



Hemostatik ajan Ankaferd'in yara iyileşmesi üzerine etkileri

The effects of Ankaferd, a hemostatic agent, on wound healing

Sevgi Özbaysar Sezgin, Gülbahar Ceylan Saraç*, Emine Şamdancı**, Mustafa Şenol***

Tatvan Can Hastanesi, Bitlis, Türkiye

*Malatya Devlet Hastanesi, Malatya, Türkiye

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji, *Dermatoloji Anabilim Dalı, Malatya, Türkiye

Özet

Amaç: Yara iyileşmesinde, iyileşmede rol alan faktörleri (enflamatuvar hücreler, trombositler, mediyatörler, hücre dışı matriks vb.) etkileyerek, bu fazlara ait süreleri kısaltmak ve ideal skar oluşumunu sağlamak amacıyla pek çok topikal ve sistemik ajan kullanılmaktadır. Ankaferd, geleneksel olarak Türk tıbbında kullanılan beş bitkisel içeriğin çeşitli oranlarda karıştırılarak hazırlanan ve hemostatik ajan olarak kullanılan bir ekstraktır. Çalışmamızda Ankaferd'in yara iyileşmesi üzerine olan etkileri incelendi.

Gereç ve Yöntem: Bu amaçla, her biri 9 denekten oluşan 4 gruba ayrılmış 32 ratın sırt bölgesinde 8 mm'lik punch biyopsi iğneleri ile yaralar açıldı. Kontrol grubu olan D grubunda tedavi uygulanmazken, A grubuna topikal olarak günde iki defa Ankaferd, B grubuna günde iki defa gümüş sülfadiazin ve C grubuna günde iki defa aktif madde içermeyen baz krem uygulandı. Denekler makroskopik olarak 15 gün boyunca takip edildi ve 0., 3., 7. ve 15. günlerde yine punch biyopsi iğneleri ile biyopsiler alınarak histopatolojik olarak incelendi.

Bulgular: Çalışmamızın sonunda, Ankaferd'in kontrol ve baz krem kullanılan gruba kıyasla, makroskopik ve histopatolojik bulgulara bakılarak, iyileşme sürecini hızlandırdığı tespit edildi. Ancak gümüş sülfadiazin uygulanan grupta da benzer şekilde makroskopik ve histopatolojik olarak iyileşmenin, kontrol grubu ve baz krem kullanılan gruba kıyasla hızlı olduğu görüldü.

Sonuç: Etkinliğinin tam olarak ortaya konulabilmesi için, daha geniş popülasyonlar üzerinde yapılacak deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır. (Türkderm 2015; 49: 218-21)

Anahtar Kelimeler: Ankaferd, yara iyileşmesi, hemostatik ajan

Summary

Background and Design: There have been a lot of topical and systemic agents to provide an ideal scar formation and to decrease the periods of wound healing process by affecting the factors of healing (inflammatory cells, thrombocytes, extracellular matrix etc.). In this study, we investigated the effects of Ankaferd on wound healing.

Materials and Methods: Wounds were created with 8 mm punch biopsy knots on the back of 32 rats which were separated into 4 groups of 9 rats. No treatment was done in group D which was the control group while group A received topical Ankaferd treatment twice a day; group B treated with silver sulfadiazine twice a day, and group C put on base cream, which did not include any active agent, twice a day. The rats were followed for 15 days macroscopically and examined histopathologically on days 0., 3., 7., and 15. by taking biopsy specimens.

Result: At the end of our study, it was detected that Ankaferd accelerated the healing process in comparison to control and base cream groups according to the macroscopic and histopathologic results. Additionally, similar to this situation, it was observed that the healing process in silver sulfadiazine group was faster than in control and base cream groups.

Conclusion: More experimental and clinical studies in larger populations are needed to prove and confirm its efficacy. (Türkderm 2015; 49: 218-21)

Key Words: Ankaferd, wound healing, hemostatic agent

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Gülbahar Ceylan Saraç, Malatya Devlet Hastanesi, Malatya, Türkiye
Tel.: +90 505 873 67 28 E-posta: drceylan@myynet.com **Geliş Tarihi/Received:** 18.04.2014 **Kabul Tarihi/Accepted:** 07.07.2014

Türkderm-Deri Hastalıkları ve Frengi Arşivi Dergisi, Galenos Yayınevi tarafından basılmıştır.
Türkderm-Archives of the Turkish Dermatology and Venerology, published by Galenos Publishing.

Giriş

Son yıllarda, yara iyileşmesi mekanizması daha iyi anlaşılmış ve yara iyileşmesini etkileyen birçok lokal ve sistemik faktör belirlenmiştir. Hayvan modellerinde, yara iyileşmesini hızlandıran çok sayıda büyüme faktörü ve sitokin rapor edilmiştir. Yara iyileşmesinde; parankimal büyüme faktörleri, çeşitli mediyatörler, kan elemanları, ekstraselüler matriks ve parankimal hücreler rol almaktadır¹.

Ankaferd Blood Stopper (ABS), geleneksel Türk hekimliğinde hemostatik ajan olarak kullanılmış bir bitkisel ekstraktır. İçeriğinde, Glycrrhiza glabra, Vitis vinifera ve Alphina Officinarum'un kurutulmuş yaprak ekstreleri, Urtica Dioica'nın kurutulmuş kök ekstresi ve Thymus Vulgaris'in kurutulmuş ot ekstresi bulunmaktadır². Bu bitkisel karışım; endotel, kan hücreleri, damar oluşumu (anjiojenesis), hücreler çoğalma, vasküler dinamikler ve değişik mediyatörler üzerinde etkilidir. Etkili kan durdurucu özellikleri olan Ankaferd'in, aynı zamanda güçlü antibakteriyel özellikleri olduğu gösterilmiştir. Dış hekimlerinin kanamayı kontrol amacı ile kullanımları sırasında, yaraların da hızla iyileştiği gözlenmiştir³. Buradan hareketle, bu bitkisel ekstrenin deneysel olarak oluşturulmuş yaralar üzerindeki etkilerini, plasebo ve yara iyileştirici etkisi iyi bilinen gümüş sülfadiazin ile karşılaştırmayı planladık. Eğer yara iyileştirici etkisi kanıtlanabilirse, deri ve mukozalarda, kronik ülser ve yara ile seyreden pek çok hastalığın tedavisinde yeni bir alternatif olacaktır.

Gereç ve Yöntem

Deney hayvanları ve deney planı

Çalışma öncesi, Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan 12.10.2009 tarih ve 2009/26 sayılı karar ile onay alındı. Deney hayvanı olarak; 36 adet Wistar türü, 32-36 haftalık, 200-250 gr ağırlığında dişi sıçanlar kullanıldı. Hayvanlar, tekli kafeslerde ve oda sıcaklığında tutuldu. Deney hayvanlarına, su ve uygun diyet verilerek, 12 saatlik aydınlık-karanlık siklusları altında yaşamaları sağlandı. İntraperitoneal olarak uygulanan 60 mg/kg ketamin anestezisini takiben, tüm hayvanların sırt bölgesi tıraşlanıp, 8 mm'lik punch biyopsi iğneleri yardımıyla, her hayvanın sırt orta kesiminde birer adet yara oluşturuldu. Hayvanların sırtında oluşturulan yara gösterilmiştir (Resim 1).

Her grupta 9'ar adet denek kullanıldı ve gruplar; grup A: Ankaferd grubu (n=9), grup B: Gümüş sülfadiazin (Silverdin) grubu (n=9), grup C: Baz krem (Basis krem) grubu (n=9), grup D: Tedavisiz kontrol grubu (n=9) olarak randomize edildi.



Resim 1. Hayvanların sırtında oluşturulan yara gösterilmiştir

Grup A'daki hayvanlara günde iki defa Ankaferd solüsyon, grup B'deki hayvanlara günde iki defa gümüş sülfadiazin krem, grup C'teki hayvanlara günde iki defa aktif madde içermeyen baz krem uygulandı. Grup D'deki kontrol grubuna ise herhangi bir tedavi uygulanmadı, yaralar kendi halinde iyileşmeye bırakıldı.

Bu uygulamaya 15 gün boyunca devam edildi. Oluşturulan yaralar makroskopik olarak değerlendirilip, 0., 3., 7. ve 15. günlerde fotoğraflandı.

Histopatolojik inceleme

Yüzde onluk formaldehit içerisinde tespit edilmiş deri punch örnekleri, rutin doku takip işlemleri sonrasında parafine gömüldü. Parafin bloklardan 5 mikrometre (μm) kalınlığında elde edilen kesitler, Hemotoksilen Eozin (H-E) ile boyanarak ışık mikroskopunda değerlendirildi.

Biyopsi örneklerinde epidermis ve dermisdeki histomorfolojik değişiklikler ve gruplar arasındaki farklılıklar değerlendirildi. Histomorfolojik kriterler olarak; epidermal ülser ve reepitelizasyon ile dermal enflamasyon kullanıldı. Skorlama aşağıda gösterildiği şekilde yapıldı: Ülser ve reepitelizasyon için;

0: Yok

1: Yara yerinin 1/3'ünde

2: Yara yerinin 2/3'ünde

3: Yara yerinin tamamında

Enflamasyon şiddeti için;

0: Yok

1: Hafif

2: Orta

3: Şiddetli

İstatistiksel analizler

İstatistik incelemede, SPSS for Windows istatistik paket programının 15.0 versiyonu kullanıldı. Rakamsal değerler, ortalama (X) ve standart sapma (SD) olarak ifade edildi. Grupların karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. İkili karşılaştırmalar, en küçük önemli fark (LSD) yöntemi ile incelendi. $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Makroskopik bulgular

Denekler her gün makroskopik incelemeye tabi tutuldu. Makroskopik değerlendirme fotoğraflama yöntemi ile yapıldı. On beş günlük dönem içerisinde herhangi bir grupta denek kaybı meydana gelmedi. A ve B gruplarındaki yaralar çok hızlı ve komplikasyonsuz iyileşme sergiledi. B grubundaki 1 denneğin biyopsi hattının dahi kaybolduğu fark edildi. Grup D, yara iyileşmesinin en kötü izlendiği grup oldu. Yara yüzeyinde yara kabuklarının kaldığı denekler görüldü. Grup C'de de komplikasyonsuz yara iyileşmeleri görüldü. Ancak iyileşmelerin grup A ve B kadar iyi olmadığı fark edildi. Biyopsi alınan bölgenin A ve B grubu kadar küçülmediği izlendi, fakat yaralar içerisinde enfeksiyon bulgularına rastlanmadı. Tüm gruplar içerisinde sıralama yapacak olursak, iyiden kötüye yara iyileşme kalitesi makroskopik olarak; ilk sırada grup B, ikinci sırada grup A, üçüncü sırada grup C ve son sırada grup D sıralanabilir. Resim 2'de, gruplara ait yara iyileşme görüntüleri yer almaktadır.

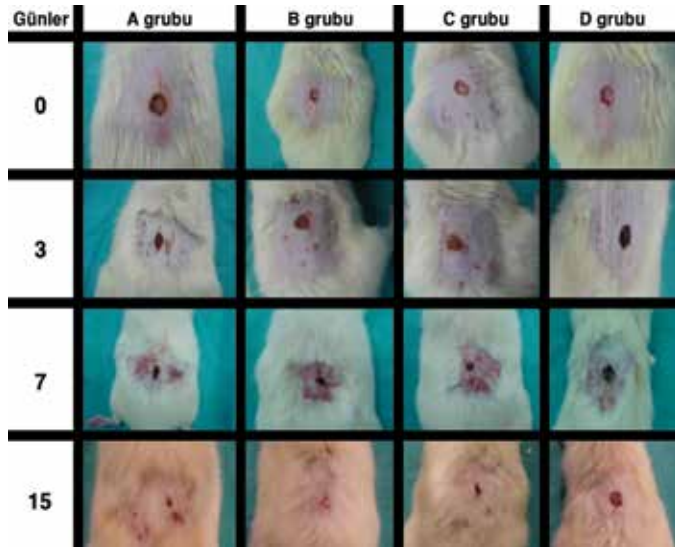
Histopatolojik bulgular

Histolojik inceleme, daha önce bahsettiğimiz skorlama esasları içerisinde 0. gün, 3. gün, 7. gün ve 15. günlerdeki bulgular değerlendirilerek yapıldı. Belirtilen günlere ait histopatolojik fotoğraflar Resim 3'de gösterilmiştir.

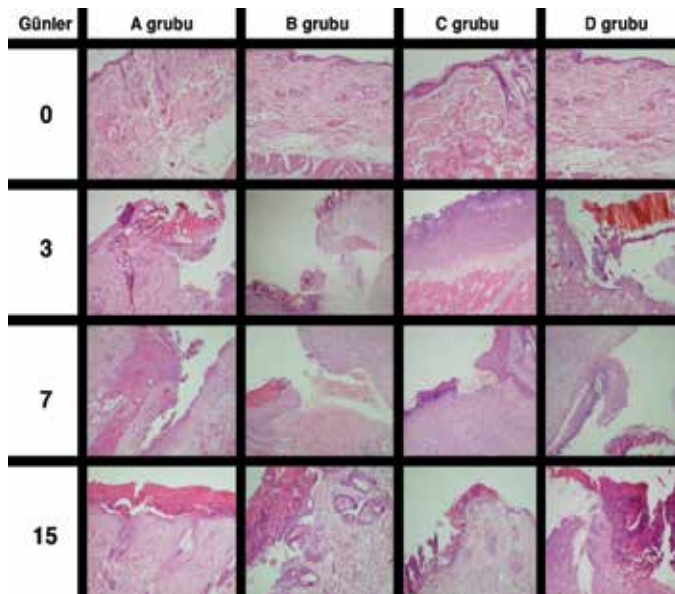
Daha önce bahsedildiği şekilde, epidermiste ülser ve reepitelizasyon ile dermal enflamasyonun histomorfolojik özelliklerine göre skorlama yapıldı. Tespit edilen histopatolojik skorlar Tablo 1, 2 ve 3 ile görülmektedir. Grafikte de görüldüğü gibi 3. ve 7. günlerde ülser alan ve şiddeti, tüm gruplarda eşitti ve ülser alanında daralma görülmedi. On beşinci günde ise, tüm gruplarda ülser alanı daralmıştı. Ancak A ve B gruplarında, C ve D gruplarına oranla ülser alanında daha fazla küçülme olduğu görüldü. On beşinci gün sonunda, A ile B ve C ile D grupları arasında, ülser alanındaki küçülmeler eşit oranlardaydı.

Üçüncü ve 7. gün alınan biyopsilerde, hiçbir grupta reepitelizasyon görülmedi. On beşinci gün sonunda, A ile B ve C ile D gruplarında eşit oranlarda reepitelizasyon izlendi. Fakat A ve B gruplarındaki reepitelizasyon, C ve D gruplarına oranla daha fazlaydı.

Dermal enflamasyon, 3. günde A ve C gruplarında birbirine eşit ve diğer gruplara oranla yüksekti. Yedinci günde, A ve C gruplarındaki enflamasyon azaldı, B grubunda değişmedi, D grubunda ise arttı. Diğer



Resim 2. Gruplara ait yara iyileşmesinin makroskopik görüntüleri

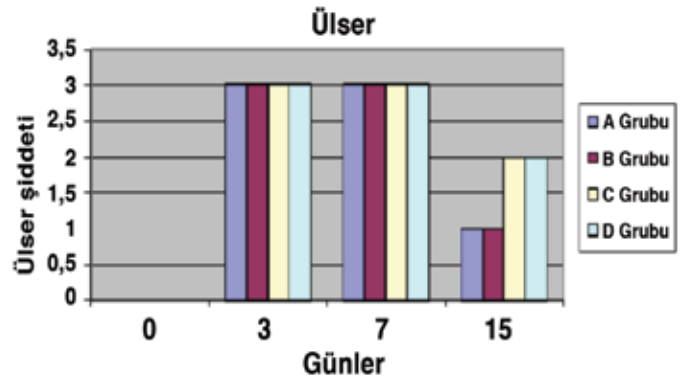


Resim 3. İyileşme aşamalarında, gruplara ait histopatolojik görüntüleri

bir deyişle, A, B ve C gruplarındaki enflamasyon eşitti ve D grubuna oranla azdı. On beşinci günde ise, A ve B gruplarındaki enflamasyon tamamen kaybolmuştu, D grubunda daha şiddetli olmakla beraber C ve D gruplarındaki enflamasyon devam etmekteydi.

Tartışma

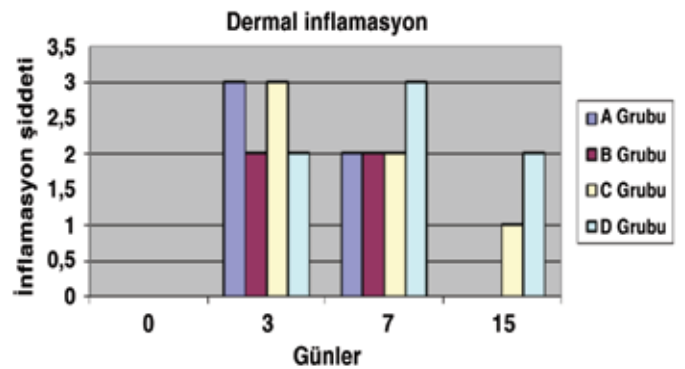
Yara iyileşmesini iyi yönde hızlandırmak amacıyla kullanılan tedavi yöntemlerindeki ana hedef; yara iyileşmesinde rol alan faktörleri (enflamatuvar hücreler, trombositler, mediyatörler, hücre dışı matris vb.) etkileyerek, bu fazlara ait süreleri kısaltmak ve ideal bir skar oluşumunu sağlamaktır. Bunun için, pek çok topikal ve sistemik ajan kullanılmış ve yara iyileşmesindeki gecikme ve düzensizliklerin önüne geçilmeye çalışılmıştır⁴.



Grafik 1. Ülser açısından gruplar arasındaki farklar



Grafik 2. Gruplar arasındaki reepitelizasyon farkları



Grafik 3. Gruplar arasındaki dermal enflamasyon farkları

Ankaferd, folklorik olarak Türk hekimlik geleneğinde hemostatik ajan olarak kullanılan 5 bitkinin, kurutulmuş kök ve yapraklarından elde edilmiş bir ekstrattır. Bu karışım; dış operasyonları, değişik sebeplerle oluşan yaralanmalar, travmatik kesikler ve spontan ya da cerrahi girişimler sonrası oluşan minör ve major kanamaların kontrolünde kullanılmaktadır⁵.

Kanama kontrolündeki etkinliği birçok çalışma ile kanıtlanmış olan Ankaferd'in, az sayıda hayvan çalışması ve olgu sunumları ile, antimikrobiyal, antifungal ve yara iyileşmesini hızlandırıcı etki ve antiseptik özelliklerinin olduğu da bildirilmiştir. Akkoc ve ark.⁶, Ankaferd'in in vitro antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi amacıyla yaptıkları bir çalışmada; karışımın, test edilen tüm bakterilere karşı (26 indikatör şuş) etkinlik gösterdiğini tespit etmişler ve yara iyileşmesinde, hemostatik etkisine ek olarak anti-mikrobiyal özelliğinin de yararlı olabileceğine dikkat çekmişlerdir.

Akgul ve ark.⁷, Ankaferd'in, penil kavernozaal cerrahilerde kullanılabilirliğini araştırmak amacıyla yaptıkları bir çalışmada; tam iyileşme açısından, Ankaferd uygulanan grubun kontrol grubuna göre daha iyi olduğunu ve kavernozaal cerrahilerde hemostatik ve antienflamatuvar olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Rivanol, gümüş sülfadiazin ve çinko oksit kullanılarak yapılan bir çalışmada; en hızlı ve düzgün yara iyileşmesini gümüş sülfadiazinle sağlandığı bildirilmiştir⁸.

Ankaferd'in, yara iyileşmesine olan etkilerini araştırmayı amaçladığımız bu çalışmada, deney hayvanı olarak ratları kullandık. Ratları seçmemizin sebebi; bu tür deneylerde sık kullanılmaları, karşılaştırma imkanı sağlamaları, temin edilme ve çalışma kolaylığı yanında, maliyetlerinin de az olmasıdır.

Çalışmamızda; Ankaferd uygulanan grupta, bu çalışmalara benzer şekilde, enfeksiyon bulgusu görülmedi ve kontrol grubuna göre yara

iyileşmesi daha iyiydi. Fakat aynı sonuçları gümüş sülfadiazin uygulanan grupta da görüldü. Gros değerlendirme açısından, Ankaferd'in sekonder yara iyileşmesini hızlandırdığını, fakat bu etkisinin, gümüş sülfadiazinden daha üstün olmadığını söylenebilir. Histopatolojik incelemede, makroskopik incelemeye paralel sonuçlar elde edildi.

Çalışmamızda Ankaferd ve gümüş sülfadiazin uygulanan gruplarda, histopatolojik iyileşme, kontrol grubuna göre daha iyiydi. Histopatolojik kriter olarak; ülser şiddeti, reepitelizasyon ve dermal enflamasyon değerlendirildi. Yara iyileşmesi açısından, A ve B grupları ile diğer iki grup arasında belirgin farklar izlendi. Dermal enflamasyon 3. günde, A ve C gruplarında birbirine eşit ve diğer gruplara oranla daha fazlaydı. Yedinci günde, A ve C gruplarındaki enflamasyon azaldı, B grubundaki değişmedi, D grubundaki ise arttı. Özetle, takip ettiğimiz iyileşme süresinin ortasında, A, B ve C gruplarındaki enflamasyon eşit ve D grubuna oranla daha azdı. On beşinci günde ise; A ve B gruplarındaki enflamasyon tamamen kaybolmuştu, D grubunda daha şiddetli olmakla beraber C ve D gruplarındaki enflamasyon devam etmekteydi. On beşinci günde, A ve B gruplarında ülser alanının küçüldüğü ve reepitelizasyonun oluştuğu tespit edildi. C ve D gruplarında ise, ülser alanı daha geniş ve reepitelizasyon daha azdı.

Sonuç

Makroskopik ve histopatolojik incelemelerde, Ankaferd'in daha önceki çalışmaları destekler şekilde, tedavisiz kontrol grubuna kıyasla yara iyileşme süresini hızlandırdığı gözlemlendi. Fakat, Ankaferd'in gümüş sülfadiazine göre yara iyileşmesi üzerine belirgin bir üstünlüğü olmadığı da tespit edildi.

Etik Kurul Onayı: İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan 2009/26 sayılı karar ile onay almıştır, **Konsept:** Sevgi Özbaysar Sezgin, Gülbahar Ceylan Saraç, Dizayn: Sevgi Özbaysar Sezgin, Gülbahar Ceylan Saraç, **Veri Toplama veya İşleme:** Sevgi Özbaysar Sezgin, Gülbahar Ceylan Saraç, **Analiz veya Yorumlama:** Mustafa Şenol, Sevgi Özbaysar Sezgin, **Literatür Arama:** Sevgi Özbaysar Sezgin, Gülbahar Ceylan Saraç, **Yazan:** Sevgi Özbaysar Sezgin, Gülbahar Ceylan Saraç, **Hakem Değerlendirmesi:** Editörler kurulu ve editörler kurulu dışında olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir, **Çıkar Çatışması:** Yazarlar bu makale ile ilgili olarak herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir, **Finansal Destek:** İnönü Üniversitesi Araştırma Fonu Tarafından desteklenmiştir.

Kaynaklar

1. Werner S, Grose R: Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev* 2003;83:835-70.
2. Goker H, Haznedaroglu IC, Ercetin S, et al: Haemostatic actions of the folkloric medicinal plant extract Ankaferd Blood Stopper. *J Int Med Res* 2008;36:163-70.
3. http://www.ankaferd.com/pdf/ABSAR2008_1.pdf
4. Li J, Chen J, Kirsner R: Pathophysiology of acute wound healing. *Clin Dermatol* 2007;25:9-18.
5. Cibil HS, Kosar A, Kaya A, et al: In vivo hemostatic effect of the medicinal plant extract Ankaferd Blood Stopper in rats pretreated with warfarin. *Clin Appl Thromb Hem* 2009;15:270-6.
6. Akkoc N, Akcelik M, Haznedaroglu IC: In vitro anti-bacterial activities of Ankaferd Medicinal Plant Extract. *Int J Lab hematomol* 2008;30:95.
7. Akgul T, Huri E, Ayyıldız A, Ustun H, Germiyanoglu C: Haemostatic and histopathological effect of Ankaferd Blood Stopper on penile cavernosal tissue in rats. *Int J Hem Oncol* 2009;3:159-65.
8. Şenol M, Şahin M, Aktaş A, Kaya M: Rivanol, gümüş sülfadiazin ve çinko oksit'in yara iyileşmesi üzerine etkileri. *Yeni Tıp Derg* 1993;10:12-7.

Tablo 1. Ülser açısından gruplara ait skorlar

Günler	A grubu	B grubu	C grubu	D grubu
0	0	0	0	0
3	3	3	3	3
7	3	3	3	3
15	1	1	2	2

Tablo 2. Reepitizasyon açısından gruplara ait skorlar

Günler	A grubu	B grubu	C grubu	D grubu
0	0	0	0	0
3	0	0	0	0
7	0	0	0	0
15	2	2	1	1

Tablo 3. Dermal enflamasyon açısından gruplara ait skorlar

Günler	A grubu	B grubu	C grubu	D grubu
0	0	0	0	0
3	3	2	3	2
7	2	2	2	3
15	0	0	1	2