Çoc. Cer. Derg. 2021;35(3):103-10
doi:10.5222/JTAPS.2021.48295

Propolisin Cerrahi Yara Enfeksiyonunu Engelleyerek Anastomoz İyileşmesine Katkısı

Propolis 'Contribution to the Healing of Anastomosis by Preventing Surgical Wound Infection

Murat Kaya[1], Recep Eroz[2], Murat Kabaklıoğlu[1]

[1]Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, Düzce, Türkiye
[2]Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Düzce, Türkiye

ÖZ

Amaç: *Yara yeri infeksiyonunu engelleyerek iyi bir yara iyileşmesinin sağlanması önemli bir cerrahi sorundur. Geçmişten günümüze kadar pek çok çeşit bitkisel ve hayvansal ürünler birçok hastalık ve yaraların tedavisinde tıbbi amaçlarla kullanılagelmiştir. Bunlardan birisi de propolistir. NORs (Nucleolus Organizer Regions=Çekirdekçik Oluşturan Bölgeler) hücrenin canlılık, metabolik aktivite ve proliferasyonun iyi bir göstergesidir. Bu çalışmada, deneysel olarak oluşturulan cerrahi yara modelinde proliferasyon indeksinin bir göstergesi olarak da kullanılabilen NOR proteinlerinden nukleolin, nukleofosmin ve UBTF gen ekspresyon düzeyleri ve propolisin yara yeri infeksiyonunu önleme ve anastomoz iyileşmesine katkısını değerlendirerek literatüre katkıda bulunmayı amaçladık.*
Yöntem: *Bu deneysel çalışma; cerrahi yaralar sınıflamasına göre temiz ve temiz-kontamine yaralar oluşturularak planlandı. Sıçanlar Kontrol, Anastomoz, Fusidik asit+Anastomoz ve Propolis+Anastomoz olarak dört ana gruba ayrıldı. Toplam 4 hayvan grubu, her bir grupta sekizer adet ve toplamda 32 hayvan kullanıldı. Hayvanlarda yara yeri infeksiyon belirteç olarak hemogram ve anastomoz dokusunda NCL, NPM1 ve UBTF gen ekspresyon düzeyleri çalışılarak karşılaştırıldı.*
Bulgular: *Tüm gruplar dikkate alındığında, NCL (p=0,038), NPM1 (p=0,001) ve UBTF (p=0.000) gen ekspresyon düzeyleri için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı. Tüm gruplar dikkate alındığında, cerrahi yara infeksiyonuna bağlı olarak, kan parametreleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit belirlendi (p<0.05).*
Sonuç: *NCL, NPM1 ve UBTF gibi nükleolar proteinler; hücre homeostazının sürdürülmesi için önemli işlevlere sahiptir ve cerrahi yaralarda infeksiyonu engelleyerek anastomoz iyileşmesinin sağlanması için belirteç olarak kullanılabilir.*

Anahtar kelimeler: *Propolis, nukleolin, nukleofosmin, UBTF*

ABSTRACT

Objective: *Providing good wound healing by preventing wound infection is an important surgical problem. From past to present, many kinds of herbal and animal products have been used for in the treatment of many diseases and wounds. One of them is propolis. NORs (Nucleolus Organizer Regions) is a good indicator of cell vitality, metabolic activity and proliferation. We aimed to detect Nucleolin, Nucleophosmin and Upstream Binding Transcription Factor gene expressions from NOR proteins, which can also be used as an indicator of proliferation index in the experimentally surgical wound model and contribution of propolis to anastomotic healing by preventing wound infection, thus we can contribute to the literature.*
Method: *This experimental study was planned by creating clean and clean-contaminated wounds according to the surgical wounds classification. Rats were divided into four main groups as Control, Anastomosis, Fusidic acid + Anastomosis and Propolis + Anastomosis. A total of 4 groups of animals, eight in each group, and a total of 32 animals were used. NCL, NPM1 and UBTF gene expression levels at anastomosis tissue and hemogram were studied and compared in as the markers of wound infection in animals.*
Results: *It was observed that there were statistically significant differences between the all groups in terms of NCL (p=0.038), NPM1 (p=0.001) and UBTF (p=0.001) gene expression levels and hemogram parameters. Considering all groups, a statistically significant differences were found between the groups in terms of blood parameters, depending on surgical wound infection (p <0.05).*
Conclusion: *Nucleolar proteins such as NCL, NPM1 and UBTF have important functions in maintaining cell homeostasis and can be used as a marker to prevent infection in surgical wounds and to ensure anastomotic healing.*

Keywords: *Propolis, nucleolin, nucleophosmin, UBTF*

© Telif hakkı Türkiye Çocuk Cerrahisi Derneği'ne aittir. Logos Tıp Yayıncılık tarafından yayınlanmaktadır.
Bu dergide yayınlanan bütün makaleler Creative Commons Atıf-GayriTicari 4.0 Uluslararası Lisansı ile lisanslanmıştır.
© Copyright Turkey Association of Pediatric Surgery. This journal published by Logos Medical Publishing.
Licenced by Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0)

Received/Geliş: 06.03.2021
Accepted/Kabul: 22.04.2021
First Publication: 14.09.2021

Cite as: Kaya M, Eroz R, Kabaklıoğlu M. Propolisin cerrahi yara enfeksiyonunu engelleyerek anastomoz iyileşmesine katkısı. Çoc. Cer. Derg. 2021;35(3):103-10.

Murat Kaya
Düzce Tıp Fakültesi, Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi,
Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı
Düzce - Türkiye
drkayam@gmail.com
ORCID: 0000-0001-6650-0145

R. Eroz 0000-0003-3989-8295
M. Kabaklıoğlu 0000-0001-8714-1874

Giriş

Yara yeri infeksiyonunu engelleyerek iyi bir yara iyileşmesinin sağlanması önemli bir cerrahi sorundur. Laparotomilerde özellikle de kirli yara olarak kabul edilen travmatik intestinal/kolonik perforasyonlar, peptik ülser perforasyonu, perfore apandisit ve intestinal yapılara rezeksiyon/anastomoz işlemi yapılması gereken ciddi peritonit ve intra-abdominal infeksiyonun eşlik ettiği olgularda ameliyat sonrası yara yeri infeksiyonu ve buna bağlı yara ve anastomoz iyileşmesinin gecikmesi bugünlerde çok önemli bir sorundur [1]. İntestinal yapılara hiç dokunulmayan tanısal laparotomi gibi temiz kabul edilen yaralarda bile diyabetik hastalar, kişisel olarak bağışıklık sistemi güçlü olmayan yaşlı yatalak bakım hastaları, radyoterapi/kemoterapi hastaları, aplastik anemi gibi hematolojik hastalığı olan kişiler ve AIDS hastalarında ameliyat sonrası yara yeri infeksiyonu önemli bir morbidite/mortalite nedenidir ve bu durum hastanede kalış süresini uzatarak ek maliyetlere yol açmaktadır.

Geçmişten günümüze kadar pek çok çeşit bitkisel ve hayvansal ürünler birçok hastalık ve yaraların tedavisinde tıbbi amaçlarla kullanılagelmiştir. Bir arı ürünü olan propolisin antibakteriyel, antiviral, antifungal, epitelizan ve analjezik pek çok etkileri vardır [2]. Yan etkisi ise yok gibidir. Şimdiye kadar propolise karşı mikrobiyal direncin geliştiği bildirilmemiştir.

NORs (Nukleolus Organizer Regions=Çekirdekçik Oluşturan Bölgeler) insan ve diğer ökaryotların kromozomlarındaki çekirdekçik oluşturan DNA bölgeleridir. Bu bölgeler rRNA sentezledikleri için rDNA olarak da bilinirler. NORs insanda beş çeşit akrosentrik kromozomun (13, 14, 15, 21, 22. kromozomlar) ikincil boğumu olarak bilinen satellit köklerinde bulunurlar ve çekirdekçiğin oluşumuna neden olurlar. Çekirdekçiğin aktif zonunda (fibrillar ve yoğun fibrillar merkez) NOR proteinleri bulunmaktadır ve bunlar formik asit varlığında gümüş nitratı metalik gümüşe indirgemektedir. AgNOR proteinleri birçok kanser türünde hücresel proliferasyonun bir indikatörüdür [3]. Bu bölgelerin aktiviteleri direk olarak protein sentezi ile ilişkilidir. Bu nedenle, aktif NOR sayıları, artan hücresel aktiviteyle artar. İşte bu yüzden NORs hücrenin canlılık, metabolik aktivite ve proliferasyonun iyi bir göstergesidir. Nukleolin *(NCL),* nukleofosmin *(NPM1)* ve Upstream Binding Transcription Factor *(UBTF)* genleri de bunlardandır [3,4].

Literatürde propolisin yara infeksiyonunu önleyerek yara iyileşmesine olumlu katkısı ile ilgili pek çok çalışma olmasına rağmen; propolis uygulanan deneysel temiz ve temiz kontamine laparotomi yara modellerinde dokudaki *NCL, NPM1* ve *UBTF* gen ekspresyon düzeyleri ve anastomoz iyileşmesinin değerlendirildiği bir başka çalışma örneği yoktur. Bu çalışmada anastomozlu cerrahi yara modelinde hücreler için canlılık, metabolik aktivite ve proliferasyonun iyi bir göstergesi olan NOR proteinlerinden *NCL, NPM1* ve *UBTF* gen ekspresyonlarını kullanarak; propolisin yara yeri infeksiyonunu önleyerek anastomoz iyileşmesine olumlu katkısını değerlendirmeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem

Bu deneysel çalışma; cerrahi yaralar sınıflamasına göre temiz ve temiz-kontamine yaralar oluşturularak çalışma planlandı. Düzce Üniversitesi, Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edilen toplam 32 adet 200-300 g ağırlıkta Wistar Albino 10-13 haftalık dişi sıçanlar kullanıldı. Deney, Düzce Üniversitesi, Hayvanlarda Araştırma Etik Kurulunun yanı sıra laboratuvar hayvanlarının kullanımı ve bakımı için uluslararası kabul görmüş ilkelere uygun şekilde dizayn edilerek (Düzce Üniversitesi, Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulunun 06.01.2021 tarih ve 2021/01/01 sayılı onay belgesi alındı) deney yapıldı.

Hayvanlar Kontrol, Anastomoz, Fusidik asit+ Anastomoz ve Propolis+Anastomoz olarak dört ana gruba ayrıldı. Toplam 4 hayvan grubu, her bir grupta sekizer adet ve toplamda 32 hayvan kullanıldı.

Kontrol grubuna herhangi bir cerrahi işlem ya da ilaç uygulanmadan, intraperitoneal olarak yapılan ketamin (Ketalar®, 90 mg/kg, Eczacıbaşı) ve ksilazin (Rompun®, 10 mg/kg, Bayer) ile uygulanan anestezi altında sakrifiye edilip kan ve doku örnekleri alındı.

Anastomoz grubuna anestezi altında median laparotomi sonrası anastomoz da yapılıp sonrasında herhangi bir ilaç uygulanmadı.

Uluslararası yara sınıflamasına göre, temiz-kontamine yara oluşturmak içi ise kontrol grubu haricindeki hayvanlara anastomoz yapıldı [5]. Bunun için çekum dis-

talinde kolon tam kat kesildikten sonra 6/0 vicryl ile tek sütüre edilerek anastomoz yapıldı. Periton, kaslar ve cilt tam kat olarak 3/0 ipek ile continue kapatıldı.

A+ Fusidik asit grubuna anestezi altında median laparotomi sonrası anastomoz da yapılıp insizyon yerine 5 gün boyunca günde 2 kere lokal Fusidik asid pomad (Fucidin® %2, Abdi Ibrahim**)** uygulandı.

A+ Propolis grubuna anestezi altında median laparotomi sonrası anastomoz da yapılıp insizyon yerine 5 gün boyunca günde 2 kere lokal %20 Propolis solüsyonu (Ethanol extract of propolis-EEP**)** uygulandı.

Beşinci günün sonunda anestezi altında kalpten kan örneği alınarak sakrifiye edilen hayvanların anastomoz bölgesi barsak dokuları fikse edildi. Kanda hemogram bakılıp ayrıca dokuda önemli NOR proteinlerinden *NCL, NPM1* ve *UBTF* gen ekspresyonları değerlendirildi.

Yara yeri infeksiyonu belirteci olarak hemogram (WBC dağılımı; Lenfosit % ve Lenfosit Sayısı, Monosit % ve Monosit Sayısı, Nötrofil % ve Nötrofil Sayısı, Eozinofil % ve Eozinofil Sayısı, Bazofil % ve Bazofil Sayısı) bakıldı. Kan örneklerinin değerlendirmesi Mindray BC-5000 Vet Auto Hematology Analyzer hemogram cihazı kullanılarak yapıldı.

İnsizyon yeri cildi ve anastomoz bölgesi barsak dokusundan izolasyon kitleri (RiboEx (Catalog No. 301-001) and Hybrid-R (Catalog No. 305-101)) kullanılarak RNA izole edildi. RNA kalitesinin çalışmaya uygunluğunu değerlendirmek için spektrofotometrede ölçüm yapıldı. Elde dilen RNA'lardan cDNA sentez kiti (HyperScript™ (Catalog No: 601-005)) kullanılarak PCR cihazında cDNA elde edildi. Her bir gene özgü olacak şekilde dizayn edilmiş primerler kullanılarak Applied Biosystems™ 7500 Fast Real-Time PCR cihazında her bir gen için mRNA ekspresyon düzeyi belirlendi.

Elde edilen veriler istatistik paket programına kaydedilip analiz edildi. Bütün veriler bilgisayar ortamında SPSS 15.0 (SPSS, Inc, Chicago, Illinois, USA) istatistik programı kullanılarak değerlendirildi. Araştırmanın tüm verileri için öncelikle tanımlayıcı istatistikler uygulandı. Ölçümle belirlenen değişkenler için tanımlayıcı istatistikler; ortalama ve standart sapma şeklinde verildi. Kullanılan verilerin öncelikle normal dağılıma uygunluk testleri (Shapiro-Wilk testi) yapıldı. Grup karşılaştırmalarında Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Kategorik değişkenler Chi-square (Fisher's exact) testi ile karşılaştırıldı. P değeri 0.05 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Tüm grupların ortalama *NCL, NPM1* ve *UBTF* değerleri Tablo 1'de verilmiştir. Tüm gruplar dikkate alındığında, *NCL* ($\chi2$=8.401; p=0.038), *NPM1* ($\chi2$=16.230; p=0.001) ve *UBTF* ($\chi2$=23.988; p=0,000) gen ekspresyon düzeyleri için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi (Tablo 1).

Bu farklılığın hangi gruplardan kaynaklandığını anlamak için ikili karşılaştırma yapıldı. *NCL* değerleri açısından yapılan ikili grup karşılaştırmasında, K ile A + F arasında (χ^2=5.338; p=0.021) ve K ile A + P arasında (χ^2=5.835; p=0.016) istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. *NPM1* değerleri açısından yapılan ikili grup karşılaştırmasında; K ile A + F arasında (χ^2=6.353; p=0.012), K ile A + P arasında (χ^2=11.294; p=0.001) ve A ile A + P arasında (χ^2=11.294; p=0.001) istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. *UBTF* değerleri açısından yapılan ikili grup karşılaştırmasında; K ile A arasında (χ^2=11.294; p=0.001), K ile A + F arasında (χ^2=11.294; p=0.001), K ile A + P arasında (χ^2=11.294; p=0.001), A ile A + F arasında (χ^2=8.647; p=0.003) ve A ile A + P arasında (χ^2=5.354; p=0.021) istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (Tablo 2).

Grupların Ortalama±Standart sapma/Ortanca (Range) hemogram değerleri Tablo 3'te verilmiştir. Tüm gruplar dikkate alındığında, kan parametreleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (p<0.05). Bu farklılığın hangi gruplardan kaynaklandığını anlamak için ikili karşılaştırma yapıldı.

Gruplar kendi içerisinde birbiriyle ikili olarak kıyaslandığında, K ile A arasında Nötrofil (NE), Bazofil (BA), NE (%), BA (%), Eritrosit sayısı (RBC), Hemoglobin (HB), Hematokrit (HCT), Eritrosit dağılım aralığı (RDW), RDW(%) ve Trombosit sayısı (PLT) değerleri açısından istatiksel olarak anlamlı fark (p<0.05) bulundu (Tablo 4).

Tablo 1. Grupların ortalama *NCL, NPM1* ve *UBTF* gen ekspresyon değerleri.

Grup	NCL (n=8)	NCL grup ortalaması / ortancası (Range) (n=32)	NPM1 (n=8)	NPM1 grup ortalaması / ortancası (Range) (n=32)	UBTF (n=8)	UBTF grup ortalaması / ortancası (Range) (n=32)	χ^2	p
C1	0,655		0,888		1,165			
C2	1,116		1,369		2,237			
C3	1,108		0,426		0,394			
C4	1,234	1,028±0,233/1,112(0,579)	1,929	1,153±0,592/1,129(1,503)	0,974	1,193±0,709/1,070(1,843)	8,401*	0,038*
C5	0,665		0,898		1,175			
C6	1,106		1,359		2,227			
C7	1,118		0,436		0,404			
C8	1,224		1,919		0,964			
A1	0,897		1,279		0,099			
A2	0,365		0,546		0,218			
A3	0,928		0,584		0,361			
A4	1,4	0,898±0,392/0,918(1,045)	0,361	0,693±0,377/0,565(0,938)	0,045	0,181±0,132/0,159(0,336)	16,230&	0,001&
A5	0,907		1,289		0,109			
A6	0,355		0,536		0,208			
A7	0,938		0,594		0,371			
A8	1,39		0,351		0,035			
A+F1	0,677		0,6		0,084			
A+F2	0,98		0,726		0,017			
A+F3	0,59		0,224		0,008			
A+F4	0,509	0,689±0,169/0,682(0,481)	0,051	0,400±0,293/0,417(0,685)	0,009	0,031±0,028/0,019(0,076)	23,988€	0,000€
A+F5	0,687		0,61		0,064			
A+F6	0,88		0,716		0,027			
A+F7	0,69		0,234		0,018			
A+F8	0,499		0,041		0,019			
A+P1	0,797		0,216		0,071			
A+P2	0,621		0,214		0,035			
A+P3	0,666		0,315		0,088			
A+P4	0,656	0,685±0,075/0,661(0,196)	0,248	0,248±0,046/0,232(0,121)	0,018	0,053±0,025/0,053(0,070)		
A+P5	0,807		0,226		0,061			
A+P6	0,611		0,204		0,045			
A+P7	0,676		0,325		0,078			
A+P8	0,646		0,238		0,028			

*K: Kontrol, A: Anastomoz, A+F: A+Fusidik asid, A+P: A+Propolis, NCL: Nükleolin, NPM1: Nükleofosmin, UBTF: Upstream Binding Transkripsiyon Faktörü *= NCL, &= NPM1, €= UBTF*

Tablo 2. NCL, NPM1 ve UBTF gen ekspresyon değerleri için grupların ikili karşılaştırması.

	Grup	K		A		A+F		A+P	
		χ^2	P	χ^2	P	χ^2	P	χ^2	P
NCL	K	-	-	0,706	0,401	5,338	0,021	5,835	0,016
	A	0,706	0,401	-	-	1,588	0,208	2,824	0,093
	A+F	5,338	0,021	1,588	0,208	-	-	0,044	0,834
	A+P	5,835	0,016	2,824	0,093	0,044	0,834	-	-

		K		A		A+F		A+P	
		χ^2	P	χ^2	P	χ^2	P	χ^2	P
NPM1	K	-	2,824	0,093	6,353	0,012	11,294	0,001	
	A	2,824	0,093	-	-	0,706	0,401	11,294	0,001
	A+F	6,353	0,012	0,706	0,401	-	-	0,540	0,462
	A+P	11,294	0,001	11,294	0,001	0,540	0,462	-	-

		K		A		A+F		A+P	
		χ^2	P	χ^2	P	χ^2	P	χ^2	P
UBTF	K	-	-	11,294	0,001	11,294	0,001	11,294	0,001
	A	11,294	0,001	-	-	8,647	0,003	5,354	0,021
	A+F	11,294	0,001	8,647	0,003	-	-	3,383	0,066
	A+P	11,294	0,001	5,354	0,021	3,383	0,066	-	-

K: Kontrol, A: Anastomoz, A+F: A+Fusidik asid, A+P: A+Propolis NCL: Nükleolin, NPM1: Nükleofosmin, UBTF: Upstream Binding Transkripsiyon Faktörü

Gruplar kendi içerisinde birbiriyle ikili olarak kıyaslandığında, K ile A + F arasında Lökosit sayısı (WBC), NE, Lenfosit (LY), Monosit (MO), Eozinofil (EO), BA, NE (%), LY (%), MO (%), BA (%), Ortalama eritrosit hacmi (MCV), Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC), RDW, PLT, Ortalama trombosit hacmi (MPV) ve Prokalsitonin (PCT) değerleri açısından istatiksel olarak anlamlı fark ($p<0.05$) bulundu (Tablo 4).

Gruplar kendi içerisinde birbiriyle ikili olarak kıyaslandığında, K ile A + P arasında NE (%), LY (%), MO (%), BA (%), RBC, HB, MCV, MCHC, RDW (%), RDW, PLT, Trombosit dağılım aralığı (PDW) ve PCT değerleri açısından istatiksel olarak anlamlı fark ($p<0.05$) bulundu (Tablo 4).

Gruplar kendi içerisinde birbiriyle ikili olarak kıyaslandığında, A ile A + F arasında WBC, MO, EO, BA (%), RBC, HB, HCT ve RDW (%) değerleri açısından istatik-

Tablo 3. Grupların ortalama hemogram değerleri.

HMG	Kontrol Ort±ss	Anastomoz Ort±ss	A+F Ort±ss	A+P Ort±ss
WBC	7,203±2,161	8,018±2,326	10,463±1,764	8,523±3,793
NE	0,681±0,442	1,253±0,590	1,620±0,404	1,113±0,617
LY	4,795±1,777	4,648±1,196	5,793±1,461	4,575±2,078
MO	1,430±0,496	1,753±0,893	2,578±0,335	2,448±1,154
EO	0,150±0,033	0,140±0,056	0,295±0,094	0,168±0,028
BA	0,040±0,013	0,125±0,054	0,078±0,014	0,083±0,051
NE (%)	10,100±3,368	15,875±2,587	15,925±1,039	13,800±1,124
LY (%)	66,225±6,298	59,475±8,104	54,125±4,519	53,525±4,427
MO (%)	20,900±3,349	21,300±5,353	25,975±3,429	29,300±4,707
EO (%)	2,025±0,526	1,675±0,729	2,950±1,482	2,300±1,061
BA (%)	0,500±0,193	1,450±0,457	0,800±0,169	0,825±0,381
RBC	7,423±0,328	6,363±0,411	7,335±0,534	6,760±0,137
HB	14,000±0,825	11,825±0,531	13,750±0,857	12,425±0,643
HCT	46,075±3,571	41,100±2,769	48,225±3,612	45,650±1,643
MCV	62,125±3,083	64,750±3,023	65,825±1,317	67,675±1,273
MCH	18,950±0,639	18,725±0,277	18,900±0,151	18,500±0,668
MCHC	305,50±19,864	284,50±15,128	282,250±15,107	269,00±16,071
RDW (%)	15,075±0,765	19,050±1,657	16,550±1,633	18,475±1,032
RDW	38,950±4,065	52,200±5,891	46,525±5,651	53,750±3,580
PLT	742,000±96,723	1028±238,233	1079,25±127,820	1195,750±99,313
MPV	8,700±0,566	8,450±0,739	8,125±0,520	8,950±0,758
PDW	16,025±0,139	16,263±0,277	16,050±0,288	16,275±0,205
PCT	6,428±1,131	7,790±1,456	8,780±1,033	9,240±0,404

HMG: Hemogram, WBC: Lökosit sayısı, NE: Nötrofil, LY: Lenfosit, MO: Monosit, EO: Eozinofil, BA: Bazofil, RBC: Eritrosit sayısı, HB: Hemoglobin, HCT: Hematokrit , MCV: Ortalama eritrosit hacmi, MCH: Ortalama eritrosit hemoglobini, MCHC: MCH konsantrasyonu, RDW: Eritrosit dağılım aralığı, PLT: Trombosit sayısı, MPV: Ortalama trombosit hacmi, PDW: Trombosit dağılım aralığı, PCT: Prokalsitonin

Tablo 4. Grupların hemogram parametreleri için ikili karşılaştırması.

	K vs A (p)	K vs A+F (p)	K vs A+P (p)	A vs A+F (p)	A vs A+P (p)	A+F vs A+P (p)
WBC	0,674	0,036	0,208	0,016	0,208	0,674
NE	0,036	0,002	0,208	0,090	0,401	0,035
LY	0,833	0,036	0,674	0,248	0,674	0,674
MO	0,401	0,001	0,093	0,012	0,093	0,958
EO	0,526	0,001	0,291	0,003	0,170	0,002
BA	0,004	0,001	0,064	0,072	0,154	0,872
NE (%)	0,035	0,003	0,036	0,429	0,035	0,03
LY (%)	0,172	0,003	0,003	0,208	0,074	1,000
MO (%)	0,674	0,012	0,003	0,065	0,012	0,208
EO (%)	0,187	0,093	0,527	0,083	0,317	0,293
BA (%)	0,001	0,009	0,049	0,002	0,013	0,591
RBC	0,001	0,401	0,001	0,002	0,036	0,012
HB	0,001	0,461	0,003	0,001	0,115	0,005
HCT	0,009	0,400	0,753	0,001	0,004	0,189
MCV	0,115	0,027	0,001	0,268	0,036	0,027
MCH	0,430	0,832	/ 0,125	0,198	0,598	0,396
MCHC	0,093	0,040	0,005	0,431	0,036	0,093
RDW (%)	0,001	0,082	0,001	0,012	0,343	0,012
RDW	0,001	0,003	0,001	0,074	0,833	0,012
PLT	0,012	0,001	/ 0,001	0,753	/ 0,172	0,093
MPV	0,427	0,035	0,490	0,524	0,188	0,024
PDW	0,063	0,832	0,020	0,153	0,957	0,101
PCT	0,141	0,003	0,001	0,208	0,036	0,462

HMG: Hemogram, WBC: Lökosit sayısı, NE: Nötrofil, LY: Lenfosit, MO: Monosit, EO: Eozinofil, BA: Bazofil, RBC: Eritrosit sayısı , HB: Hemoglobin, HCT: Hematokrit, MCV: Ortalama eritrosit hacmi, MCH: Ortalama eritrosit hemoglobini, MCHC: MCH konsantrasyonu, RDW: Eritrosit dağılım aralığı, PLT: Trombosit sayısı, MPV: Ortalama trombosit hacmi, PDW: Trombosit dağılım aralığı, PCT: Prokalsitonin, K: Kontrol, A: Anastomoz A+F: A+Fusidik asid, A+P: A+Propolis

sel olarak anlamlı fark (p<0.05) bulundu (Tablo 4).

Gruplar kendi içerisinde birbiriyle ikili olarak kıyaslandığında, A ile A + P arasında NE (%), MO (%), BA (%), RBC, HCT, MCV, MCHC ve PCT değerleri açısından istatiksel olarak anlamlı fark (p<0.05) bulundu (Tablo 4).

Son olarak, gruplar kendi içerisinde birbiriyle ikili olarak kıyaslandığında, A + F ile A + P arasında NE, EO, NE (%), RBC, HB, MCV, RDW (%), RDW ve MPV değerleri açısından istatiksel olarak anlamlı fark ($p<0.05$) bulundu (Tablo 4).

Tartışma

Bal, tarih boyunca, hekimler tarafından ayrı bir önemli bir besin kaynağı ve tıbbi malzeme olarak değerlendirilmiştir. Hipokrates balın hava ve suya eş değerliliğini, Romalı hekimler balın kuvvetli bir panzehir olduğunu, Mısırlı ve Arap hekimler ise balın çeşitli sinirsel, ruhsal ve göz hastalıklarda kullanıldığını biliyordu [6].

Propolis, bal arılarının çeşitli bitkilerden topladıkları polenleri kendi vücut salgıları ile karıştırarak ürettikleri yapışkan bir maddedir. Bal arıları propolisi yaşadıkları kovanın iç yüzeyini kaplayarak çatlakları kapatmak; kovan içerisinde ölen canlıları mumyalayarak infeksiyon kaynağı olmasını önlemek; kovan içerisinde mikroorganizmaların gelişip çoğalmasını engellemek gibi pek çok farklı amaç için kullanır. Propolise karşı mikrobiyal direncin gelişmediği bildirilmiştir [7]. Tüm bu nedenlerle de biz daha önce propolisin cerrahi yara infeksiyonu önleyerek anastomoz iyileşmesine olumlu katkısı ile ilgili bir çalışma olmadığı için bu çalışmayı planladık.

Literatürde propolisin diabetik ayak ülserlerinde [8,9], dental müdahale sonrası gingivada [10], tavşanlarda deneysel sırt yarasında [11], gluteofemoral cilt fistüllerinde [12], kronik iyileşmeyen ya da nükseden yaralarda [13,14], in vitro ortamında [15-18] ve Covid-19 infeksiyonunda [19] başarılı kullanımı ile ilgili pek çok yayın vardır.

Nükleolus; ribozomal biyogenez, hücresel büyüme ve proliferasyonu için yaşamsal öneme sahiptir. Nükleolusun morfolojisi, boyutu ve bileşenleri hücresel aktivite ile ilişkilidir. Nükleolar proteinler; fonksiyonel bir nükleolus oluşturabilmek için lokalize olmuş özgün nükleolar bölümlerdir. Çekirdekçiğin aktif zonunda (fibriler ve yoğun fibriler merkez; FC ve DFC) NOR proteinleri bulunmakta ve bunlar formik asit varlığında gümüş nitratı metalik gümüşe indirgemektedir. AgNOR proteinleri ise hücresel proliferasyonun çok iyi bir göstergesidir. Nükleolus infeksiyon dâhil pek çok stres faktörünü algıladığı zaman bu proteinlerin ekspresyonları uyarılır [20]. Sonuç olarak, önemli NOR proteinlerinden olan *NCL, NPM1* ve *UBTF* gen ekspresyon düzeyleri hücresel proliferasyon, aktivite ve epitelizasyonun iyi bir göstergesi olarak kullanılabilir.

Çok işlevli bir nükleolar protein olan *NCL*; rDNA transkripsiyonunda, kromatin yapısında, rRNA olgunlaşmasında, nükleositoplazmik taşınmada ve ribozom birleşmesinin erken aşamalarında önemli rollere sahiptir. Başka bir nükleolar fosfoprotein olan *NPM1* ise; ribozom sentezi, nükleik asit bağlanması, sitoplazmik nükleer mekik taşıma, sentrozom duplikasyonu ve hücre proliferasyonu gibi farklı hücresel işlemlerde önemli fonksiyonlara sahiptir. Transkripsiyon faktörlerinden birisi olarak *UBTF* de; RNA polimeraz I'in ribozomal RNA transkripsiyonunda, kromatin yeniden modellemesi, ön-rRNA işleme ve rDNA'ya bağlanması için çok önemli bir fonksiyonlara sahiptir.

Literatürde tiroid nodüllerinin benign/malign sitolojik ayrımında [21-23], mesane tümörlerinin sitolojik ayrımında [24], saç kayıplarında (25,26) ve Down sendromuda (27) farklı dokularda AgNOR proteinleri ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Aynı zamanda rhamnetin [28], curcumin [29] ve kapsaisinin [30] antitümoral etkinliğini belirlemede NOR proteinlerinin değerlendirildiği çalışmalar da yapılmıştır. Cerrahi yaralar hücre ve doku kaybına neden olur; dolayısı ile bunların yerine yenilerinin yapılarak yaranın kapanması için büyüme faktörlerinin salınması ve ilgili hücrelerin bölünerek prolifreasyonu gerekir. Bu işleyişin sağlıklı bir şekilde ilerleyebilmesi için infeksiyon ve majör stres faktörlerin bertaraf edilmelidir. NOR proteinleri, daha önce de belirtildiği gibi, proliferasyon indeksinin ve hücrenin metabolik aktivitesinin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. *NCL, NPM1* ve *UBTF* de başlıca NOR proteinlerindendir. Dolayısı ile yara iyileşmesinde ve infeksiyon gibi stres faktörlerine bağlı olarak bu genlerin ekspresyon düzeylerinin değişmesi gerekmektedir. Bizim bu çalışmamızda da majör NOR proteinlerinden olan *NCL, NPM1* ve *UBTF*'nin yara iyileşmesinde ve hemostazın korunmasında önemli bir fonksiyona sahip olduğu bulunmuştur.

Gruplara bakıldığında, genel olarak hemogramda infeksiyon ve sepsisin majör kriteri olarak kullanılan beyaz küre sayısı (WBC), nötrofil sayı ve yüzdesi (NE%), prokalsitonin (PCT) ortalama değerleri beklendiği gibi

kontrol grubunda en düşük seviyede, tedavisiz anastomoz (A) grubunda ise en yüksek seviyede bulundu. Tüm bu sonuçlar da propolisin yara yeri infeksiyonunu azalttığını göstermektedir. WBC, NE ve PCT gibi yüksek olduğunda iyi bir infeksiyon belirteci olan değerlerin tedavi gruplarında daha düşük düzeylerde bulunması bunu desteklemektedir.

Yine gruplara bakıldığında, genel olarak hemogramda kanamanın ve kan düzeyinin majör kriteri olarak kullanılan hemoglobin (HB) ve hematokrit oranları (HCT) beklendiği gibi; herhangi bir cerrahi işlem yapılmayan gibi kontrol (K) grubunda en yüksek seviyede, anastomozlu fusidik asit (A + F) grubunda ise en düşük seviyede bulundu. Ayrıca son olarak yine gruplara bakıldığında, genel olarak hemogramda hemostazın majör kriteri olarak kullanılan platelet sayısı (PLT) beklendiği gibi herhangi bir cerrahi işlem yapılmayan gibi kontrol (K) grubunda en düşük seviyede, tedavisiz anastomoz (A) grubunda ise en yüksek seviyede bulundu.

İlk tanımlandığı andan bu yana nükleolusun kompleks yapısı hakkında şimdiye kadar pek çok çalışma yapılmıştır. Nükleolus, pek çok genin ürünü olan proteinleri içerir ve hâlen çözülmeyi bekleyen sırlarla doludur ve bu konuda çeşitli çalışmalar yapılmaya devam etmektedir. Nükleolus, ribozom biyogenezinin merkezidir ve birçok gen ve gen ürününün birbirleriyle ve hücrenin diğer bölmeleriyle etkileşime girdiği yerdir. Ayrıca nükleolus; stres, yaralanma, infeksiyon vb. çeşitli içsel ve dışsal stress altında hücre homeostazının korunmasında önemli bir işleve sahiptir.

Sonuç olarak, *NCL, NPM1* ve *UBTF* gibi nükleolar proteinler; hücre homeostazının sürdürülmesi için önemli işlevlere sahiptir ve cerrahi yaralarda infeksiyonu engelleyerek anastomoz iyileşmesinin sağlanması için belirteç olarak kullanılabilir. Son olarak, propolis, yara iyileşmesinde ve yara infeksiyonu önlenerek anastomozun iyi bir şekilde iyileşmesinde yararlıdır. Tüm bulgularımız, bu proteinlerin yara iyileşmesindeki varsayılan rolüne ilişkin daha önceki olumlu algıyı doğruluyor.

Teşekkür: Propolis solüsyonu temini konusundaki desteklerinden ötürü Düzce Üniversitesi, Arıcılık Araştırma Geliştirme ve Uygulama Merkezi (DAGEM)'ne teşekkür ederiz.

Etik Kurul Onayı: Düzce Üniversitesi, Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulunun 06.01.2021 tarih ve 2021/01/01 sayılı onay belgesi alındı.
Çıkar Çatışması: Tüm yazarlar bu çalışma için çıkar çatışması olmadığını açıklarlar.
Finansal Destek: Yoktur.
Hasta Onamı: Çalışma deneysel olduğu için hasta onamı alınmamıştır.

Ethics Committee Approval: Duzce University Experimental Animals Local Ethics Committee's approval certificate dated 06.01.2021 and numbered 2021/01/01 was received.
Conflict of Interest: All authors declare that there is no conflict of interest for this study.
Funding: None.
Informed Consent: Since the study was experimentally, there was no patient consent.

Kaynaklar

1. Solomkin JS, Mazuski JE, Bradley JS, et al. Diagnosis and management of complicated intra-abdominal infection in adults and children: guidelines by the Surgical Infection Society and the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis. 2010;50(2):133-64. https://doi.org/10.1086/649554
2. Ramos AFN, Miranda JL. Propolis: a review of its anti-inflammatory and healing actions. J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis. 2007;13(4):697-710. https://doi.org/10.1590/S1678-91992007000400002
3. Trerè D. AgNOR staining and quantification. Micron. 2000;31(2):127-31. https://doi.org/10.1016/S0968-4328(99)00069-4
4. Kabaklioglu M, Eroz R, Kaya M. Evaluation of the Effects of Rapamycin Treatment on Antioxidant Enzyme Changes and AgNOR in Testicular Torsion. Konuralp Medical Journal. 2021;13(1):45-54. https://doi.org/10.18521/ktd.845245
5. Cruse PJ, Foord R. The epidemiology of wound infection. A 10-year prospective study of 62,939 wounds. Surg Clin North Am. 1980;60(1):27-40. https://doi.org/10.1016/S0039-6109(16)42031-1
6. Rojczyk E, Klama-Baryła A, Łabuś W, Wilemska-Kucharzewska K, Kucharzewski M. Historical and modern research on propolis and its application in wound healing and other fields of medicine and contributions by Polish studies. J Ethnopharmacol. 2020;262:113159. https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113159
7. Tkachenko O, Karas JA. Standardizing an in vitro procedure for the evaluation of the antimicrobial activity of wound dressings and the assessment of three wound dressings. J Antimicrob Chemother. 2012;67(7):1697-700. https://doi.org/10.1093/jac/dks110
8. Lotfy M, Badra G, Burham W, Alenzi FQ. Combined use of honey, bee propolis and myrrh in healing a deep,

infected wound in a patient with diabetes mellitus. Br J Biomed Sci. 2006;63(4):171-3. https://doi.org/10.1080/09674845.2006.11732742
9. Astrada A, Nakagami G, Jais S, Sanada H. Successful treatment of a diabetic foot ulcer with exposed bone using Trigona honey: a case study. J Wound Care. 2019;28(Sup12):S 4-S8. https://doi.org/10.12968/jowc.2019.28.Sup12.S4
10. Askari M, Saffarpour A, Purhashemi J, Beyki A. Effect of Propolis Extract in Combination with Eugenol-Free Dressing (Coe-PakTM) on Pain and Wound Healing after Crown-Lengthening: A Randomized Clinical Trial. J Dent (Shiraz). 2017;18(3):173-80.
11. Al-Waili N. Mixing two different propolis samples potentiates their antimicrobial activity and wound healing property: A novel approach in wound healing and infection. Vet World. 2018;11(8):1188-95. https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.1188-1195
12. Vlcekova P, Krutakova B, Takac P, Kozanek M, Salus J, Majtan J. Alternative treatment of gluteofemoral fistulas using honey: a case report. Int Wound J. 2012;9(1):100-3. https://doi.org/10.1111/j.1742-481X.2011.00844.x
13. Kwiecińska-Piróg J, Skowron K, Śniegowska A, et al. The impact of ethanol extract of propolis on biofilm forming by Proteus Mirabilis strains isolated from chronic wounds infections. Nat Prod Res. 2019;33(22):3293-7. https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1470513
14. Kucharzewski M, Kubacka S, Urbanek T, Wilemska-Kucharzewska K, Morawiec T. Stan scheller: the forerunner of clinical studies on using propolis for poor and chronic nonhealing wounds. Evid Based Complement Alternat Med. 2013:456859. https://doi.org/10.1155/2013/456859
15. Khodabakhshi D, Eskandarinia A, Kefayat A, et al. In vitro and in vivo performance of a propolis-coated polyurethane wound dressing with high porosity and antibacterial efficacy. Colloids Surf B Biointerfaces. 2019;178:177-84. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.03.010
16. Adomavičiūtė E, Stanys S, Žilius M, Juškaitė V, Pavilonis A, Briedis V. Formation and Biopharmaceutical Characterization of Electrospun PVP Mats with Propolis and Silver Nanoparticles for Fast Releasing Wound Dressing. Biomed Res Int. 2016:4648287. https://doi.org/10.1155/2016/4648287
17. Casalone E, Cavalieri D, Daly G, Vitali F, Perito B. Propolis hosts a diversemicrobial community. World J Microbiol Biotechnol. 2020;36(3):50. https://doi.org/10.1007/s11274-020-02827-0
18. Loureiro KC, Barbosa TC, Nery M, et al. Antibacterial activity of chitosan/collagen membranes containing red propolis extract. Pharmazie. 2020;75(2):75-81.
19. Scorza CA, Gonçalves VC, Scorza FA, et al. Propolis and coronavirus disease 2019 (COVID-19): Lessons from nature. Complement Ther Clin Pract. 2020;41:101227. https://doi.org/10.1016/j.ctcp.2020.101227
20. Derenzini M, Hernandez-Verdun D, Pession A, Novello F. Structural organization of chromatin in nucleolar organizer regions of nucleoli with a nucleolonema-like and compact ribonucleoprotein distribution. J Ultrastruct Res. 1983;84(2):161-72. https://doi.org/10.1016/S0022-5320(83)90127-2
21. Eroz R, Cucer N, Unluhizarci K, Ozturk F. Detection and comparison of cut-off values for total AgNOR area/nuclear area and AgNOR number/nucleus in benign thyroid nodules and normal thyroid tissue. Cell Biol Int. 2013;37(3):257-61. https://doi.org/10.1002/cbin.10038
22. Eroz R, Unluhizarci K, Cucer N, Ozturk F. Value of argyrophilic nucleolar organizing region protein determinations in nondiagnostic fine needle aspiration samples (due to insufficient cell groups) of thyroid nodules. Anal Quant Cytopathol Histpathol. 2013;35(4):226-31.
23. Eroz R, Unluhizarci K, Cucer N, Baltaci D, Oktay M. Comparison of AgNOR Count and AgNOR Surface Area/Total Nuclear Surface Area Proportions to Sex and Age in Cases with Cystic Nodular Goitre. Konuralp Medical Journal. 2012;4(2):31-35.
24. Shiina H, Urakami S, Shirakawa H, et al. Evaluation of the argyrophilic nucleolar organizer region, nuclear DNA content and mean nuclear area in transitional cell carcinoma of bladder using a quantitative image analyzer. Eur Urol. 1996;29(1):99-105. https://doi.org/10.1159/000473726
25. Eroz R, Tasdemir S, Dogan H. Is there any relationship between decreased AgNOR protein synthesis and human hair loss? Biotech Histochem. 2012;87(8):494-8. https://doi.org/10.3109/10520295.2012.698307
26. Eroz R, Yilmaz S, Cucer N. Argyrophilic nucleolar organizing region associated protein synthesis in hair root cells of humans at different developmental stages and sex. Biotech Histochem. 2013;88(5):267-71. https://doi.org/10.3109/10520295.2013.769632
27. Eroz R, Okur M, Ozkan A, Berik O, Gunes C. Does higher NORs expression affect the developmental stages of Down syndrome infants? Genet Couns. 2012;23(2):249-53.
28. Ertekin T, Bozkurt O, Eroz R, et al. May argyrophilic nucleolar organizing region-associated protein synthesis be used for selecting the most reliable dose of drugs such as rhamnetin in cancer treatments? Bratisl Lek Listy. 2016;117(11):653-8. https://doi.org/10.4149/BLL_2016_126
29. Nisari M, Yilmaz S, Eroz R, Ertekin T, Bircan D, Ulger H. The detection of curcumins' antitumoral effects via argyrophilic nucleolar organizing region-associated protein synthesis in mice with ehrlich's ascitic carcinoma. Bratisl Lek Listy. 2017;118(1):61-5. https://doi.org/10.4149/BLL_2017_012
30. Nisari M, Eröz R. Does capsaicin have therapeutic benefits in human colon adenocarcinoma? Selection of the most reliable dose via AgNOR. Turk J Med Sci. 2020;50(4):1076-81. https://doi.org/10.3906/sag-2003-251