyla gecikmeli birincil iyileşme olarak da bilinen bu iyileşme yöntemi birincil ve ikincil iyileşme yöntemlerinin kombinasyonu olarak değerlendirilmektedir. Enfeksiyon yükü çok fazla olan, geniş ve derin doku kaybının olduğu, kapatılmasının mümkün olmadığı ama açık bırakıldığı takdirde kendiliğinden iyileşemeyecek yaralarda uygulanır. İlk 4–5 gün boyunca yara kontrollü bir şekilde açık bırakılmaktadır. Bölgedeki nekrotik dokular ve eksüdat düzenli olarak debride edilerek yara bölgesi temiz ve canlı hale getirilir. Birkaç gün içerisinde yara yatağında canlı, kırmızı–pembemsi granülasyon dokusu oluşmaya başlar. Bu durum nekrotik ve kontamine dokuların fagositozunun gerçekleşip inflamasyon fazının bittiğinin, proliferasyon fazının başladığının göstergesidir. Bu aşamada yara kenarlarının durumuna göre süturlar ya da diğer deri kapatma teknikleri kullanılarak yara kapatılıp iyileşme sağlanmaktadır (Kordestani, 2019; Vachhrajani ve Khakhkhar, 2020; Han, 2023).

2.5. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Vücudun içerisindeki sistemler ve organlar devamlı olarak birbirleriyle ya da kendi içlerinde etkileşim halindedirler. Santraldan perifere kadar oluşan her olayda verilen fizyolojik yanıtlar organizmanın o anki mevcut şartlarına göre değişkenlik göstermektedir. Vücudun herhangi bir bölgesinde meydana gelen yaralanmalar ya da hastalıklar diğer sistemleri etkileyerek organizmanın gelişen olaya karşı verdiği tepkiyi de değiştirmektedir. Yara gibi periferik dokularda meydana gelen olaylarda vücudun oluşan yaraya tepki olarak gösterdiği iyileşme mekanizmasını etkileyen faktörler sistemik ve lokal faktörler olmak üzere iki ana başlıkta incelenmektedir (Guo ve DiPietro, 2010a; Hess, 2011; Bereznicki, 2012).

2.5.1. Lokal Faktörler

2.5.1.1. Oksijenizasyon

Yara iyileşmesi patojenlerin fagositozunu, yeni hücrelerin ve dokuların sentezi gibi yüksek metabolik enerji ihtiyacı gerektiren olayları içerdiği için oksijenizasyon yara iyileşmesinde önemli bir faktördür. Yara bölgesinde ve iyileşme mekanizmasında görev alan tüm hücreler aerobik metabolizma vasıtasıyla Adenozin Trifosfat (ATP) üreterek enerji ihtiyaçlarını karşılarlar (Castilla ve diğerleri, 2012). Başlangıçta gelişen kısa süreli hipoksi, Hipoksiye İndüklenebilir Faktör – 1 (HIF-1) gibi faktörleri aktive ederek Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF) gibi anjiyogenik faktörlerin uyarımını sağlamaktadır. Bu sayede yara bölgesinde yeni damarların oluşumu sağlanır. Uzun süreli ve şiddetli hipoksi anjiyogenezi bozar ve bölgedeki anaerobik bakterilerin çoğalmasını elverişli hale getirir. Makrofajlar ve nötrofiller yara bölgesindeki bakterileri yok etmek için oksidatif patlama adı verilen bir mekanizma kullanırlar. Bunun için Reaktif Oksijen Türleri (ROS) üretilmesi gerekir, oksijensiz bu mekanizma çalışmaz ve bağışıklık hücrelerinin patojenleri yok etme gücü azalır (De Smet ve diğerleri, 2017; Sano, Ichioka, ve Sekiya 2012).

2.5.1.2. Enfeksiyon

Bakteriler proinflamatuvar sitokinlerin salınımını tetiklemektedir. Bu sitokinler makrofajların ve nötrofillerin yara bölgesinden uzaklaşmasını sebep olmaktadır. Böylelikle inflamasyon fazı uzar, endotel hücrelerinin ve fibroblastların proliferasyonu baskılanır. Yara bölgesindeki bakteriler ve bağışıklık hücrelerinden salgılanan proteazlar yara iyileşmesi için gerekli olan ESM bileşenlerini parçalar. Bu olay uzun sürerse yeni dokuların sentezi çok düşük seviyelerde olur ve iyileşme gecikir. Gelişen bu olaylar bölgenin asidik olmasına ve dolayısıyla endotel hücrelerinin göçünü olumsuz etkileyerek anjiyogenezi engeller, iyileşme gecikir ya da kronikleşir (Guo ve DiPietro, 2010a; Hess, 2011; Anderson ve Hamm, 2012).

2.5.1.3. Yabancı Cisim

Yabancı cisim vücut tarafından tehdit olarak algılanır ve ortadan kaldırılması için bağışıklık hücrelerince fagosite edilmeye çalışılır ancak başarılı olunmaz. Fagosite edilemeyen bu yabancı cisimin etrafında granülom olarak adlandırılan kronik inflamatuvar odak oluşmaktadır. Bu durum iyileşmenin proliferasyon fazına geçişini uzatarak iyileşmeyi geciktirmektedir. Genellikle bu yabancı cisimler yüzeylerinde bakteri veya diğer patojenleri bulundurduğundan yara bölgesindeki zararlı mikroorganizma yükünü artırarak inflamasyon fazını uzatır ve iyileşmeyi geciktirir. Yara kenarlarının birleşmesini engelleyerek yaranın kapanmasını engeller ve yara alanının dış ortama maruz kalmasına sebep olur, bu yüzden yabancı cismin yara alanından çıkarılması gerekmektedir (Guo ve DiPietro 2010b; Babensee 2020).

2.5.1.4. Biyofilm Tabakası

Yara oluşuktan sonra yara yüzeyine dış ortamda bulunan zararlı mikroorganizmalar ilk önce zayıf bağlarla tutunmaktadır. Kalıcı bağlar kurabilen mikroorganizmalar kendi ürettikleri hücre dışı polisakkarit maddeler ile buldukları yüzeyin çevresinde biyofilm tabakası oluşturarak kendilerini yara alanına göç eden bağışıklık hücrelerinden ve yara bölgesine uygulanmış olan topikal ajanlardan koruyarak gelişmeye ve çoğalmaya devam etmektedirler. Üretmiş oldukları metabolik ürünler yara bölgesinde düşük seviyeli inflamatuvar yanıtı sürekli olarak tetikler. Böylelikle inflamasyon fazı uzar, iyileşme yavaşlar ve gecikir (Metcalf ve Bowler 2013; Azevedo ve diğerleri, 2020; Goswami ve diğerleri, 2023).

2.5.2. Sistemik Faktörler

2.5.2.1. Yaş

Yaşlanan bireylerde derinin yapısında ve hücresel faaliyetlerinde değişiklikler meydana gelmektedir. Yaşın ilerlemesiyle birlikte dermoepidermal bileşke düzleşir, epidermis inceler. Bu durum derinin travmalara karşı az dirençli olmasına ve oluşacak yara bölgesinde epitelizasyonun

yavaşlamasına sebep olur. Dermis incelendiği için elastin ve kollajen liflerinin kalitesinde ve miktarında azalma görülür (Sgonc ve Gruber, 2013). Bu materyallerin azalması derinin esnekliğini kaybetmesini, kolayca yaralanmasını ve yaralanma olduğunda yara kenarlarının kontraksiyon gücünü azaltarak yaranın kapanmasını zorlaştırmaktadır. Kan damarlarının yoğunluğu azalır ve yaralanma meydana geldiğinde bölgeye ilerleyen bağışıklık hücrelerinin ve oksijen gibi maddelerin ulaşımı yavaşlar. Yaşlandıkça dokularda bölünmeyi durduran ve metabolik olarak zararlı maddeler salgılayan senesan hücreleri birikmeye başlamaktadır. Bu olaylar yaralanma sonrası iyileşmeyi azaltan yaşa bağlı faktörlerdir (Sgonc ve Gruber 2013; Gould ve diğerleri, 2015).

2.5.2.2. Beslenme

Yara iyileşmesi metabolik faaliyetlerin yoğun olduğu, dolayısıyla normal koşullara göre daha fazla enerji ve proteinin harcandığı ve ihtiyaç duyulduğu bir durumdur. Enerji ihtiyacı ve anabolik olaylarda kullanılacak gerekli maddeler yeterli değilse iyileşme gecikir ya da tamamen durur. Proteinler yara bölgesindeki fibroblastların çoğalmasının, kollajen sentezinin ve bağışıklık hücrelerinin (makrofaj, nötrofil) sentezlenmesinde temel yapı taşıdır. Protein eksikliği kollajen ağının ve yeni kan damarlarının oluşumunu engelleyerek sağlıklı granülasyon dokusunun oluşmasını olumsuz etkiler. Bağışıklık hücrelerinin sentezinin azalması yara bölgesinin temizlenmesini ve enfeksiyonun giderilmesini yavaşlatır, inflamasyonu kronikleştirebilir. Ana enerji kaynağı olarak karbonhidratlar kullanılır. Yeterli düzeyde alınmazsa vücut enerji ihtiyacını karşılamada yağ ve proteinlere yönelir, bölgedeki hücreler ve ESM bileşenlerini sentez olaylarında kullanılarak protein azalır, iyileşme yavaşlar. Dengeli karbonhidrat alımı proteinlerin enerji ihtiyacı olarak kullanılmasının önüne geçerek protein koruyucu etki yapar. Yağlar hücre membranlarının yapısında bulunur, enerji ihtiyacında kullanılır, yağda çözünen A, D, E ve K vitaminlerinin emilimini sağlar (Stechmiller, 2010; Palmieri ve diğerleri, 2019). Proteinler, karbonhidratlar ve yağlar makronutrientlerdir. Mikronutrientler olarak vitaminler ve mineraller ise yara iyileşmesinde enzimatik reaksiyonlarda kofaktör olarak taşıyıcı, bağlayıcı gibi görevlerde yer alırlar. A vitamini kollajen sentezi, epitelizasyon ve inflamatuvar yanıtın modülasyonunda görev alır. C vitamini kollajenlerin hidrosilasyonlarında rol alır, kollajenlerin üretilmesi için zorunludur. C vitamini eksikliğinde proteinlerin az olduğu durumlarda yetersiz kollajen oluşumu sonucu

yanarın gerilme direnci düşer, yara kenarlarının ayrılma riski artar. B vitaminleri enerji üretimi, metabolik faaliyetler ve nükleik asit sentezi gibi enzimatik olaylarda kofaktör olarak görev alırlar. K vitamini yara iyileşmesinin hemostaz fazında gerekli olan kan pıhtılaşma faktörlerinin sentezleri için gereklidir. Bakır, lizil oksidaz enziminin kofaktörüdür ve anjiyogenezde görev alır. Demir, oksijenin taşınmasını sağlayan hemoglobinin yapısına katılır, eksikliğinde yara bölgesinin oksijenizasyonu bozulur ve iyileşme yavaşlar (Wild ve diğerleri, 2010; Williams ve Barbul 2012).

2.5.2.3. Stres

Stres hem psikolojik hem de fizyolojik düzeyde vücudun iç dengesini bozan bir durumdur. Stres Hipotalamus – Hipofiz – Adrenal (HPA) aksını aktifleştirerek kortizol gibi glukokortikoidlerin salınımını artırır. Kortizol, proinflamatuvar sitokinlerin üretimini baskılar, immün yanıtı zayıflatır, inflamasyon fazı uzar ve yara iyileşmesi gecikir. Stres sonucu sempatik sinir sistemi aktifleştirerek adrenalin, nöroadrenalin ve katekolaminlerin salınımını artırır. Bu hormonlar damarların kontraksiyonuna neden olur. Yara bölgesine giden kan miktarında azalma meydana gelir, kanın içinde bulunan oksijen, bağışıklık hücreleri ve besin maddelerinin bölgeye ulaşması azalarak yaranın iyileşmesi gecikir (Hughes ve diğerleri, 2017; Luo ve diğerleri, 2020). Sempatik sistemin aktifleşmesi sindirim sistemi fonksiyonunu azaltır, iştah azalır. İştahın azalması yetersiz beslenmeye sebep olur. Yara iyileşmesinde ihtiyaç duyulan enerji ve anabolik faaliyetlerde gerekli maddeler yeterli düzeyde karşılanamaz, yara iyileşmesinin tüm fazları olumsuz etkilenir (Gouin ve Kiecolt-Glaser 2012; Deng ve diğerleri, 2021).

2.5.2.4. Obezite

Obezite genellikle anjiyopatiye, nöropatiye ve immünosupresyona yol açan diyabet, metabolik sendrom, hipertansiyon ve periferik damar hastalığı gibi komorbiditelerle seyrederek yara iyileşmesini olumsuz etkileyen durumlara yol açmaktadır. Obez bireylerde yağ dokusu aşırı fazladır. Kilo alımıyla birlikte yağ dokusu artar ama kılcal damarlar orantılı olarak artmaz, yağ dokusunun fazla olduğu alanlarda hipoksi meydana gelir. Hipoksi anjiyogenezi ve oksijenin yara bölgesindeki etkilerini azaltarak iyileşmeyi olumsuz etkiler (Pence ve Woods, 2014; Frasca ve

Strbo, 2022). Yaralanmadan sonra adipoz dokudan sitokinler, adipokinler ve kemokinler gibi proinflamatuvar mediyatörler sürekli salgılanarak yara bölgesindeki normalde kısa olması gereken inflamasyon fazı uzar, proliferasyon fazına geçiş aksar, düşük dereceli kronik inflamatuvar durum gelişir. Hipoksi ve kronik inflamasyon, kollajenlerin sentezlenmesini ve fibroblastların çoğalmasını baskılar, yaranın gerilme direnci azalır. Azalmış yara gerilme direncine ilave olarak kilonun fazla olması dokulara ekstra basınç uygulayarak dehisense sebep olabilir. Aşırı yağ doku, yara kenarlarının kapanmasını ya da suture materyallerinin deriyi iyi tutmasını engelleyebilir (Pence ve Woods 2014; Pierpont ve diğerleri, 2014; Frasca ve Strbo 2022).

2.6. Rosmarinik Asit

RA, kafeik asit ve laktik asidin suda çözünür bir esteri olup, baharatlar ve nane ailesinden çeşitli tıbbi bitkilerde yaygın olarak bulunan bir fenolik bileşiktir (Ivanov ve diğerleri, 2022). Bu bileşik, birçok bitki familyasında yaygın olarak bulunur ve çeşitli biyolojik ve farmakolojik aktiviteler sergilemektedir (Bulgakov ve diğerleri, 2012). RA'nın yapısında bulunan iki katekol grubu, antioksidan özelliklerini sağlar ve antiinflamatuvar (Fasolo ve diğerleri, 2021), antiviral (Swarup ve diğerleri, 2007), antitümöral (Luo ve diğerleri, 2020), nöroprotektif (Fazel Nabavi ve diğerleri, 2015) ve yara iyileştirici (Huerta-Madroñal ve diğerleri, 2021) özelliklere sahiptir. RA, antiinflamatuvar, antioksidan, antineoplastik ve antiviral özellikleri ile birlikte anksiyete, depresyon ve epilepsi gibi nörolojik bozukluklar üzerindeki nöroprotektif etkileriyle de tanınmaktadır (Alagawany ve diğerleri, 2017). Düşük toksisitesi ve doğal kökeni nedeniyle dünya çapında araştırmacılar arasında büyük ilgi uyandırmıştır. RA'nın tümör doku gelişimini engelleme potansiyeli Osakabe ve arkadaşlarının hayvan deneylerinde *Perilla frutescens* özütü üzerinde gösterdiği iki bağımsız mekanizma (DNA oksidatif hasarının inhibisyonu ve kemokin sentezinin yanı sıra adezyon molekülü inhibisyonu) aracılığıyla doğrulanmıştır (Osakabe ve diğerleri, 2004). Ancak, RA'nın yüksek instabilitesi, terapötik kullanımını sınırlamaktadır (Huerta-Madroñal ve diğerleri, 2021). Bu sorunu aşmak için, RA'nın biyolojik özelliklerinden yararlanarak, kovalent aşılama ve iyon değişimi kimyasal yöntemleri ile RA'yı kitosana dahil ederek yeni tıbbi ürünler geliştirilmesi önerilmektedir.

2.7. Kitosan

Kitosan, doğada selülozdan sonra en sık rastlanan biyopolimerdir. Doğal bir katyonik polisakkarit olan kitosan, biyoaktivite, biyolojik olarak parçalanabilirlik, biyouyumluluk gibi benzersiz özellikleri nedeniyle farmasötik alanda geniş uygulama potansiyeline sahiptir (Adnan ve diğerleri, 2020). Çöktürme, nem tutma, film oluşturma, antimikrobiyal etki, enzim immobilizasyonu gibi çok çeşitli fonksiyonları nedeniyle ilaç, kozmetik, tıp ve tarım gibi çeşitli endüstrilerde kullanılmaktadır. Tıbbi alanda, yara iyileşmesine etkisi çeşitli araştırmacılar tarafından incelenmiştir (Wang ve diğerleri, 2008). İyileşme sürecini hızlandırdığı, ağrıyı azalttığı ve yara yüzeyini koruduğu bildirilmiştir (Okamoto ve diğerleri, 1995; Ishihara, 2002; Wang ve diğerleri, 2008). Kitosan, yara iyileşme sürecinde polimorfonükleer hücre ve makrofajların aktivasyonu, sitokin üretimi, dev hücre göçü ve kollajen sentezini uyarma gibi aşamalarda önemli rol oynamaktadır (Rodrigues ve diğerleri, 2019). Ayrıca mikroorganizmalara karşı koruyucu etki göstermekte, damar oluşumunu ve granül doku oluşumunu stimüle etmektedir (Huerta-Madroñal ve diğerleri, 2021). Deneysel hayvan modellerinde kitosanın, yara iyileşmesinin tüm fazlarında etki ettiği gösterilmiştir. İnflamatuar fazda kitosanın hemostatik aktivitesi gösterilmiş, ayrıca makrofaj ve nötrofillerin göçünü ve ilişkisini düzenlediği, granülasyon doku oluşumunu ve yeniden şekillenme gibi süreçlerde etki ettiği belirlenmiştir (Okamoto ve diğerleri, 1995; Ishihara, 2002). Kitosan, doku yapıştırıcı özelliğe sahip ideal bir yara pansumanı olarak değerlendirilmektedir (Okamoto ve diğerleri, 1995; Ishihara, 2002; Wang ve diğerleri, 2008).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Hayvan Materyali

Çalışmanın materyalini 20-22 haftalık, 210–380 g ağırlığında *Sprague Dawley* ratlar oluşturmuştur. Ratlar Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nden temin edilmiştir. Ratlar araştırmaya dâhil edilmeden bir hafta önce vücut ağırlıklarına göre kafeslere dağıtılmıştır, her kafese belirli ağırlık grubundaki ratlar konulmuştur. Çalışma süresi boyunca ad libitum olarak su ve yeme erişim imkânı sunulmuştur. Ratlar 12 saat ışık/karanlık siklusunda, kontrollü sıcaklık ve nem koşullarına sahip odalara yerleştirilmiştir.

Çalışma, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun (HADYEK) 06.08.2024 tarih ve 64583101/2024/54 sayılı onayı ile yürütülmüştür.

Gruplardaki hayvan sayısı power test'e (güç analizi) göre belirlenmiştir. Güç analizine göre 51 yara çalışma için yeterlidir. Çalışmada her hayvanın sırtında 2'şer yara oluşturulacağı için hayvan sayısı 27 olarak belirlendiğinde 54 yara elde edilmektedir. Yara sayısı artırılmış ancak hayvan sayısı azaltılmıştır.

Tablo 1. Güç analizi testi verileri

F tests - ANOVA: Repeated measures, between factors		
Analysis: A priori: Compute required sample size		
Input: Effect size f	=	0.45
α err prob	=	0.05
Power (1- β err prob)	=	0.95
Number of groups	=	3
Number of measurements	=	5
Corr among rep measures	=	0.5
Output: Noncentrality parameter λ	=	17.2125000
Critical F	=	3.1907273
Numerator df	=	2.0000000
Denominator df	=	48.0000000
Total sample size	=	51
Actual power	=	0.9583651

3.1.2. Rosmarinik Asit

Çalışmada kullanılan RA, kitosan ile birleştirilerek kullanılmıştır. HPLC saflığında (HPLC-grade) hazırlanmıştır. RA %10 oranında ve kitosan (%0.01) %90 oranında kullanılarak jel oluşturulmuştur.

3.1.3. Kitosan

Çalışma kapsamında RA'nın kitosan ile birleştirilerek jel formu hazırlanmıştır. Bu amaçla pH 5.5 %90 kitosan (%0.01) çözeltisi ile %10 oranında RA karıştırılarak jel formunda hazırlanmıştır. Tüm hazırlık işlemleri, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

3.2. Yöntem

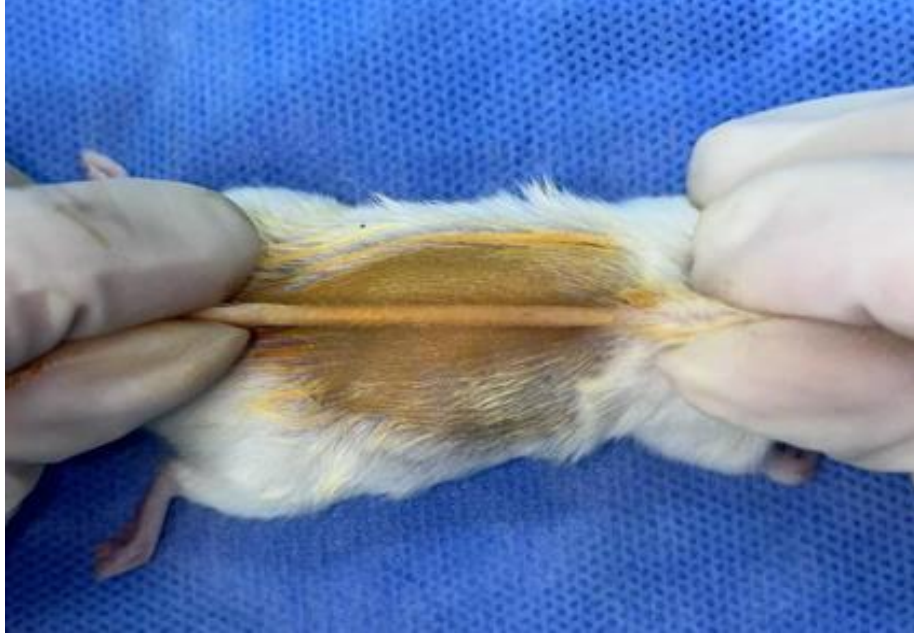
3.2.1. Deneysel Çalışma ve Grupların Belirlenmesi

Yara iyileşme sürecini incelemek amacıyla *Sprague Dawley* ırkı toplam 27 rat kullanılmıştır. Yara iyileşme süreci göz önünde bulundurularak çalışma süresi 6 gün olarak belirlenmiştir. Her bir ratın sırtında ikişer adet yara oluşturulduktan sonra gruplar rastgele oluşturulup toplamda 54 yara/örnek elde edilmiştir (Resim 1).

Deney grupları şu şekilde oluşturulmuştur:

- 9 ratın sırtındaki sol yara bölgesine RA ve kitosan karışımı uygulanırken, sağ yara bölgesine yalnızca kitosan uygulanmıştır.
- 9 ratın sırtındaki sol yara bölgesine RA ve kitosan karışımı uygulanırken, sağ yara bölgesine hiçbir uygulama yapılmamıştır (kontrol grubu) (Resim 1).
- Geriye kalan 9 ratın sırtındaki sol yara bölgesine yalnızca kitosan uygulanıp, sağ yara bölgesine ise hiçbir uygulama yapılmamıştır (kontrol grubu).

RA ve kitosan karışımı uygulanan denek grubunda, kitosan uygulanan grupta ve uygulama yapılmayan kontrol grubunda 18'er adet punch biyopsi (KAI, tek kullanımlık) ile yara oluşturulmuştur. Sonuç olarak ratlarda RA ve kitosan karışımı/Kitosan, RA ve kitosan karışımı/Kontrol ve Kitosan/Kontrol yaraları elde edilmiştir (Resim 2).



Resim 1. Derinin hazırlanması.



Resim 2. Deride punch biyopsi aleti ile tam katmanlı yaraların oluşturulması.



Resim 3. Ratların sırtında iki adet yara oluşturulması.



Resim 4. Grupların oluşturulması.

3.2.2. Hayvanların Anestezisi ve Yara Oluşturma

Ratlar, intraperitoneal (İP) enjeksiyon yöntemiyle genel anestezide alınmıştır. Anestezide için, literatürde önerilen dozlarda 10 mg/kg xylazine hidroklorür (Rompun®, 10 mg/kg, %2, Bayer, İstanbul, Türkiye) ve 70 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketasol®, 70 mg/kg, %10 İnterhas, Ankara, Türkiye) kombinasyonu kullanılmıştır. Anestezide uygulanan ratlar şeffaf bir kabın içinde gözlemlenerek anestezide derinliği kontrol edilmiştir. Cerrahi prosedüre uygun olarak, anestezide giren ratların sırt bölgesi tıraş edilmiş ve asepsi ve antisepsi kuralları çerçevesinde yara oluşturulacak bölgenin sterilizasyonu sağlanmıştır. Altı mm çapındaki tek kullanımlık punch biyopsi aleti kullanılarak, ikiye katlanmış sırt derisinde tam katmanlı, simetrik yaralar oluşturulmuştur (Resim 3 ve Resim 4). Oluşturulan yaraların periferik bölgelerinden, derinin büzülmesini ve yara iyileşmesi takip ölçümlerinin etkilenmesini önlemek amacıyla deri, deri altı doku ve kasa süturlar atılmıştır. Aynı prosedürler, her hayvanda steril koşullar altında uygulanmıştır.

3.2.3. Yara Boyutunun Ölçülmesi

Yaraların ilk oluşturulduğu andan itibaren kamera ile görüntüleri alınmıştır. Görüntüler çekilirken yara kenarlarına hizalanan cetvel vasıtasıyla yara boyutlarının ölçümü yapılmıştır. Görüntüler 12 saat arayla çekilmiştir. Çekilen görüntüler bilgisayara aktarılıp, Image J 1.54j (National Institutes of Health and the Laboratory for Optical and Computational Instrumentation, University of Wisconsin) programı ile yaraların ölçümleri programda bulunan poligon yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Yara alanı mm² olarak kaydedilmiştir.

3.2.4. Histopatolojik Muayene

Yara iyileşme sürecinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi amacıyla, deneyin 3. ve 6. gününde yara bölgelerinden deri numuneleri toplanmıştır. Deri dokusu örnekleri %10'luk tamponlanmış formaldehit solüsyonunda 24–48 saat süreyle tespit edildikten sonra standart doku

takep protokolü doğrultusunda işleme alınmıştır. Bu sũreçte dokular alkol serilerinden geçirilerek dehidre edilip, ksilenle şeffaflandırıldı ve parafine gũmũlerek bloklanmıştır. Parafin bloklardan 4–5 µm kalınlığında kesitler hazırlanarak Hematoksilen–Eozin boyama yũntemi ile boyanmıştır. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopunda (Olympus BX51) incelenip ve mikroskopik dijital fotoğrafları çekilmiştir.

3.2.5. İstatistiksel Değerlendirme

RA ve kitosan karışımı uygulanan grup RAC, yalnızca kitosan uygulanan grup C ve uygulama yapılmayan kontrol olarak belirlenen grup K ile gũsterildi. Sũrekli değişkenler ortalama \pm standart sapma (Mean \pm SD) ve medyan değerleri ile ifade edildi. İstatistiksel anlamlılık dũzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

Grupların aynı zaman noktasındaki ۆlçũmlerinin karşılaştırılmasında verilerin normal dağılım gũstermemesi nedeniyle Kruskal–Wallis testi kullanıldı. Kruskal–Wallis testinde anlamlı farklılık saptanan durumlarda gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalar Dunn–Bonferroni post-hoc testi ile gerçekteştirildi.

Her grup içerisinde zamanla meydana gelen değişimlerin değerlendirilmesinde tekrarlı ۆlçũmlere uygun nonparametrik yũntem olan Friedman testi kullanıldı. Friedman testinde anlamlı farklılık saptanması durumunda zaman noktaları arasındaki ikili karşılaştırmalar Wilcoxon işaretli sıralar testi ile yapıldı ve çoklu karşılaştırmalardan kaynaklanabilecek Tip I hata olasılığını azaltmak amacıyla Holm–Bonferroni dũzeltmesi uygulandı.

Sonuçlar tablolar halinde sunulurken, aynı zaman noktasındaki gruplar arasındaki anlamlı farklılıklar farklı kũũk harfler (a, b, c), aynı grup içerisindeki zaman noktaları arasındaki anlamlı farklılıklar ise farklı bũyũk harfler (A, B, C) kullanılarak gũsterildi. Aynı harfi taşıyan değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı kabul edildi ($p > 0,05$).

4. BULGULAR

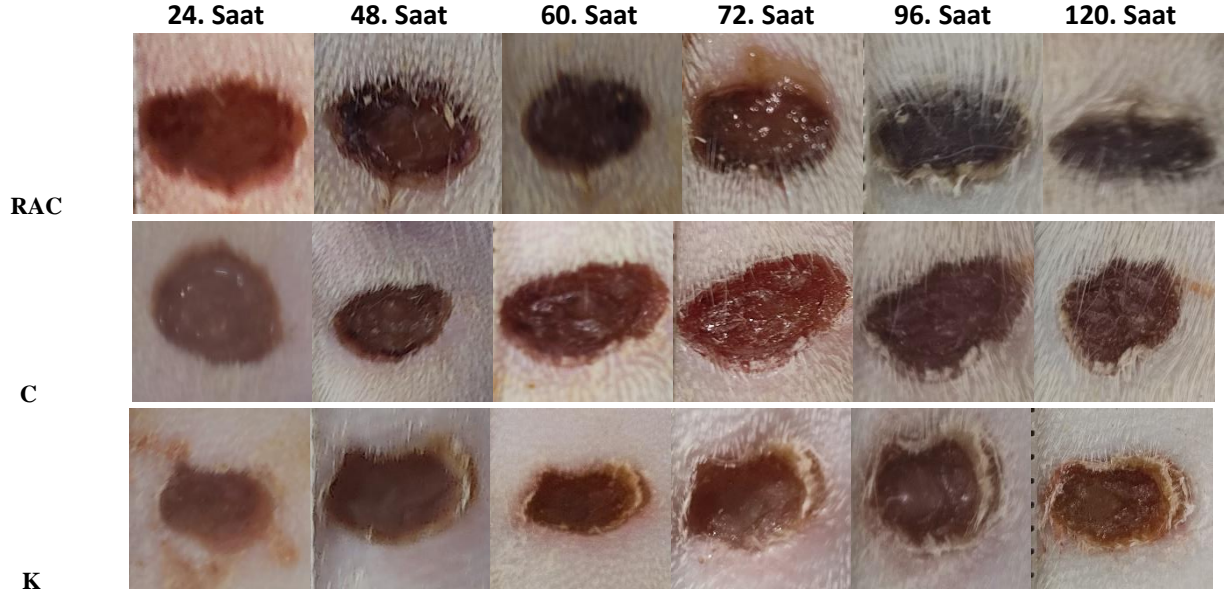
4.1. Klinik Bulgular

Çalışma süresince ratlarda görülen klinik bulgular kaydedilmiştir. Bu bulgular arasında, intraperitoneal anestezi sonrası geçici ataksi (koordinasyon eksikliği), letarji (halsizlik) ve hipotermi gibi beklenen post-anestezik etkiler yer almaktadır. Yara bölgesinde minimal düzeyde eritem ve ödem, yara iyileşmesinin doğal erken inflamatuvar fazına uygun olarak gözlemlenmiştir. Davranışsal olarak bazı hayvanlarda ilk 24 saat içinde azalmış aktivite seviyeleri ve hafif düzeyde pruritus (yara bölgesini yalama/kaşıma girişimleri) saptanmıştır. Tüm klinik bulgular geçici olup, hayvanların genel sağlık ve refah durumları sürekli takip altında tutulmuş; ciddi komplikasyon gerektiren herhangi bir duruma rastlanmamıştır.

4.2. Yara İyileşmesinin Değerlendirilmesi

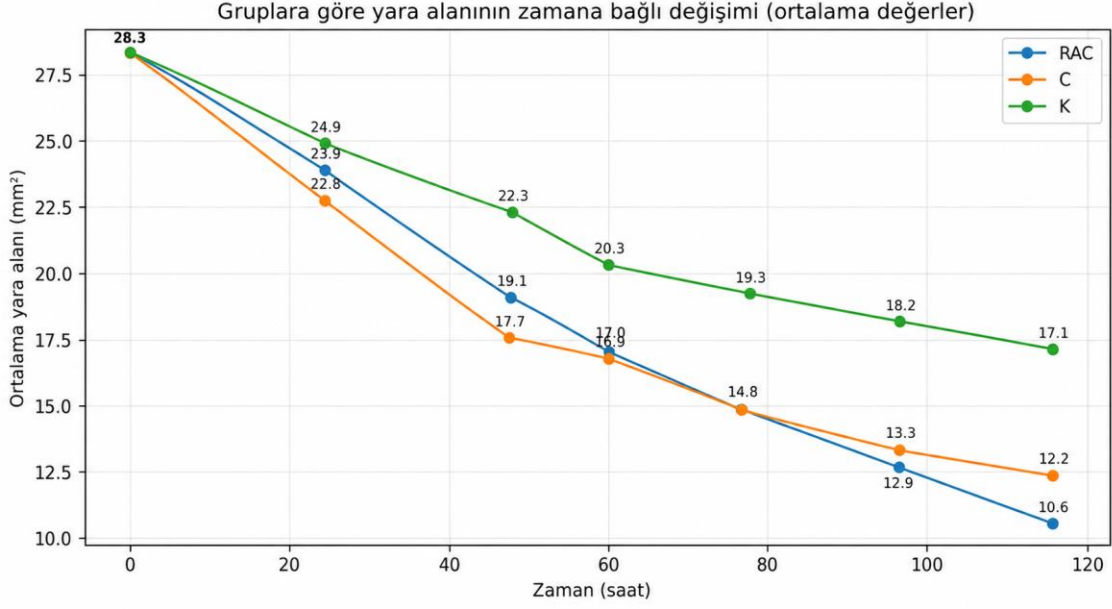
Uygulanan topikal tedavi (RAC ve C) süresince, deney hayvanlarında dolor (ağrı) veya diskomfor (konforsuzluk, huzursuzluk) bulgusuna işaret eden herhangi bir davranışsal reaksiyon gözlenmemiştir. Yara iyileşme sürecinin zamana bağlı değişimini standardize etmek amacıyla, tüm ratların yara bölgeleri, cerrahi işlemden sonraki ilk günden itibaren sabah-akşam 12 saat arayla dijital olarak fotoğraflanmıştır. Makroskopik gözlemler, tedavi grupları arasında yara iyileşmesinin erken inflamatuvar ve proliferatif fazlarında belirgin farklılıklar ortaya koymuştur.

Kontrol grubunda, erken dönemde, bazı hayvanlarda yara yatağında pürülan olmayan eksüdasyon, doku nekrozunu düşündüren gri-sarımsı renk değişiklikleri, yara alanında progresif genişleme ve artmış nem düzeyi gibi klinik semptomlar ön planda olmuştur (Resim 5). Kitosan grubunda ise, kontrol grubuna benzer bulgulara yalnızca birkaç denek özelinde rastlanmıştır; yara alanlarında küçülme gözlenmekle birlikte, belirli bir zaman diliminden sonra kapanma oranı azalmıştır (Resim 5).



Resim 5. Gruplarda yaranın klinik görünümü.

RAC uygulanan grupta ise, başlangıçta kapanma hızının göreceli olarak yavaş olmasına rağmen, enfeksiyon, belirgin eksüdasyon ve ödem gibi komplikasyonlara rastlanmamıştır (Resim 5). Bu grupta, yara yatağının hızla granülasyon dokusu formasyonu göstermesinin ardından, yara alanlarının hızla kapanma eğilimi sergilediği tespit edilmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. RAC, C ve K gruplarında 0., 24., 48., 60., 72., 96. ve 120. saatlerde ölçülen yara alanı değerlerinin zamana bağlı değişimi. Veriler ortalama \pm standart sapma (Mean \pm SD) olarak sunulmuştur.

Ratların yara alanlarının zama göre değişimi şekil l’de gösterilmiştir.

Tablo 2. Gruplarda yara alanı ölçümlerinin zamana göre değişimi (mm²) (ortalama \pm SS). Büyük harfler (A–G): Aynı grup içinde zamanlar arası karşılaştırmayı gösterir (Friedman + Wilcoxon-Holm post-hoc). Küçük harfler (a,b,c): Aynı zaman noktasında gruplar arası karşılaştırmayı gösterir (Kruskal-Wallis + Dunn-Bonferroni post-hoc). Aynı harfi paylaşan değerler arasında fark yoktur ($p > 0.05$). Farklı harf taşıyan değerler arasında anlamlı fark vardır ($p < 0.05$). Son sütundaki p değeri ilgili grubun zamana bağlı değişiminin genel Friedman test sonucudur. En alttaki satır her zaman noktası için gruplar arası genel p değerini gösterir.

Gruplar	0. Gün	24. saat	48. saat	60. saat	72. saat	96. saat	120. saat	Grup içi p
RAC	28.3 \pm 0.1 A	23.8 \pm 2.9 Ba	19.2 \pm 2.4 ^{ca}	16.7 \pm 2.0 ^{Da}	14.6 \pm 2.0 ^{Ea}	12.8 \pm 1.4 ^{fa}	10.5 \pm 1.4 ^{Ga}	<0.001
C	28.3 \pm 0.1 A	22.7 \pm 5.4 Ba	17.7 \pm 4.4 ^{ca}	17.1 \pm 4.1 ^{cDa}	14.8 \pm 4.0 ^{Da}	13.5 \pm 3.3 ^{Ea}	12.3 \pm 3.0 ^{fa}	<0.001
K	28.3 \pm 0.1 A	24.8 \pm 4.1 Ba	22.3 \pm 4.9 ^{Bb}	20.1 \pm 3.5 ^{cb}	19.4 \pm 4.4 ^{cb}	18.5 \pm 4.1 ^{Db}	17.1 \pm 4.2 ^{Eb}	<0.001
Gruplar arası P	0.99	0.31	0.012	0.018	<0.001	<0.001	<0.001	

RAC, C ve K gruplarında yara alanı ölçümleri 0., 24., 48., 60., 72., 96. ve 120. saatlerde gerçekleştirildi. Ölçüm sonuçları ortalama \pm standart sapma ve medyan değerleri ile değerlendirildi.

Grupların zamana bağlı değişimleri Friedman testi ile incelendi. RAC grubunda zamanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($\chi^2=99,93$; $p<0,001$). Post-hoc Wilcoxon işaretli sıralar testi sonucunda 24., 48., 60., 72., 96. ve 120. saat ölçümlerinin başlangıç (0. saat) ölçümlerinden farklı olduğu belirlendi ($p<0,05$).

C grubunda yapılan Friedman testi sonucunda zamanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($\chi^2=83,57$; $p<0,001$). Post-hoc analizlerde 24., 48., 60., 72., 96. ve 120. saat ölçümlerinin 0. saat ölçümlerinden farklı olduğu tespit edildi ($p<0,05$).

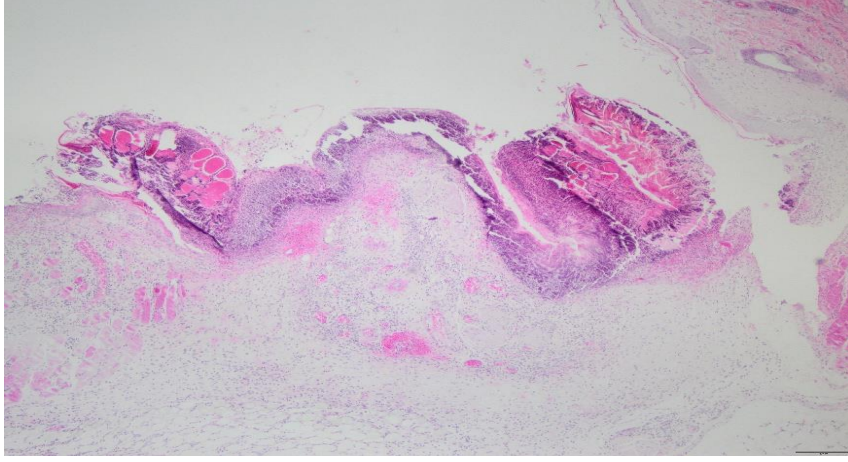
K grubunda da zamanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($\chi^2=74,87$; $p<0,001$). Post-hoc Wilcoxon işaretli sıralar testi sonucunda 24., 48., 60., 72., 96. ve 120. saat ölçümlerinin başlangıç ölçümlerinden farklı olduğu belirlendi ($p<0,05$).

Zaman noktalarına göre gruplar arasındaki karşılaştırmalar Kruskal–Wallis testi ile değerlendirildi. Başlangıç (0. saat) ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,05$). Yirmi dördüncü saatte gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$). Kırk sekizinci saatte gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p<0,05$). Altmışınca, yetmiş ikinci, doksan altıncı ve yüz yirminci saatlerde de gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlendi ($p<0,05$). Anlamlı farklılık saptanan zaman noktalarında yapılan Dunn–Bonferroni post-hoc analizleri sonucunda farklılık gösteren grup çiftleri Tablo 2’de sunuldu.

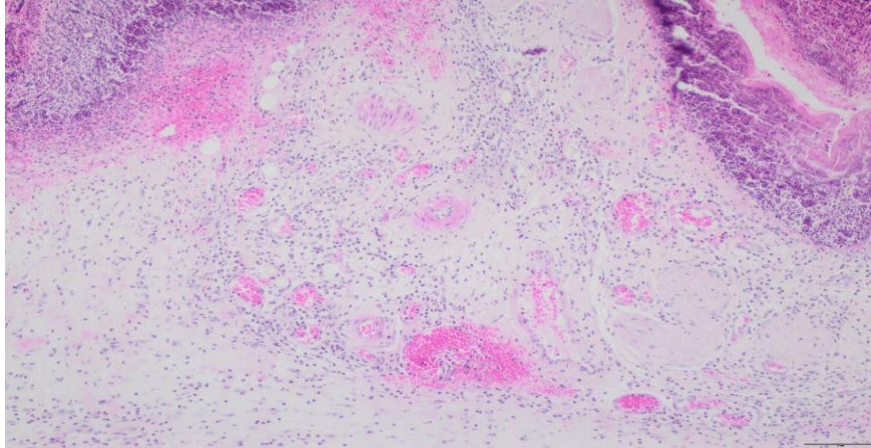
Gruplara ait yara alanı ölçümlerinin ortalama \pm standart sapma, medyan değerleri ile grup içi ve gruplar arası karşılaştırma sonuçları Tablo 2’de gösterildi.

4.3. Histopatolojik Bulgular

Kontrol: Üçüncü gün defekt oluşturulan alanda dermisin derin katmanlarına kadar uzanan belirgin ülserasyon dikkati çekmiştir. Ülserin komşuluğundaki epitel tabakasında re-epitelizasyona ilişkin bir bulguya rastlanmamıştır. Ülserin yüzeyi nekrotik hücre artıkları, ödem ve yoğun nötrofil lökosit infiltrasyonları ile örtülmüştür. Ülserin tabanında dermisin belirgin derecede ödemli olduğu, yer yer kanama ile birlikte orta düzeyde nötrofil lökosit ve makrofaj infiltrasyonlarının bulunduğu görülmüştür. Defekt alanına komşu dermiste ise rejeneratif faaliyetlerin başladığını işaret eden fibroblast proliferasyonları mevcuttur.

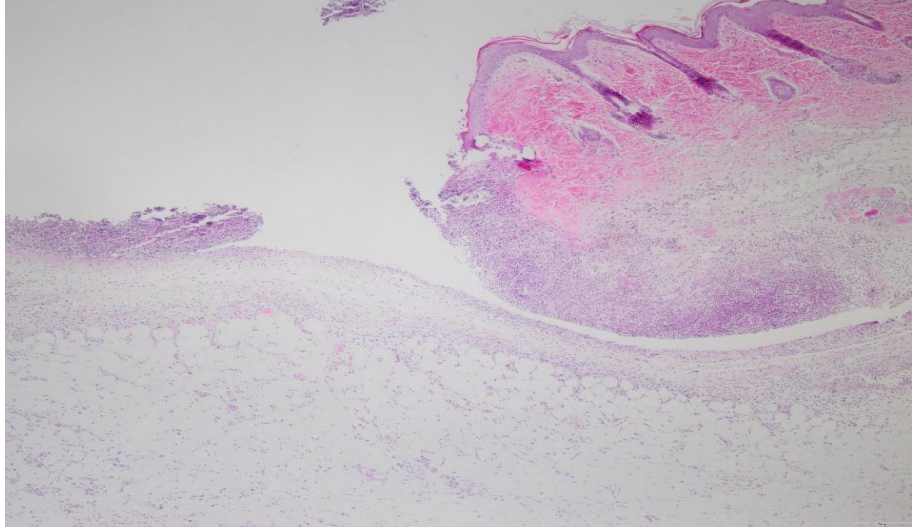


Resim 6. Defekt alanında ülser. Ülser yüzeyi nötrofil lökositlerden zengin eksudatla örtüldüğü görülmekte (K grubu – 3. Gün).

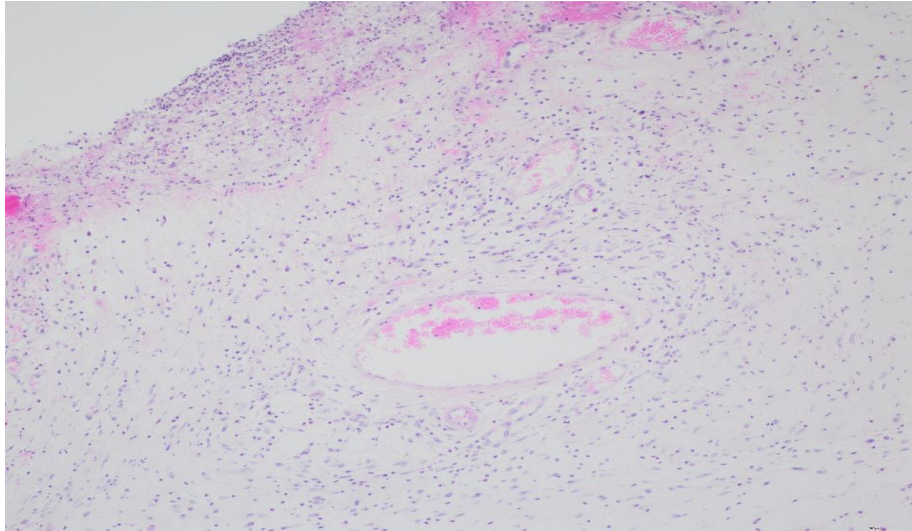


Resim 7. Ülserin tabanında dermiste ödem, damarlarda hiperemi ve orta düzeyde nötrofil lökosit ve makrofaj infiltrasyonları görülmekte (K grubu – 3. Gün).

Kitosan: Üçüncü gün kontrol grubuna benzer histopatolojik değişiklikler görülmüştür. Defekt alanında derin bir ülser şekillenmiştir. Re-epitelizasyona dair herhangi bir bulguya rastlanmamıştır. Ülserin yüzeyi nötrofil lökositlerden zengin eksudatla örtülmüştür. Ülserin tabanında dermis ödemli olup orta düzeyde nötrofil lökosit ve makrofaj infiltrasyonları görülmüştür. Defekt alanına komşu dermiste ise fibroblast sayısında artış görülmüştür.

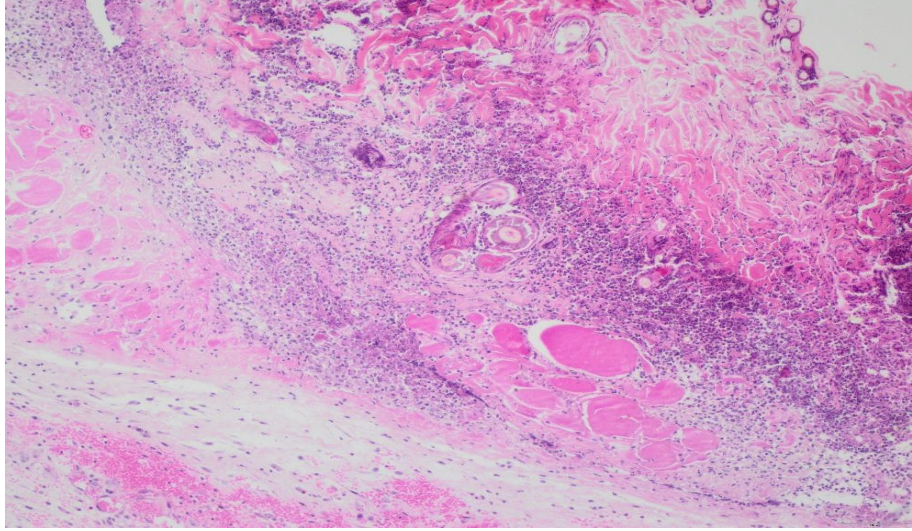


Resim 8. Defekt alanında ülser. Ülser yüzeyi nötrofil lökositlerden zengin eksudatla örtüldüğü görülmekte (C grubu – 3. Gün).

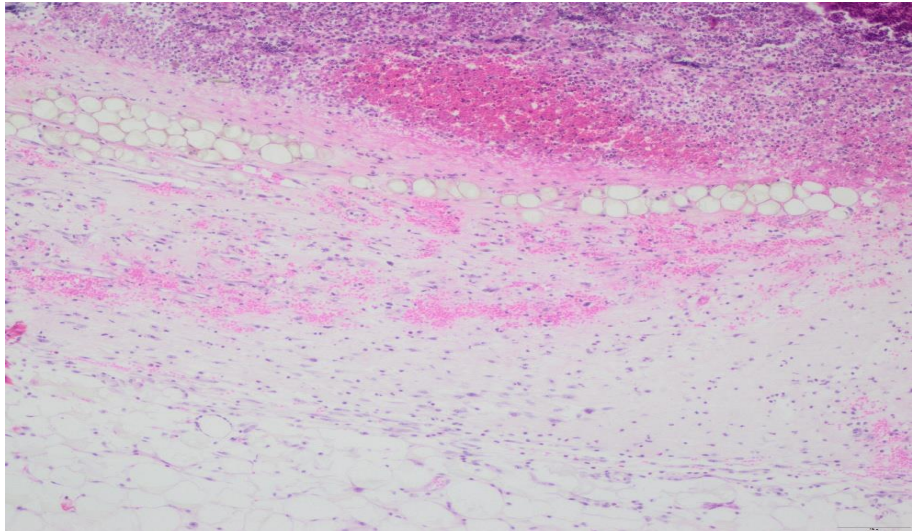


Resim 9. Ülserin komşuluğundaki dermiste yangısal hücre infiltrasyonları ile birlikte fibroblast sayısında artış görülmekte (C grubu – 3. Gün).

RAC: Üçüncü gün kontrol ve kitosan gruplarına benzer şekilde defekt alanında dermisin derin katmanlarına kadar uzanan ülser dikkat çekmiştir. Re-epitelizasyon başlamamıştır. Ülserin yüzeyi nötrofil lökositlerden zengin eksudatla örtülmüştür. Bununla birlikte kontrol ve kitosan gruplarından farklı olarak ülser tabanında yangısal hücre infiltrasyonu belirgin olarak azaldığı göze çarpmıştır. Ayrıca, ülser tabanında diğer gruplara kıyasla fibroblast sayısında belirgin bir artış görülmüştür.

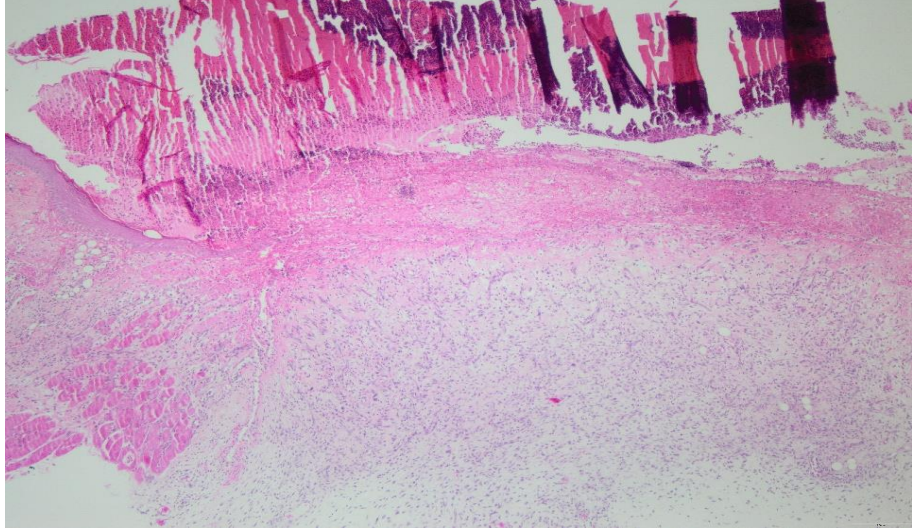


Resim 10. Defekt alanında ülser. Ülser yüzeyi nötrofil lökositlerden zengin eksudatla örtüldüğü görülmekte (RAC grubu – 3. Gün).

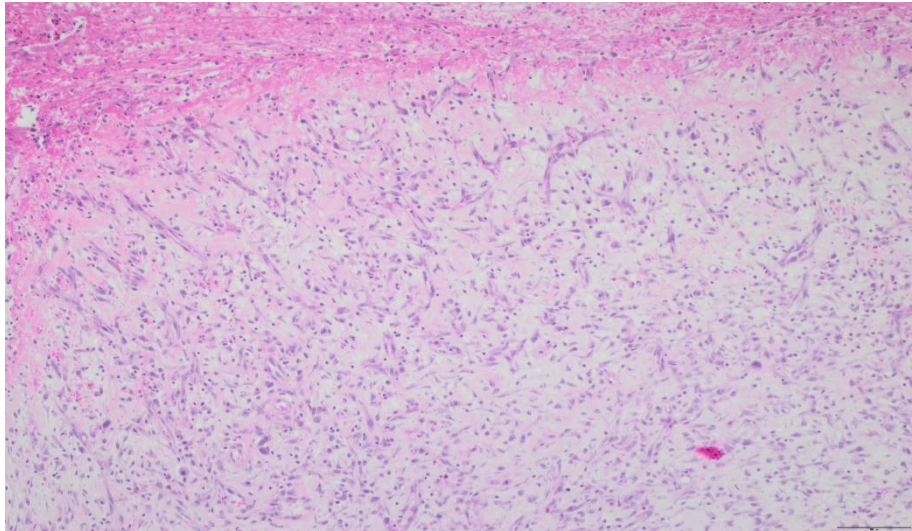


Resim 11. Ülserin tabanında dermiste hafif düzeyde yangısal hücre infiltrasyonu ve fibroblast proliferasyonu görülmekte (RAC grubu – 3. Gün).

Kontrol: Altıncı gün defekt alanında derin bir ülserasyon göze çarpmıştır. Ülserin yüzeyi ödem sıvısı ve nötrofil lökositlerden oluşan eksudatla örtülmüştür. Ülserin komşuluğundaki epitel tabakasında re-epitelizasyona ilişkin faaliyetlerinde başladığı göze çarpmıştır. Ülser tabanında ise yoğun fibroblast proliferasyonu ve belirgin yeni damar oluşumları ile birlikte az sayıda nötrofil lökosit ve makrofajlardan oluşan granülasyon dokusu şekillenmiştir.

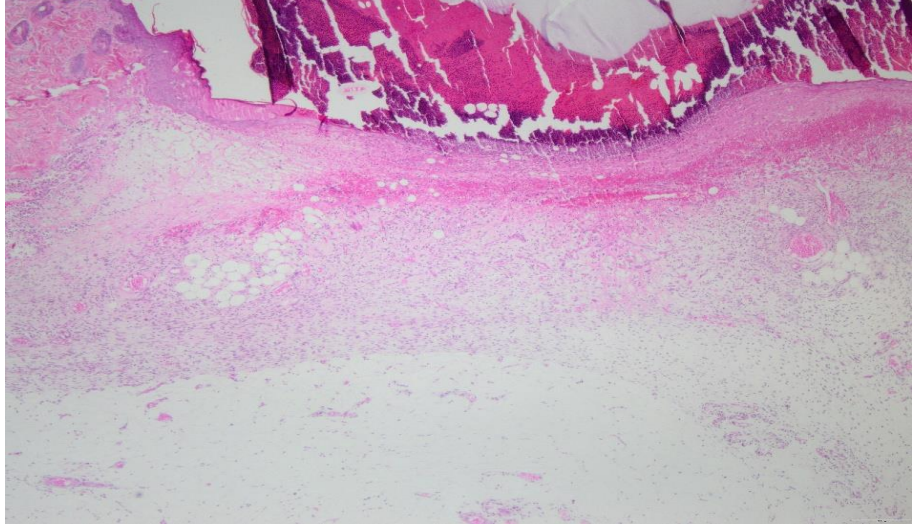


Resim 12. Defekt alanında ülser. Ülser yüzeyinin eksudatla örtüldüğü, tabanında ise granülasyon dokusunun şekillendiği görülmekte (K grubu – 6. gün).

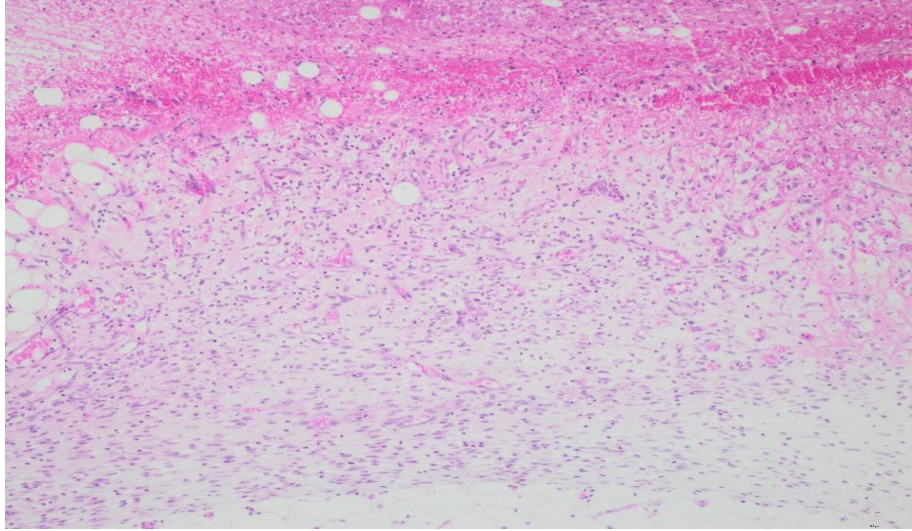


Resim 13. Ülser tabanında fibroblast proliferasyonu, yeni damar oluşumları ve az sayıda yangı hücrelerinden oluşan granülasyon dokusu görülmekte (K grubu – 6. gün).

Kitosan: Altıncı gün kontrol grubuna benzer şekilde histopatolojik değişiklikler görülmüştür. Ülser alanının yüzeyi eksudatla örtülmüştür. Ülserin kenarlarında epitel hücre proliferasyonları göze çarpmıştır. Ülserin tabanı granülasyon dokusu ile doldurulmuştur.

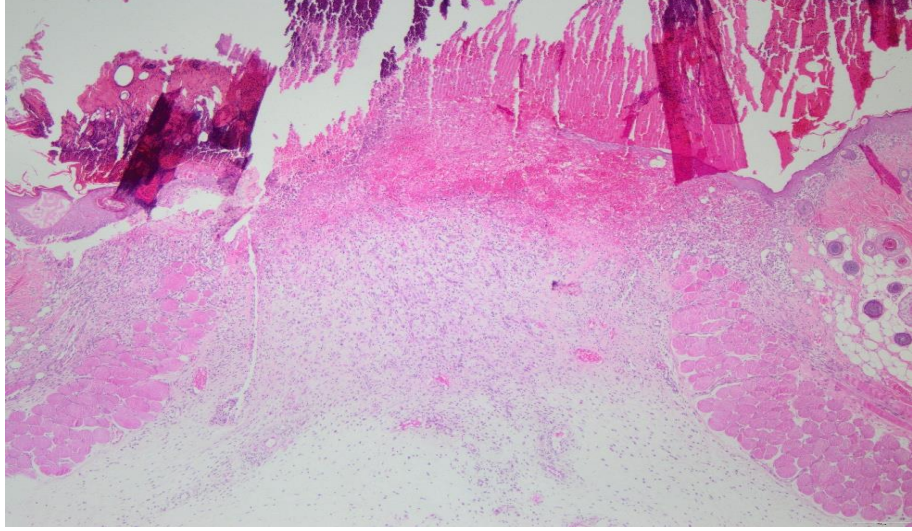


Resim 14. Ülserin yüzeyi eksudatla örtüldüğü, tabanında ise granülasyon dokusunun şekillendiği görülmekte (C grubu – 6. gün).

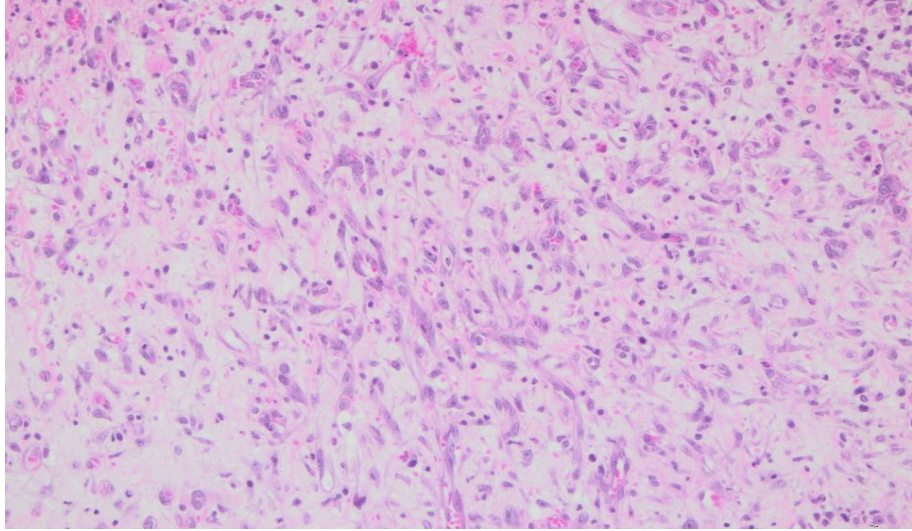


Resim 15. Ülser tabanında granülasyon dokusu görülmekte (C grubu – 6. gün).

RAC: Altıncı gün kontrol ve kitosan gruplarına benzer şekilde ülserin yüzeyi eksudatla örtülmüştür. Ülserin tabanı granülasyon dokusu ile doldurulmuştur. Bununla birlikte, diğer gruplara göre yara dudaklarının arasındaki mesafenin daha küçük olduğu ve ülser kenarlarında epitel proliferasyonunun daha belirgin olduğu görülmüştür.



Resim 16. Defekt alanında ülser. Ülser yüzeyinin eksudatla örtüldüğü, tabanında ise granülasyon dokusunun şekillendiği görülmekte (RAC grubu – 6. gün).



Resim 17. Ülser tabanında granülasyon dokusu görülmekte (RAC grubu – 6. gün).

5. TARTIŞMA

Deneysel in vivo yara iyileşme modelleri, doku onarımında yer alan dinamik hücresel ve moleküler olayları doğru bir şekilde izlemek için temel modeller olmaya devam etmektedir. Bunlar arasında, özellikle ratlar ve fareler olmak üzere kemirgen modelleri, çalışma kolaylıkları ve translasyonel önemleri nedeniyle en yaygın kullanılanlardır. Ratlar genellikle daha büyük vücut boyutları ve daha fazla dermal kalınlık ve daha yüksek sayıda keratinosit tabakası da dahil olmak üzere farklı deri özellikleri nedeniyle farelere tercih edilir; bu özellikler yara iyileşme süreçlerinin daha ayrıntılı gözlemlenmesine olanak tanımaktadır. Yara kapanması ratlarda yaklaşık 12-14 gün farelerde yaklaşık 7 gündür. Yara iyileşmesi ratlarda farelere kıyasla daha yavaş gerçekleşir ve farklı iyileşme aşamalarının daha kapsamlı bir şekilde değerlendirilmesini sağlamaktadır (Masson-Meyers ve diğerleri, 2020). Ratlarda yara iyileşme süreçleri, inflamasyon, proliferasyon ve remodelizasyon gibi ardışık aşamalar da dahil olmak üzere, insanlarla temel benzerlikler göstermektedir. Bu benzerlikler, onları terapötik ajanların etkinliğini değerlendirmek için değerli bir translasyonel model haline getirmektedir (Mukherjee ve diğerleri, 2022). Sunulan tez çalışmasında kutanöz yaraların hızlı iyileşmesi, düşük maliyeti, kolay bulunabilirliği ve küçük boyutlu olması gibi avantajları nedeniyle çalışmada ağırlıkları 210 – 380 g ağırlığında 20 – 24 haftalık toplam 27 adet Sprague Dawley cinsi dişi rat kullanılmıştır.

Yara iyileşmesi, birden fazla hücre tipi, sitokin, büyüme faktörü ve sinyal aracı içeren oldukça karmaşık ve iç içe geçmiş bir biyolojik süreçtir, bu durum iyileşme mekanizmalarının tam olarak aydınlatılmasını zorlaştırmaktadır (Wilkinson ve Hardman, 2020). Bu nedenle, in vivo modeller hem fizyolojik hem de patolojik iyileşme süreçlerini anlamamızda çok önemli bir rol oynamaktadır. Artan araştırma çabaları, iyileşme sonuçlarını iyileştirebilecek ve yara ile ilgili komplikasyonların yükünü azaltabilecek yeni terapötik stratejileri keşfetmeyi amaçlamaktadır (Velnar ve diğerleri, 2009). Son yıllarda, yara yönetiminde alternatif veya tamamlayıcı terapötik ajanlar olarak doğal ürünlere ve bitki kaynaklı bileşiklere olan ilgi artmaktadır. Bu biyoaktif bileşiklerin, özellikle fenolik asitler ve flavonoidlerin, güçlü antioksidan etkiler göstererek oksidatif stresi azalttığı ve anjiyogenez, fibroblast proliferasyonu ve hücre dışı matris oluşumu gibi temel süreçleri desteklediği gösterilmiştir (Agyare ve diğerleri, 2016; Yazarlu ve diğerleri, 2021).

Mevcut çalışma, antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri bilinen fenolik bir bileşik olan RA'nın, kitosan ile birlikte, deneysel rat modelinde yara iyileşme süreci üzerindeki potansiyel etkilerini değerlendirmeyi amaçlamıştır.

Deneysel metot ve yara modeli, literatürde bildirilen in vivo yara iyileşme metodolojilerine uygun olarak seçilmiştir. Hem insizyonel hem de eksizyonel yara modelleri benzer oranlarda yaygın olarak kullanılmaktadır; ancak eksizyonel modeller, ikincil iyileşmeye daha yakın olmaları ve inflamasyon, granülasyon dokusu oluşumu, anjiyogenez, yeniden epitelizasyon ve doku yeniden şekillenmesi de dahil olmak üzere yara iyileşmesinin temel aşamalarını kapsamlı bir şekilde yansıtmaya yetenekleri nedeniyle yaygın olarak kabul görmektedir (Dorsett-Martin, 2004; Masson-Meyers ve diğerleri, 2020). Çalışmada kullanılan eksizyonel yara modeli ve yara bölgesi yapılan çalışmaların çoğunda (%78,2) tercih edilen yöntemdir (Dorsett-Martin, 2004). Sırt interskapular bölgesinde tam kat kalınlıkta eksizyonel yaralar oluşturulmuştur ve yara bölgesi iyileşme dinamiklerinin hem makroskopik hem de histopatolojik olarak değerlendirilmesini sağlamıştır. Aynı hayvanda iki simetrik yaranın oluşturulduğu bilateral yara modelinin kullanımı, bireyler arası değişkenliği azaltmak ve her hayvanın kendi kontrolü olarak hizmet etmesine izin vererek karşılaştırmalı analizlerin güvenilirliğini artırmak için tercih edilen yaygın bir modeldir (Dunn ve diğerleri, 2013). Bu model, biyolojik varyasyonu en aza indirmekle kalmaz, aynı zamanda istatistiksel geçerliliği riske atmadan hayvan kullanımının azaltılmasına da katkıda bulunmaktadır.

Standartlaştırılmış 6 mm çapında bir biyopsi örneği alınması, tüm gruplarda tek tip yara boyutunu sağlamıştır. Yaraların anatomik konumu, hayvanın kendine uygulayabileceği travmayı sınırlayarak, iyileşme sürecine müdahale edebilecek potansiyel karıştırıcı faktörleri azaltmıştır. Bu metodolojik hususlar, daha önce bildirilen deneysel yaklaşımlarla (Gerharz ve diğerleri, 2007) tutarlı olup mevcut çalışmanın iç geçerliliğini ve tekrarlanabilirliğini güçlendirmektedir. Deney grupları; sol yara bölgesine RAC, sağ yara bölgesine C uygulanan grup; sol yara bölgesine RAC uygulanıp sağ yara bölgesi kontrol bırakılan grup ve sol yara bölgesine C uygulanıp sağ yara bölgesi kontrol bırakılan grup olmak üzere üç gruba ayrılmıştır ve böylece hayvana ilişkin yara iyileşmesi üzerine olası bireysel farklar ortadan kaldırılmıştır.

Yara iyileşme sürecinin objektif kriterlerle takip edilmesi, uygulanan terapötik ajanların etkinliğini belirlemek adına kritik bir öneme sahiptir. Literatürde yara alanındaki boyutsal değişikliklerin izlenmesi, tedaviye verilen yanıtın en somut göstergesi olarak kabul edilmektedir

(Rennert ve diğeri, 2009). İyileşme alanını belirlemek amacıyla dijital planimetri, manuel çizim ve fotoğraf analizi gibi çeşitli teknikler kullanılsa da, fotoğraf çekimi yöntemi yarayla temas gerektirmemesi ve doku morfolojisinin zamana bağlı değişimini kalıcı bir veri olarak kaydetmesi yönünden üstünlük sağlamaktadır (Samad ve diğeri, 2002). Yara sınırlarının tanımlanması öznel bir süreç olduğundan, ölçüm doğruluğu yüksek çözünürlük ve standart çekim protokollerine bağlıdır (Flanagan, 2003). Sunulan çalışmada yara sınırlarının belirlenebilmesi için kamera kullanılarak ve her çekimde yara yatağına paralel hizalanan cetvel vasıtasıyla kalibrasyon sağlanmıştır. Görüntüler üzerinde yapılan dijital büyütme işlemleri, epitelizasyon hattının hassas bir şekilde tanımlanmasına olanak tanımıştır. Ölçümlerde derinlik ve açı kaynaklı oluşabilecek hataları minimize etmek amacıyla tüm görüntüler standart ışık koşullarında ve 12 saatlik periyotlarla kaydedilmiştir. İmage J programı üzerinden görüntülerdeki piksel değerleri, bilinen bir referans uzunluk kullanılarak kalibre edilmiş, poligon yöntemi ile analiz edilerek yara alanı mm² olarak kaydedilmiştir ve böylece fotoğraf çekim mesafesi ile kamera açısının oluşturabileceği büyütme farklılıkları minimize edilerek gerçek yara alanı ölçümleri elde edilmiştir. İmage J programı dijital görüntüler üzerinden objektif ve tekrarlanabilir planimetrik analiz yapılmasına olanak sağlama nedeniyle deneysel yara iyileşmesi çalışmalarında yaygın olarak tercih edilmektedir (Chang ve diğeri, 2011 ; Aragón-Sánchez ve diğeri, 2017).

Çalışmanın bulguları makroskobik, histopatolojik ve kantitatif değerlendirmelerle kanıtlandığı üzere, deneysel gruplar arasında yara iyileşme dinamiklerinde belirgin farklılıklar göstermiştir. Kontrol grubunda, inflamasyon fazında hipodermise uzanan kalıcı ülserasyon, ülser yüzeyinde nekrotik kalıntılar görülmüştür. Nötrofil açısından zengin eksüdat, belirgin dermal ödem, vasküler hiperemi ve orta derecede nötrofil ve makrofaj infiltrasyonu kaydedilmiştir. Çalışmanın 3. gününde remodelizasyonun gözlemlenmeyişi uzamış bir inflamatuvar fazı göstermektedir. Çalışmanın 6. gününde, granülasyon dokusu oluşumu belirgin olmasına rağmen, eksüdatif materyalin varlığı ve gecikmiş epitel göçü, nispeten daha yavaş ve daha az organize bir iyileşme sürecini göstermektedir.

Kitosan tedavi edilen grupta, erken histopatolojik bulgular, derin ülserasyon ve eksüdat açısından zengin yara yüzeyleri de dahil olmak üzere, büyük ölçüde kontrol grubunun bulgularına paralellik göstermiştir. Yara bölgesine yakın bulunan dermiste fibroblast proliferasyonunda orta derecede bir artış, onarıcı süreçlerin başladığını göstermiştir. İyileşme tepkisinin ilerleyen

aşamalarda ivme kaybettiği görülmüştür; bu durum, zaman içinde yara alanı oranlarındaki azalmaya ilişkin makroskobik gözlemlerle tutarlıdır.

RAC ile tedavi edilen grup daha düzenli ve gelişmiş bir iyileşme sergilemiştir. Ülser oluşumu ve eksüdat varlığı başlangıçta diğer gruplarla karşılaştırılabilir olsada, 3. günden itibaren inflamatuvar hücre infiltrasyonunda belirgin azalma ve fibroblast proliferasyonunda belirgin bir artış gözlemlenmiştir. Altıncı güne gelindiğinde, tüm gruplarda ülser tabanında granülasyon dokusu oluşumu görülmüş, ancak RAC grubu, belirgin şekilde daha az yara alanı, yara kenarlarında daha belirgin epitel proliferasyonu ve daha organize bir granülasyon dokusu ile ayırt edilmiştir. Bu bulgular, RAC grubunda gelişmiş reepitelizasyonunu ve hızlandırılmış yara kontraksiyonunu göstermektedir. Kantitatif yara ölçümleri de bu gözlemleri destekleyerek, C grubuna kıyasla nispeten daha yavaş bir başlangıç yara kapanmasına rağmen, RAC ile tedavi edilen yaraların 4. günden itibaren yara alanında daha istikrarlı ve sürekli bir azalma gösterdiğini ve nihayetinde en küçük kalıcı yara boyutuna ulaştığını ortaya koymuştur. Genel olarak, bu sonuçlar, RAC tedavisi gören yaralardaki iyileşme sürecinin diğer gruplara kıyasla daha kontrollü, koordineli ve verimli bir şekilde ilerlediğini göstermiştir.

RA, yüksek ekstraksiyon özelliği, maliyet düşüklüğü, sürdürülebilirliği ve geniş çok yönlü farmakolojik aktivite profili nedeniyle bu çalışmada ana biyoaktif bileşik olarak seçilmiştir (Petersen ve Simmonds, 2003; Alagawany ve diğerleri, 2017). Yapısal olarak, RA, güçlü antioksidan kapasite sağlayan ve yara iyileşmesinde en önemli sınırlayıcı faktörlerden biri olan ROS'u doğrudan temizlenmesini ve böylece oksidatif doku hasarının önlenmesini sağlayan iki katekol grubunu içermektedir (Petersen ve Simmonds, 2003). Antioksidan aktivitesine ek olarak, RA, pro-inflamatuvar sitokinlerin baskılanması yoluyla güçlü anti-inflamatuvar etki, ikincil enfeksiyon riskini azaltan antimikrobiyal özellikler ve granülasyon dokusu oluşumunu destekleyen pro-anjiyojenik etkiler sergileyerek, yara iyileşmesinin tüm aşamalarına katkıda bulunmaktadır (Swarup ve diğerleri, 2007; Corral-Lugo ve diğerleri, 2016; Luo ve diğerleri, 2020). RA tek bir farmakodinamik mekanizmaya sahip sentetik ajanların aksine, birden fazla biyolojik süreci eş zamanlı olarak düzenleyen çok yönlü bir terapötik ajan olarak işlev görürken, bitki kökenli olması uzun süreli topikal uygulamalar için düşük toksisite ve yüksek biyoyumluluk sağlamaktadır (Bulgakov ve diğerleri, 2012; Kernou ve diğerleri, 2023).

Moleküler düzeyde, RA'nın özellikle TGF- β ekspresyonunu aşağı yönlü regüle ederek temel fibrotik sinyal yollarını baskıladığı, bunun da tip I kollajen sentezinin azalmasına ve ESM birikiminin kontrol altına alınmasına yol açtığı gösterilmiştir (Luo ve diğerleri, 2020). RA, nötrofil oksidatif patlamasını ve inflamatuvar ödem oluşumunu doza bağımlı bir şekilde azaltarak, yerleşik farmakolojik ajanlarla karşılaştırılabilir anti-inflamatuvar etkinlik göstermektedir (Swarup ve diğerleri, 2007). Bu moleküler ve hücresele etkiler, RAC ile tedavi edilen grubun erken evrelerde belirgin şekilde azalmış inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve daha organize bir yara mikroortamı sergilediği mevcut çalışmanın bulgularıyla tutarlı bulunmuştur. RAC grubunda histopatolojik olarak gözlemlenen azalmış nötrofil infiltrasyonu ve ödem, doğrudan anti-inflamatuvar ve antioksidan etkilerine bağlanabilir.

RAC ile tedavi edilen grupta gözlemlenen fibroblast çoğalmasındaki belirgin artış, hücresele sinyal yollarının modülasyonu yoluyla, proliferatif fazın gelişmiş aktivasyonunu düşündürmektedir. Bu durum, yara kenarlarında daha gelişmiş epitel çoğalması ve daha sonraki aşamalarda gözlemlenen yara dudakları arası mesafenin azalmasıyla da desteklenmiştir; bu da hızlandırılmış yeniden epitelizasyon ve yara kapanmasını göstermektedir. Erken yara kapanması kitosan grubunda daha belirgin görülmüş, RAC ile tedavi edilen yaralar 4. günden itibaren daha istikrarlı ve sürdürülebilir bir iyileşme seyri göstermiş ve sonuç olarak deney süresinin sonunda en küçük yara alanlarına ulaşmıştır. Bu bulgular birlikte ele alındığında, RA'nın oksidatif stresi baskılama, iltihabı azaltma, fibrotik yolları düzenleme ve fibroblast aktivitesini ve epitel yenilenmesini teşvik etme gibi çok faktörlü bir mekanizma yoluyla yara iyileşmesini hızlandırdığını göstermektedir.

Kitosan, biyo-uyumlu, biyolojik olarak parçalanabilir ve biyoaktif bir polimer olarak hemostaz, antimikrobiyal aktivite ve hücresele yanıtların modülasyonu dahil olmak üzere tamamlayıcı mekanizmalar yoluyla yara iyileşmesinde kritik bir rol oynamaktadır (Patrulea ve diğerleri, 2015; Ahmed ve Ikram, 2016). Polikasyonik yapısı, negatif yüklü hücresele bileşenler ve ESM molekülleriyle etkileşime girmeyi sağlayarak hücre yapışmasını, göçünü ve çoğalmasını kolaylaştırmaktadır (Ahmed ve Ikram, 2016). Kitosanın, polimorfik çekirdekli lökositlerin ve makrofajların göçünü ve aktivasyonunu artırarak yara iyileşmesinin erken inflamatuvar fazını uyardığı gösterilmiştir; bu hücreler, kalıntıların temizlenmesi ve doku onarımının başlatılması için gereklidir (Ueno ve diğerleri, 2001; Patrulea ve diğerleri, 2015).

Kitosan, fibroblast aktivitesini artırarak ve doku rejenerasyonu ve yeniden şekillenmesi için hayati önem taşıyan TGF- β ve PDGF gibi temel büyüme faktörlerinin salınımını indükleyerek granülasyon dokusu oluşumunu ve hücre dışı matris birikimini desteklemektedir (Patrulea ve diğerleri, 2015; Ueno ve diğerleri, 2001). Glikozaminoglikanlara yapısal benzerliği ve hidrofilik doğası da, epitelizasyonu ve genel iyileşme verimliliğini artırdığı bilinen nemli bir yara ortamının korunmasına katkıda bulunur (Ahmed ve Ikram, 2016). Antimikrobiyal ve anti-inflamatuar özellikleri enfeksiyon riskini ve aşırı inflamatuvar yanıtları azaltmaya yardımcı olarak iyileşme sürecini daha da destekler (Patrulea ve diğerleri, 2015).

Kitosan ile tedavi edilen grupta, özellikle erken zaman noktalarında, yara kapanmasında başlangıçta bir hızlanma gözlemlenmesi, literatür ile uyumlu olarak (Ueno ve diğerleri, 2001; Patrulea ve diğerleri, 2015) kitosanın yara iyileşmesinin erken inflamatuvar ve proliferatif evrelerini artırdığı gözlenmiştir. Bu etki daha sonraki aşamalarda plato çizmiş gibi görünmektedir; bu da kitosanın iyileşme sürecini etkili bir şekilde başlatırken, uzun vadeli doku rejenerasyonunu sürdürme yeteneğinin sınırlı olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızdaki histopatolojik bulgular bu gözlemi desteklemiş, orta düzeyde fibroblast proliferasyonu ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu göstermiştir, ancak RAC ile tedavi edilen grupta gözlemlenen düzeydeki kadar olmamıştır. Kitosanın bu veriler ışığında yara iyileşmesinin erken evrelerine önemli ölçüde katkıda bulunduğu, ancak sınırlı antioksidan kapasitesi ve nispeten orta düzeydeki anti-inflamatuar etkisinin, doku onarımının sonraki aşamalarında etkinliğini sınırlayabileceği ön görülmektedir. Kitosan tek başına, optimal ve sürdürülebilir yara iyileşmesi için gerekli olan karmaşık biyolojik süreçleri tam olarak düzenlemek için yeterli olmayabileceği düşünülmüştür.

RAC ile tedavi edilen grupta gözlemlenen üstün yara iyileşmesi, rosmarinik asidin biyoaktif özellikleri ile kitosanın biyomateryal özellikleri arasındaki sinerjik etkileşime bağlanabilir. Literatürde "ideal iskele" (scaffold) olarak tanımlanan kitosan, yara yatağını nemli tutarak hücre göçünü kolaylaştırır, lökositlerin ve makrofajların etkinliğini düzenleyerek doku onarımının en önemli aşaması olan granülasyon dokusu oluşumunu ve kollajen sentezini doğrudan stimüle etmektedir (Raafat ve Sahl, 2009). RA'nın tek başına klinik uygulanabilirliği, genellikle düşük biyoyararlanımı ve biyolojik ortamlardaki kararsızlığı nedeniyle sınırlıdır. Bu sınırlamaların üstesinden gelmek için, RA'nın kitosan bazlı dağıtım sistemlerine dahil edilmesinin, stabilitesini önemli ölçüde artırdığı, sürekli ve kontrollü salınım sağladığı, böylece yara bölgesindeki terapötik aktivitesini uzattığı gösterilmiştir (Huerta-Madroñal ve diğerleri, 2021; Zhang ve diğerleri, 2022).

Literatürde, RA yüklü kitosan bazlı nanopartikül sistemlerinin, eksizyonel yara modellerinde artan hidrokspirolin içeriği ve iyileştirilmiş histopatolojik organizasyon ile kanıtlandığı gibi, yara büzülmesini, epitel göçünü ve kollajen sentezini önemli ölçüde artırdığını göstermiştir (Casanova ve diğerleri, 2016; Ayaz ve diğerleri, 2025). RA'nın moleküler düzeydeki güçlü antibakteriyel, anti-inflamatuar ve antioksidan kapasitesi, kitosanın sağladığı ideal iskele ve biyofiziksel koruma ile birleştiğinde, tek başına kullanımlarına göre çok daha etkili bir tedavi ortaya çıkmaktadır.

Yapılan tez çalışmasında, gözlemlenen hızlı klinik iyileşme ve iyileştirilmiş histopatolojik sonuçlar (azalmış epitel defekt alanı ve gelişmiş doku organizasyonu ile karakterize), RA yüklü kitosan sistemlerinin deneysel modellerde yara büzülmesini, epitel göçünü ve kollajen sentezini önemli ölçüde iyileştirdiğini gösteren literatür ile uyumludur (Yılcı, 2015; Casanova ve diğerleri, 2016). RAC ile tedavi edilen grubun yara alanında en belirgin azalmayı gösterdiği ve azalmış inflammatuar hücre infiltrasyonu, artmış fibroblast proliferasyonu ve gelişmiş epitel rejenerasyonu gibi hızlandırılmış iyileşmeyi gösteren histopatolojik özellikler sergilediği mevcut çalışmanın sonuçlarıyla güçlü bir şekilde tutarlıdır. Kitosan tek başına öncelikle erken evre yara büzülmesini kolaylaştırırken, RA tek başına inflammatuar ve oksidatif yolları modüle etmiştir; ancak bunların kombinasyonu daha koordineli ve sürdürülebilir bir iyileşme yanıtı sağlamıştır. Bu nedenle, RA-kitosan sistemi, yapısal desteği moleküler düzenlemeyle bütünleştiren ve sonuç olarak deri yara iyileşmesinin hem hızını hem de kalitesini artıran gelişmiş bir biyofonksiyonel pansuman olarak kabul edilebilir.

Küba ve diğerleri (2017), %10 RA'nın topikal uygulamasının, eksizyonel yara modelinde yara büzülmesini önemli ölçüde hızlandırdığını ve RA grubunun kontrol ve dexpanthenol gruplarına kıyasla 21. günde en küçük yara boyutunu gösterdiğini bildirmiştir (Küba, 2017). Makroskopik iyileşmeye rağmen, histopatolojik parametrelerde anlamlı farklılıklar bulamamışlar ve RA grubunda (%37,5) kontrol (%75) ve dexpanthenol (%62,5) gruplarına kıyasla daha düşük epitelizasyon oranları gözlemlemişlerdir (Küba, 2017).

Chhabra ve diğerleri (2020), RA yüklü kitosan bazlı sistemlerin, eksizyonel yara modellerinde reaktif inflammatuar hücre infiltrasyonunu önemli ölçüde azaltırken aynı zamanda fibroblast yoğunluğunu, kollajen birikimini ve epitel rejenerasyonunu artırdığını göstermiş ve RA içeren sistemlerin hem aşırı inflamasyonu baskılamayı hem de doku onarım süreçlerini uyarmayı desteklediğini açıkça belirtmiştir. RA yüklü kitosan-grafen nanopocket sistemlerinin, hem kontrol

hem de tek ajan gruplarına kıyasla yara büzülmesini, epitel gücünü, kollajen organizasyonunu ve hidroksiprolin içeriğini önemli  l de artırdığını ve RA ile kitosan arasında açık bir sinerjik etki olduğunu bildirmiştir (Chhabra ve diğerleri, 2020).

Huerta-Madronal ve arkadaşları (2021), kitosan-RA konjugatlarının aktif makrofajlarda nitrik oksit üretimini önemli  l de azalttığını ve antioksidan aktiviteyi artırdığını, böylece RA'nın doku uyumluluğunu korurken moleküler düzeyde inflamatuvar yolların düzenlenmesine katkıda bulunduğunu doğruladığını bildirmişlerdir. RA'nın kitosana dahil edilmesinin, antimikrobiyal özellikleri korurken antioksidan ve anti-inflamatuvar kapasiteyi önemli  l de artırdığını ve kombinasyonun, her bir bileşenin tek başına etkilerinin ötesinde biyolojik aktiviteyi artırdığını göstermiştir (Huerta-Madroňal ve diğerleri, 2021). Bu bulgular, mevcut çalışmada RAC ile tedavi edilen grupta gözlemlenen azalmış inflamatuvar y k ile doğrudan örtüşmektedir. Bu bulgular, mevcut çalışmada RAC uygulanan grupta gözlemlenen azalmış inflamatuvar hücre infiltrasyonu, minimal eksüdasyon ve daha düzenli granülasyon dokusu oluşumu ile doğrudan uyumludur. Ayrıca histopatolojik incelemelerde, RAC grubunda fibroblast proliferasyonunun daha belirgin olması ve yara dudakları arasındaki mesafenin daha hızlı azalması, RA'nın yalnızca inflamasyonu baskılamakla kalmayıp aynı zamanda proliferatif iyileşme fazını da desteklediğini göstermektedir.

 avuşoğlu ve diğerlerinin (2023), diyabetik rat yara modelinde RA'nın etkilerini değerlendirmiş ve RA tedavisinin malondialdehit (MDA) seviyelerini önemli  l de azaltırken glutasyon (GSH) seviyelerini artırdığını, bunun da yara iyileşmesinin inflamatuvar ve proliferatif fazlarında lipid peroksidasyonunun azaldığını ve antioksidan kapasitenin arttığını gösterdiğini bildirmiştir ( avuşoğlu, 2023).

RA'nın kararsızlığı, düşük  z n rl ğ  ve biyolojik bariyerler boyunca düşük geçirgenliği gibi sınırlamaları, aktif bileşiğin korunmasını ve kontrollü salınımını sağlayan kitosan bazlı sistemlerle mikroenkapsülasyon yoluyla giderilmiştir (Casanova ve diğerleri, 2016). RA yüklü kitosan mikropartiküllerinin başlangıçta ani bir salınım gösterdiğini ve ardından 45 dakika içinde %90'a varan oranda sürekli bir salınım fazı izlediğini, bunun da etkili bir dağıtım kinetiği gösterdiğini ortaya koymuştur (Casanova ve diğerleri, 2016). Kitosan bazlı bir RA formülasyonunun kullanımının, biyoyararlanımı artırarak ve sürekli bir lokal terapötik etkiyi koruyarak yara iyileşmesini iyileştirdiğine dair mevcut çalışmayı desteklemektedir.

Ayaz ve diğlerleri (2025), %10'luk topikal RA'nın, organize kolajen birikimini teşvik ederek, inflamatuvar hücre infiltrasyonunu azaltarak ve epitel rejenerasyonunun göstergesi olan CK14 (Sitokeratin14) ekspresyonunu artırarak rat modelinde yara iyileşmesini iyileştirdiğini göstermiştir. Bu bulgular, RAC grubunun hem hızlandırılmış yara kapanması hem de iyileştirilmiş epitelizasyon sergileyerek daha etkili ve yapısal olarak organize bir iyileşme yanıtı gösterdiği mevcut çalışma ile tutarlıdır (Ayaz ve diğlerleri, 2025).

Zhang ve diğlerleri (2022), çeşitli kitosan-RA türevleri (kitosan-RA konjugatı, kitosan-RA tuzu) geliştirmiş ve RA'nın kitosana aşılmasının antioksidan kapasiteyi önemli ölçüde artırdığını, radikal temizleme aktivitesinin doğal kitosandaki %10'dan az olan değere kıyasla %90'ı aştığını ve inflamatuvar araçları belirgin şekilde baskıladığını göstermiştir. Trimetillenmiş kitosan-RA tuzu, 500 µg/mL'de nitrik oksit seviyelerini %20'nin altına düşürmüş ve belirgin bir sitotoksisite olmaksızın tümör nekroz faktörü-alfa üretimini önemli ölçüde inhibe etmiştir (Zhang ve diğlerleri, 2022). Bu bulgulara paralel olarak, çalışmamızda, RAC grubu, yara kapanmasının hızlandığını ve epitelizasyonun arttığını göstermiştir; bu da iyileşme yanıtının, RA tarafından aracılık edilen oksidatif stresin azaltılması ve inflamatuvar yolların baskılanmasıyla doğrudan ilişkili olduğunu desteklemektedir.

Yara alanı ölçümlerine ait sayısal veriler incelendiğinde, başlangıçta (0. saat) tüm gruplarda yaklaşık 28.3 ± 0.1 olarak mm² olarak standardize edilen yaraların iyileşme hızları arasında belirgin farklar saptanmıştır. Kırk sekizinci saate gelindiğinde ise K grubunda yara boyutu 22.3 ± 4.9 mm² seviyesinde kalırken, C grubunda 17.7 ± 4.4 mm² ve RAC grubunda 19.2 ± 2.4 mm² değerleri ölçülmüştür.

Deneyin 96. saatinden itibaren RAC grubundaki iyileşme ivmesi dikkat çekici bir stabilite kazanmıştır. Yüz yirminci saatte RAC grubu 10.5 ± 1.4 mm² ile en küçük yara alanına sahip grup olurken, K grubu 17.1 ± 4.2 mm² ile iyileşme sürecinde anlamlı derecede geride kalmıştır.

Yara iyileşmesinin makroskopik değerlendirmesi, yara büzülme dinamikleri ve klinik görünüm açısından deney grupları arasında belirgin farklılıklar ortaya koymuştur. Kontrol grubunda, erken evre iyileşme, irin içermeyen eksüdat, doku nekrozunu düşündüren grimsi-sarı renk değişikliği, ilerleyici yara genişlemesi ve artan nem ile karakterize olup, uzun süreli bir inflamasyon fazını ve proliferasyona geçişin gecikmesini göstermektedir. Benzer şekilde, kitosan grubu başlangıçta yara boyutunda bir azalma gösterebilir, büzülme hızı zamanla azalmış, bu da yara

kapanması üzerinde sınırlı bir kalıcı etki olduğunu düşündürmektedir. Buna karşılık, RAC grubu farklı bir iyileşme profili sergilemiştir; nispeten daha yavaş bir başlangıç büzülmesine rağmen, aşırı eksüdat, ödem ve enfeksiyonun yokluğu, ardından hızlı granülasyon dokusu oluşumu ve hızlandırılmış yara kapanması, inflamasyon ve proliferatif fazlardan daha kontrollü ve etkili bir ilerlemeyi göstermektedir. Kantitatif analiz de bu gözlemleri desteklemektedir.

Histopatolojik değerlendirme, gözlemlenen makroskopik farklılıkların altında yatan mekanizmalara ilişkin daha fazla bilgi sağlamıştır. Üçüncü günde, tüm gruplarda dermise kadar uzanan derin ülserasyon ve epitelizasyonun olmayışı; ancak kontrol ve kitosan gruplarında, yoğun nötrofil infiltrasyonu, belirgin ödem ve nekrotik kalıntılarla karakterize olup, yoğun ve sürekli bir inflamatuvar yanıt göstermiştir. RAC grubunda da ülserasyon mevcut olmasına rağmen, inflamatuvar hücre infiltrasyonunda belirgin bir azalma ve fibroblast proliferasyonunda belirgin bir artış gözlemlenmiştir; bu da proliferatif faza daha erken bir geçişi düşündürmektedir. Altıncı günde, tüm gruplarda granülasyon dokusu oluşumu görülmüştür; ancak bu dokunun kalitesi ve organizasyonu önemli ölçüde farklılık göstermiştir. Kontrol grubunda granülasyon dokusu gelişimiyle birlikte devam eden inflamasyon gözlemlenirken, kitosan grubunda epitel proliferasyonu yara kenarlarıyla sınırlı kalmıştır. RAC grubunda yara kenarları arasındaki mesafe azalmış ve epitel proliferasyonu daha belirgin hale gelerek yeniden epitelizasyonun hızlandığını göstermiştir. RAC grubu, daha etkili hücre dışı matris yeniden şekillenmesini destekleyen, gelişmiş fibroblast aktivitesine sahip daha organize bir granülasyon dokusu oluşturmuştur. Toplu olarak, bu bulgular, özellikle kitosan ile birleştirildiğinde rosmarinik asidin sadece aşırı inflamasyonu azaltmakla kalmayıp, aynı zamanda daha erken fibroblast aktivasyonunu ve epitel rejenerasyonunu da teşvik ederek doku düzeyinde daha koordineli ve verimli bir iyileşme sürecini desteklediğini göstermektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

“Rosmarinik Asitin Yara İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması: Deneysel Rat Modeli” isimli bu tez çalışmasından elde edilen veriler, istatistiksel analizler sonucunda değerlendirilmiş ve ilgili literatürle karşılaştırmalı biçimde yorumlanmıştır. Bu kapsamlı değerlendirme sonucunda, tez çalışmasının ortaya koyduğu başlıca sonuçlar aşağıda özetlenmiştir:

- Ratların, eksizyonel yara iyileşmesi çalışmaları için uygun deneysel modeller olduğu bulunmuştur. Yönetilebilir boyutları, kolay kullanımları, uygun mizaçları ve uygun sırt derisi anatomileri, çalışmanın standartlaştırılmış koşullar altında başarıyla yürütülmesine olanak sağlamıştır.
- Aynı hayvan üzerinde farklı tedavilerin veya kontrol koşullarının uygulandığı çift taraflı yara modeli kullanımı, bireyler arası değişkenliği azaltarak ve gruplar arasındaki karşılaştırmaların güvenilirliğini artırmıştır.
- Standartlaştırılmış dijital fotoğrafçılık ve ImageJ yazılım tabanlı yara alanı ölçümü, yara iyileşmesinin zaman içinde izlenmesi için objektif ve tekrarlanabilir bir yöntem sağlayarak, yara büzülmesindeki tedaviyle ilgili farklılıkların doğru bir şekilde değerlendirilmesine olanak tanımıştır.
- RAC grubu, C ve K gruplarına kıyasla, ilerleyici ve sürekli yara büzülmesi, belirgin eksüdat, ödem veya enfeksiyon olmaması ve gözlem süresinin sonunda en küçük yara alanı ile karakterize edilen en uygun makroskopik iyileşme modelini göstermiştir.
- Kitosan tedavisi tek başına, ilk yara büzülmesini ve fibroblast aktivasyonunu destekleyerek yara iyileşmesinin erken evresine olumlu katkıda bulunmuştur; ancak etkisi daha sonraki aşamalarda plato çizerek, kitosanın tek başına optimal uzun vadeli doku yenilenmesini sürdürmek için yeterli olmayabileceğini göstermektedir.
- Histopatolojik olarak, RAC grubu, diğer gruplara kıyasla daha düşük inflamatuvar hücre infiltrasyonu, daha az ödem, artmış fibroblast proliferasyonu, daha organize granülasyon dokusu oluşumu, azalmış yara alanı ve daha belirgin epitel proliferasyonu göstererek, doku düzeyinde daha koordineli ve etkili bir iyileşme yanıtı sergilemiştir.

- Çalışmanın bulguları önceki çalışmalarla uyumlu olarak RA'nın oksidatif stresi azaltma, aşırı inflamasyonu baskılama, fibrotik sinyalleme düzenleme, fibroblast aktivitesini ve epitel yenilenmesini teşvik etme gibi birden fazla mekanizma yoluyla yara iyileşmesini hızlandırdığını desteklemektedir. Bu etkilerin kitosan ile birleştirildiğinde, bu etkilerin polimerin iskele, nem tutma ve dağıtım destekleyici özellikleri sayesinde arttığı görülmektedir.
- Klinik ve histopatolojik bulgulara dayanarak, RA-kitosan karışımının, deri yaralarının iyileşme hızını ve kalitesini artırmada kitosan ile tedavi edilen ve tedavi edilmemiş kontrol yaralarına kıyasla daha üstün olduğu tespit edilmiştir.
- Çalışma süresince ciddi lokal komplikasyon, enfeksiyon veya önemli olumsuz klinik sonuç gözlemlenmediğinden, RA-kitosan karışımı, deneysel koşullar altında açık yara yönetimi için umut vadeden ve biyolojik olarak uyumlu bir topikal tedavi seçeneği olarak değerlendirilebilir.

Bu bulgular ışığında, RA-kitosan karışımı, deri yaralarının tedavisinde potansiyel bir terapötik alternatif olarak değerlendirilebilir; ancak, enfekte, kronik, iskemik ve diyabetik yaralar gibi farklı yara tiplerinde optimal dozunu, konsantrasyonunu, uygulama sıklığını, uzun vadeli güvenliğini ve etkinliğini belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak, bu çalışma, RA ve kitosan kombinasyonunun, tek başlarına uygulamalarına kıyasla daha üstün ve koordineli bir yara iyileşme yanıtı sağladığını göstermektedir. Bu durum, hızlandırılmış yara büzülmesi, gelişmiş epitelizasyon, azalmış inflamatuvar infiltrasyon ve iyileştirilmiş histopatolojik organizasyon ile kanıtlanmıştır. RA öncelikle oksidatif stresi, inflamasyonu ve fibrotik sinyal yollarını düzenlerken, kitosan yapısal destek, hücresel yapışma ve sürekli iletim sağlayarak, doku onarımının hem hızını hem de kalitesini artıran sinerjik bir etki yaratmaktadır. Daha önceki çalışmalarda ağırlıklı olarak biyokimyasal iyileşmeler veya sınırlı histopatolojik sonuçlar bildirilirken, mevcut bulgular bu kombine sistemin moleküler ve hücresel etkileri klinik ve histolojik olarak anlamlı iyileşme sonuçlarına dönüştürdüğünü açıkça göstermektedir. Bu nedenle, RAC formülasyonu, moleküler düzenlemeyi yapısal destekle bütünleştiren ve deri yaralarını iyileştirmek için potansiyel olarak etkili ve translasyonel bir yaklaşım sunan, umut vadeden bir biyofonksiyonel terapötik strateji olarak değerlendirilebilir.

KAYNAKLAR

- Adnan, S., Ranjha, N. M., Hanif, M., & Asghar, S. (2020). O-Carboxymethylated chitosan; A promising tool with in-vivo anti-inflammatory and analgesic properties in albino rats. *International journal of biological macromolecules*, 156, 531-536. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.038>
- Agyare, C., Boakye, Y. D., Bekoe, E. O., Hensel, A., Dapaah, S. O., & Appiah, T. (2016). African medicinal plants with wound healing properties. *Journal of ethnopharmacology*, 177, 85-100.
- Ahmed, S., & Ikram, S. (2016). Chitosan based scaffolds and their applications in wound healing. *Achievements in the life sciences*, 10(1), 27-37.
- Alagawany, M., Abd El-Hack, M. E., Farag, M. R., Gopi, M., Karthik, K., Malik, Y. S., & Dhama, K. (2017). Rosmarinic acid: Modes of action, medicinal values and health benefits. *Animal Health Research Reviews*, 18(2), 167-176.
- Anderson, K., & Hamm, R. L. (2012). Factors that impair wound healing. *Journal of the American College of Clinical Wound Specialists*, 4(4), 84-91.
- Aragón-Sánchez, J., Quintana-Marrero, Y., Aragón-Hernández, C., & Hernández-Herero, M. J. (2017). ImageJ: A Free, Easy, and Reliable Method to Measure Leg Ulcers Using Digital Pictures. *The International Journal of Lower Extremity Wounds*, 16(4), 269-273. <https://doi.org/10.1177/1534734617744951>
- Ayaz, H., Aktaş, A., & Aşır, F. (2025). Effect of Rosmarinic Acid in the Rat Experimental Wound Model. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*, 15(4). <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&profile=ehost&scope=site&authtype=crawler&jrnl=22501177&AN=184957609&h=CthPkbWcc85Uz6RE4910U2mW5bF2s1xGjjYMPAg%2BJadRY3WXdL67jcw7UCKNzCdstRuIDq36corZICtrMF9zUw%3D%3D&crl=c>
- Azevedo, M.-M., Lisboa, C., Cobrado, L., Pina-Vaz, C., & Rodrigues, A. (2020). Hard-to-heal wounds, biofilm and wound healing: An intricate interrelationship. *British Journal of Nursing*, 29(5), S6-S13. <https://doi.org/10.12968/bjon.2020.29.5.S6>

- Babensee, J. E. (2020). Inflammation, wound healing, the foreign-body response, and alternative tissue responses. İçinde *Biomaterials science* (ss. 737-746). Elsevier. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128161371000489>
- Bereznicki, L. (2012). Factors affecting wound healing. *Australian Pharmacist*, 31(6), 484-487.
- Bessa, L. J., Fazii, P., Di Giulio, M., & Cellini, L. (2015). Bacterial isolates from infected wounds and their antibiotic susceptibility pattern: Some remarks about wound infection. *International Wound Journal*, 12(1), 47-52. <https://doi.org/10.1111/iwj.12049>
- Beyer, S., Koch, M., Lee, Y. H., Jung, F., & Blocki, A. (2018). An in vitro model of angiogenesis during wound healing provides insights into the complex role of cells and factors in the inflammatory and proliferation phase. *International journal of molecular sciences*, 19(10), 2913.
- Borena, B. M., Martens, A., Broeckx, S. Y., Meyer, E., Chiers, K., Duchateau, L., & Spaas, J. H. (2015). Regenerative skin wound healing in mammals: State-of-the-art on growth factor and stem cell based treatments. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 36(1), 1-23.
- Bulgakov, V. P., Inyushkina, Y. V., & Fedoreyev, S. A. (2012). Rosmarinic acid and its derivatives: Biotechnology and applications. *Critical Reviews in Biotechnology*, 32(3), 203-217. <https://doi.org/10.3109/07388551.2011.596804>
- Cañedo-Dorantes, L., & Cañedo-Ayala, M. (2019). Skin Acute Wound Healing: A Comprehensive Review. *International Journal of Inflammation*, 2019, 1-15. <https://doi.org/10.1155/2019/3706315>
- Casanova, F., Estevinho, B. N., & Santos, L. (2016). Preliminary studies of rosmarinic acid microencapsulation with chitosan and modified chitosan for topical delivery. *Powder Technology*, 297, 44-49.
- Castilla, D. M., Liu, Z.-J., & Velazquez, O. C. (2012). Oxygen: Implications for Wound Healing. *Advances in Wound Care*, 1(6), 225-230. <https://doi.org/10.1089/wound.2011.0319>
- Chang, A. C., Dearman, B., & Greenwood, J. E. (2011). A comparison of wound area measurement techniques: Visitrak versus photography. *Eplasty*, 11, e18.
- Charlesworth, P., & Klaassen, M. F. (2024). *Chapple's Principles of Wound Care and Healing: The Physiological Challenge*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-031-53104-0>

- Chhabra, P., Chauhan, G., & Kumar, A. (2020). Augmented healing of full thickness chronic excision wound by rosmarinic acid loaded chitosan encapsulated graphene nanopockets. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 46(6), 878-888. <https://doi.org/10.1080/03639045.2020.1762200>
- Chong, D. L. W., Trinder, S., Labelle, M., Rodriguez-Justo, M., Hughes, S., Holmes, A. M., Scotton, C. J., & Porter, J. C. (2020). Platelet-derived transforming growth factor- β 1 promotes keratinocyte proliferation in cutaneous wound healing. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 14(4), 645-649. <https://doi.org/10.1002/term.3022>
- Corral-Lugo, A., Daddaoua, A., Ortega, A., Espinosa-Urgel, M., & Krell, T. (2016). Rosmarinic acid is a homoserine lactone mimic produced by plants that activates a bacterial quorum-sensing regulator. *Science Signaling*, 9(409). <https://doi.org/10.1126/scisignal.aaa8271>
- ÇAVUŞOĞLU, E. (2023). *Diyabetik Ratlarda Rosmarinik Asit Ve Karvakrol Uygulamasinin Yara İyileşmesinde Malondialdehit Ve Glutasyon Düzeylerine Etkisi* [TEZ]. GAZİ ÜNİVERSİTESİ.
- De Smet, G. H. J., Kroese, L. F., Menon, A. G., Jeekel, J., Van Pelt, A. W. J., Kleinrensink, G., & Lange, J. F. (2017). Oxygen therapies and their effects on wound healing. *Wound Repair and Regeneration*, 25(4), 591-608. <https://doi.org/10.1111/wrr.12561>
- Deng, L., Du, C., Song, P., Chen, T., Rui, S., Armstrong, D. G., & Deng, W. (2021). The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Diabetic Wound Healing. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021(1), 8852759. <https://doi.org/10.1155/2021/8852759>
- Dorsett-Martin, W. A. (2004). Rat models of skin wound healing: A review. *Wound Repair and Regeneration*, 12(6), 591-599. <https://doi.org/10.1111/j.1067-1927.2004.12601.x>
- Dumville, J. C., McFarlane, E., Edwards, P., Lipp, A., & Holmes, A. (2013). Preoperative skin antiseptics for preventing surgical wound infections after clean surgery. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (3). <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD003949.pub3/abstract>
- Dunn, L., Prosser, H. C., Tan, J. T., Vanags, L. Z., Ng, M. K., & Bursill, C. A. (2013). Murine model of wound healing. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (75), 50265.
- Eming, S. A., Krieg, T., & Davidson, J. M. (2007). Inflammation in wound repair: Molecular and cellular mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology*, 127(3), 514-525.

- Fasolo, J. M., Vizuete, A. F. K., Rico, E. P., Rambo, R. B., Toson, N. S., Santos, E., de Oliveira, D. L., Gonçalves, C. A., Schapoval, E. E., & Heriques, A. T. (2021). Anti-inflammatory effect of rosmarinic acid isolated from *Blechnum brasiliense* in adult zebrafish brain. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 239, 108874. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108874>
- Fazel Nabavi, S., Carlo Tenore, G., Daglia, M., Tundis, R., Rosa Loizzo, M., & Mohammad Nabavi, S. (2015). The cellular protective effects of rosmarinic acid: From bench to bedside. *Current Neurovascular Research*, 12(1), 98-105.
- Flanagan, M. (2003). Wound measurement: Can it help us to monitor progression to healing? *Journal of Wound Care*, 12(5), 189-194. <https://doi.org/10.12968/jowc.2003.12.5.26493>
- Flanagan, M. (2013). *Wound healing and skin integrity: Principles and practice*. John Wiley & Sons.
<https://www.google.com/books?hl=tr&lr=&id=0VqhGoN8HD0C&oi=fnd&pg=PT15&dq=Wound+Healing+and+Skin+Integrity&ots=Uytj82fmT8&sig=S0Uc2LeTkrBE4nVYN2YsevVjt8Y>
- Frasca, D., & Strbo, N. (2022). Effects of obesity on infections with emphasis on skin infections and wound healing. *Journal of dermatology and skin science*, 4(3), 5.
- Gerharz, M., Baranowsky, A., Siebolts, U., Eming, S., Nischt, R., Krieg, T., & Wickenhauser, C. (2007). Morphometric analysis of murine skin wound healing: Standardization of experimental procedures and impact of an advanced multitissue array technique. *Wound Repair and Regeneration*, 15(1), 105-112. <https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2006.00191.x>
- Goldberg, S. R., & Diegelmann, R. F. (2010). Wound healing primer. *Surgical Clinics*, 90(6), 1133-1146.
- Gonzalez, A. C. de O., Costa, T. F., Andrade, Z. de A., & Medrado, A. R. A. P. (2016). Wound healing-A literature review. *Anais brasileiros de dermatologia*, 91(5), 614-620.
- Goswami, A. G., Basu, S., Banerjee, T., & Shukla, V. K. (2023). Biofilm and wound healing: From bench to bedside. *European journal of medical research*, 28(1), 157.
- Gouin, J.-P., & Kiecolt-Glaser, J. K. (2012). The impact of psychological stress on wound healing: Methods and mechanisms. *Critical Care Nursing Clinics of North America*, 24(2), 201.

- Gould, L., Abadir, P., Brem, H., Carter, M., Conner-Kerr, T., Davidson, J., DiPietro, L., Falanga, V., Fife, C., Gardner, S., Grice, E., Harmon, J., Hazzard, W. R., High, K. P., Houghton, P., Jacobson, N., Kirsner, R. S., Kovacs, E. J., Margolis, D., ... Schmader, K. (2015). Chronic wound repair and healing in older adults: Current status and future research. *Wound Repair and Regeneration*, 23(1), 1-13. <https://doi.org/10.1111/wrr.12245>
- Guo, S., & DiPietro, L. A. (2010a). Factors Affecting Wound Healing. *Journal of Dental Research*, 89(3), 219-229. <https://doi.org/10.1177/0022034509359125>
- Guo, S., & DiPietro, L. A. (2010b). Factors Affecting Wound Healing. *Journal of Dental Research*, 89(3), 219-229. <https://doi.org/10.1177/0022034509359125>
- Han, S.-K. (2023). *Innovations and advances in wound healing*. Springer Nature. <https://books.google.com/books?hl=tr&lr=&id=8Re2EAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR5&dq=Innovations+andAdvances+inWound+Healing&ots=iuMQKILdr0&sig=zeeCKaakSRUiS8EjaBiErCkkPkA>
- Hess, C. T. (2011). Checklist for factors affecting wound healing. *Advances in skin & wound care*, 24(4), 192.
- Huerta-Madroñal, M., Caro-León, J., Espinosa-Cano, E., Aguilar, M. R., & Vázquez-Lasa, B. (2021). *Chitosan[?] Rosmarinic Acid conjugates for wound healing applications*. <https://digital.csic.es/handle/10261/264054>
- Hughes, O., MacQuhae, F., Rakosi, A., Herskovitz, I., & Kirsner, R. S. (2017). Stress and Wound Healing. İçinde K. França & M. Jafferany (Ed.), *Stress and Skin Disorders* (ss. 185-207). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-46352-0_19
- Ishihara, M. (2002). Photocrosslinkable chitosan hydrogel as a wound dressing and a biological adhesive. *Trends in Glycoscience and Glycotechnology*, 14(80), 331-341. <https://doi.org/10.4052/tigg.14.331>
- Ivanov, M., Kostić, M., Stojković, D., & Soković, M. (2022). Rosmarinic acid—modes of antimicrobial and antibiofilm activities of a common plant polyphenol. *South African Journal of Botany*, 146, 521-527. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.11.050>
- Janis, J. E., & Harrison, B. (2016). Wound healing: Part I. Basic science. *Plastic and reconstructive surgery*, 138(3S), 9S-17S.

- Kao, H.-K., Chen, B., Murphy, G. F., Li, Q., Orgill, D. P., & Guo, L. (2011). Peripheral blood fibrocytes: Enhancement of wound healing by cell proliferation, re-epithelialization, contraction, and angiogenesis. *Annals of surgery*, 254(6), 1066-1074.
- Kernou, O.-N., Azzouz, Z., Madani, K., & Rijo, P. (2023). Application of rosmarinic acid with its derivatives in the treatment of microbial pathogens. *Molecules*, 28(10), 4243.
- Kordestani, S. S. (2019). *Atlas of wound healing: A tissue engineering approach*. Elsevier Health Sciences.
<https://books.google.com/books?hl=tr&lr=&id=4PKPDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=atlas+of+wound+healing&ots=OpFOOvETRf&sig=9qjW8AxbH9IYmFG8ZdOaEUXguEM>
- Küba, M. C. (2017). *Ratlarda Oluşturulan Deneysel Yara Modelinde Yara İyileşmesi Üzerine Lokal Rosmarinik Asit Ve Topikal Dexpanthenol Uygulamalarının Karşılaştırılması* [TEZ]. DİCLE ÜNİVERSİTESİ.
- Landén, N. X., Li, D., & Stähle, M. (2016). Transition from inflammation to proliferation: A critical step during wound healing. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 73(20), 3861-3885. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2268-0>
- LaPelusa, A., & Dave, H. D. (2019). *Physiology, hemostasis*.
<https://europepmc.org/books/nbk545263>
- Lenarz, C. J., Watson, J. T., Moed, B. R., Israel, H., Mullen, J. D., & MacDonald, J. B. (2010). Timing of wound closure in open fractures based on cultures obtained after debridement. *JBJS*, 92(10), 1921-1926.
- Levy, J. H., Dutton, R. P., Hemphill III, J. C., Shander, A., Cooper, D., Paidas, M. J., Kessler, C. M., Holcomb, J. B., & Lawson, J. H. (2010). Multidisciplinary approach to the challenge of hemostasis. *Anesthesia & Analgesia*, 110(2), 354-364.
- Luo, Y., Ma, Z., Xu, X., Qi, H., Cheng, Z., & Chen, L. (2020). Anticancer effects of rosmarinic acid in human oral cancer cells is mediated via endoplasmic reticulum stress, apoptosis, G2/M cell cycle arrest and inhibition of cell migration. *J. BUON*, 25(2), 1245-1250.
- Martin, P., & Leibovich, S. J. (2005). Inflammatory cells during wound repair: The good, the bad and the ugly. *Trends in cell biology*, 15(11), 599-607.
- Martin, P., & Nunan, R. (2015). Cellular and molecular mechanisms of repair in acute and chronic wound healing. *British Journal of Dermatology*, 173(2), 370-378.

- Masson-Meyers, D. S., Andrade, T. A. M., Caetano, G. F., Guimaraes, F. R., Leite, M. N., Leite, S. N., & Frade, M. A. C. (2020). Experimental models and methods for cutaneous wound healing assessment. *International Journal of Experimental Pathology*, *101*(1-2), 21-37. <https://doi.org/10.1111/iep.12346>
- Mayhew, P. D., Freeman, L., Kwan, T., & Brown, D. C. (2012). Comparison of surgical site infection rates in clean and clean-contaminated wounds in dogs and cats after minimally invasive versus open surgery: 179 cases (2007–2008). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *240*(2), 193-198.
- Medzhitov, R. (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, *454*(7203), 428-435.
- Metcalf, D. G., & Bowler, P. G. (2013). Biofilm delays wound healing: A review of the evidence. *Burns & trauma*, *1*(1), 2321-3868.
- Mukherjee, P., Roy, S., Ghosh, D., & Nandi, S. K. (2022). Role of animal models in biomedical research: A review. *Laboratory Animal Research*, *38*(1), 18. <https://doi.org/10.1186/s42826-022-00128-1>
- OKAMOTO, Y., SHIBAZAKI, K., MINAMI, S., MATSUHASHI, A., TANIOKA, S., & SHIGEMASA, Y. (1995). Evaluation of chitin and chitosan on open wound healing in dogs. *Journal of Veterinary Medical Science*, *57*(5), 851-854. <https://doi.org/10.1292/jvms.57.851>
- Osakabe, N., Yasuda, A., Natsume, M., & Yoshikawa, T. (2004). Rosmarinic acid inhibits epidermal inflammatory responses: Anticarcinogenic effect of *Perilla frutescens* extract in the murine two-stage skin model. *Carcinogenesis*, *25*(4), 549-557.
- Palmieri, B., Vadalà, M., & Laurino, C. (2019). Nutrition in wound healing: Investigation of the molecular mechanisms, a narrative review. *Journal of Wound Care*, *28*(10), 683-693. <https://doi.org/10.12968/jowc.2019.28.10.683>
- Pang, Q., Lou, D., Li, S., Wang, G., Qiao, B., Dong, S., Ma, L., Gao, C., & Wu, Z. (2020). Smart Flexible Electronics-Integrated Wound Dressing for Real-Time Monitoring and On-Demand Treatment of Infected Wounds. *Advanced Science*, *7*(6), 1902673. <https://doi.org/10.1002/advs.201902673>

- Patrulea, V., Ostafe, V., Borchard, G., & Jordan, O. (2015). Chitosan as a starting material for wound healing applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 97, 417-426.
- Pence, B. D., & Woods, J. A. (2014). Exercise, Obesity, and Cutaneous Wound Healing: Evidence from Rodent and Human Studies. *Advances in Wound Care*, 3(1), 71-79. <https://doi.org/10.1089/wound.2012.0377>
- Periayah, M. H., Halim, A. S., & Saad, A. Z. M. (2017). Mechanism action of platelets and crucial blood coagulation pathways in hemostasis. *International journal of hematology-oncology and stem cell research*, 11(4), 319.
- Petersen, M., & Simmonds, M. S. (2003). Rosmarinic acid. *Phytochemistry*, 62(2), 121-125.
- Pierpont, Y. N., Dinh, T. P., Salas, R. E., Johnson, E. L., Wright, T. G., Robson, M. C., & Payne, W. G. (2014). Obesity and Surgical Wound Healing: A Current Review. *ISRN Obesity*, 2014, 1-13. <https://doi.org/10.1155/2014/638936>
- Pradhan, L., Nabzdyk, C., Andersen, N. D., LoGerfo, F. W., & Veves, A. (2009). Inflammation and neuropeptides: The connection in diabetic wound healing. *Expert reviews in molecular medicine*, 11, e2.
- Price, A., Grey, J. E., Patel, G. K., & Harding, K. G. (2021). *ABC of wound healing*. John Wiley & Sons. <https://www.google.com/books?hl=tr&lr=&id=Xm5OEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR6&dq=abc+of+wound+healing&ots=Ep9QzQAahn&sig=F7SRPNIWYeJO2PSM-ThmPtQaBCo>
- Raafat, D., & Sahl, H. (2009). Chitosan and its antimicrobial potential – a critical literature survey. *Microbial Biotechnology*, 2(2), 186-201. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2008.00080.x>
- Raziyeva, K., Kim, Y., Zharkinbekov, Z., Kassymbek, K., Jimi, S., & Saparov, A. (2021). Immunology of acute and chronic wound healing. *Biomolecules*, 11(5), 700.
- Rennert, R., Golinko, M., Kaplan, D., Flattau, A., & Brem, H. (2009). Standardization of wound photography using the wound electronic medical record. *Advances in skin & wound care*, 22(1), 32-38.

- Rodrigues, M., Kosaric, N., Bonham, C. A., & Gurtner, G. C. (2019). Wound Healing: A Cellular Perspective. *Physiological Reviews*, 99(1), 665-706. <https://doi.org/10.1152/physrev.00067.2017>
- Samad, A., Hayes, S., French, L., & Dodds, S. (2002). Digital imaging versus conventional contact tracing for the objective measurement of venous leg ulcers. *Journal of Wound Care*, 11(4), 137-140. <https://doi.org/10.12968/jowc.2002.11.4.26385>
- Sano, H., Ichioka, S., & Sekiya, N. (2012). Influence of oxygen on wound healing dynamics: Assessment in a novel wound mouse model under a variable oxygen environment. *PLoS one*, 7(11), e50212.
- Sgonc, R., & Gruber, J. (2013). Age-related aspects of cutaneous wound healing: A mini-review. *Gerontology*, 59(2), 159-164.
- Siddiqui, A. R., & Bernstein, J. M. (2010). Chronic wound infection: Facts and controversies. *Clinics in dermatology*, 28(5), 519-526.
- Simões, D. (2018). *Development of a new bioactive membrane to be used for the treatment of skin injuries* [Master's Thesis, Universidade da Beira Interior (Portugal)]. <https://search.proquest.com/openview/acd27ed147456c42dc5ffcdc95b33588/1?pq-origsite=gscholar&cbl=2026366&diss=y>
- Singh, S., Young, A., & McNaught, C.-E. (2017). The physiology of wound healing. *Surgery (Oxford)*, 35(9), 473-477.
- Stechmiller, J. K. (2010). Understanding the Role of Nutrition and Wound Healing. *Nutrition in Clinical Practice*, 25(1), 61-68. <https://doi.org/10.1177/0884533609358997>
- Swarup, V., Ghosh, J., Ghosh, S., Saxena, A., & Basu, A. (2007). Antiviral and Anti-Inflammatory Effects of Rosmarinic Acid in an Experimental Murine Model of Japanese Encephalitis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(9), 3367-3370. <https://doi.org/10.1128/aac.00041-07>
- Ud-Din, S., & Bayat, A. (2016). Non-invasive objective devices for monitoring the inflammatory, proliferative and remodelling phases of cutaneous wound healing and skin scarring. *Experimental Dermatology*, 25(8), 579-585. <https://doi.org/10.1111/exd.13027>
- Ueno, H., Mori, T., & Fujinaga, T. (2001). Topical formulations and wound healing applications of chitosan. *Advanced drug delivery reviews*, 52(2), 105-115.

- Vachhrajani, V., & Khakhkhar, P. (2020). *Science of Wound Healing and Dressing Materials*. Springer Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-32-9236-9>
- Velnar, T., Bailey, T., & Smrkolj, V. (2009). The Wound Healing Process: An Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms. *Journal of International Medical Research*, 37(5), 1528-1542. <https://doi.org/10.1177/147323000903700531>
- Wang, W., Lin, S., Xiao, Y., Huang, Y., Tan, Y., Cai, L., & Li, X. (2008). Acceleration of diabetic wound healing with chitosan-crosslinked collagen sponge containing recombinant human acidic fibroblast growth factor in healing-impaired STZ diabetic rats. *Life sciences*, 82(3-4), 190-204. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2007.11.009>
- Wild, T., Rahbarnia, A., Kellner, M., Sobotka, L., & Eberlein, T. (2010). Basics in nutrition and wound healing. *Nutrition*, 26(9), 862-866.
- Wilkinson, H. N., & Hardman, M. J. (2020). Wound healing: Cellular mechanisms and pathological outcomes. *Open biology*, 10(9). <https://royalsocietypublishing.org/rsob/article/10/9/200223/91045>
- Williams, J. Z., & Barbul, A. (2012). Nutrition and wound healing. *Critical Care Nursing Clinics*, 24(2), 179-200.
- Yazarlu, O., Iranshahi, M., Kashani, H. R. K., Reshadat, S., Habtemariam, S., Iranshahi, M., & Hasanpour, M. (2021). Perspective on the application of medicinal plants and natural products in wound healing: A mechanistic review. *Pharmacological research*, 174, 105841.
- Yilanci, S. B., YY; Yuzbasioglu, M; Unlu, RE; Orhan, E; Simon, A; Tóth, G; Demirezer, LO; Kuruuzum-Uz, A. (2015). The evaluation of wound healing potential of rosmarinic acid isolated from *Arnebia purpurea*. *Planta Medica*, 81(16), PM_135. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1565512>
- Zhang, J., Wang, L., Tan, W., Li, Q., Dong, F., & Guo, Z. (2022). Preparation of chitosan-rosmarinic acid derivatives with enhanced antioxidant and anti-inflammatory activities. *Carbohydrate polymers*, 296, 119943.
- Zhao, R., Liang, H., Clarke, E., Jackson, C., & Xue, M. (2016). Inflammation in chronic wounds. *International journal of molecular sciences*, 17(12), 2085.

EKLER

Ek 1. Etik Kurul Formu



T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(ADÜ-HADYEK)



Aydın 06/08/2024

Oturum : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2024 Yılı VII. Oturum
Sayı : 64583101/2024/54
Proje Başlığı : Rosmarinik asidin yara iyileşmesi üzerine etkilerinin araştırılması.
Proje Yürütücüsü : Büşra Kibar KURT
Proje Ekibi : Abdulsamet BİLGİÇ

Bu çalışmanın hiçbir bölümünde
İnsan embriyosu ve fötüsü kullanılması
İnsan embriyosu ve fötüsü dokularının kullanılması
Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması
Hayvan Çalışması İnsanlarda araştırma
İnsan olmayan primatların kullanılması
Transgenik hayvanların kullanılması
Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.

Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır.

Prof. Dr. Turhan DOST
Başkan

Doç. Dr. Cengiz ÜNSAL
Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Mehmet Dinçer BİLGİN
Üye

Prof. Dr. Yücel BAŞIMOĞLU KOCA
Üye
(yıllık izinli)

Doç. Dr. Mehmet GÜLER
Üye
(yıllık izinli)

Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin ŞEKER
Üye

Öğr. Gör. Vet. Hek. Asude Gülce
ORYAŞIN
Üye

Öğr. Gör. Vet. Hek. Meltem
ÖZTÜRK AYDIN
Üye

Vet. Hekim Birgül ÜNAL
Üye

Filiz ÇELEBİOĞLU
Üye
(Mazeretli)

*Bu rapor, sadece Adnan Menderes Üniversitesi'nde yapılacak çalışmalar için geçerlidir.

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“Rosmarinik Asitin Yara İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması” başlıklı Yüksek Lisans tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Abdulsamet BİLGİÇ

ÖZ GEÇMİŞ

Soyadı, Adı	BİLGİÇ Abdulsamet
Uyruk	Türkiye Cumhuriyeti
Doğum yeri ve tarihi	Adıyaman / 19.04.1999
Telefon	0 5446795760
E-posta	sametbilgic592@gmail.com
Yabancı dil	İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	T.C. Aydın Adnan Menderes Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı	2026
Lisans	T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi	2023