

PAPER DETAILS

TITLE: Enerjilendirilmiş Oksijen Türevi ve Hodan Yağı İçeren Bitkisel Formülasyonun Etkinliğinin İn Vitro ve İn Vivo Çalışmalar ile Değerlendirilmesi

AUTHORS: Hasan Hüseyin Demirel, Özlem Erdal Altıntaş, Sevim Feyza Erdoğan

PAGES: 88-97

ORIGINAL PDF URL: <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/4450965>

Evaluation of the Efficacy of a Herbal Formulation Containing Energised Oxygen Derivative and Borage Oil by *In Vitro* and *In Vivo* Studies

Hasan Hüseyin Demirel^{1*}, Özlem ERDAL ALTINTAŞ², Sevim Feyza ERDOĞMUŞ³

¹Department of Laborant and Veterinary Health, Bayat Vocational School, Afyon Kocatepe University, Afyonkarahisar, Türkiye

²Department of Nutrition and Dietetics, Faculty of Health Sciences, Afyonkarahisar Health Sciences University, Afyonkarahisar, Türkiye

³Department of Basic Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmacy, Afyonkarahisar Health Sciences University, Afyonkarahisar, Türkiye

ABSTRACT

The use of medicinal and aromatic plants for therapeutic purposes dates back to ancient times. In parallel with technological developments, there has been a notable increase in interest in botanical-based medicinal products. The products developed using advanced formulation techniques are safe, effective and rapid in the treatment of wounds and abrasions. In this study, the cytotoxicity of borage oil was evaluated *in vitro* on human dermal fibroblast cells. The effectiveness of a herbal formulation containing borage oil and energized oxygen molecules on second-degree *in vivo* burn modeling was determined. According to cytotoxicity test results showed that Borage oil did not have a toxic effect on human dermal fibroblast cells. It was determined that the herbal formulation was significantly more effective in second-degree burns than the control group. It is thought that the wound healing effect of the herbal formulation occurs thanks to the antimicrobial, antifungal, antioxidant and cell proliferation-increasing effects of Borage oil. The results obtained showed that the herbal formulation has the potential to be used in the treatment of second-degree burns.

Keywords: Energized oxygen molecules, Borage oil, Burn

Enerjilendirilmiş Oksijen Türevi ve Hodan Yağı İçeren Bitkisel Formülasyonun Etkinliğinin *In Vitro* ve *In Vivo* Çalışmalar ile Değerlendirilmesi

ÖZ

Tıbbi ve aromatik bitkiler çok eski çağlardan bu yana tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Teknolojik gelişmelere paralel olarak bitkisel içerikli medikal ürünlere olan ilgi giderek artmaktadır. İleri formülasyon teknikleriyle geliştirilen bu ürünler, yara ve yanıkların tedavisinde güvenilir, hızlı ve etkili bir şekilde kullanılabilir. Bu çalışmada, hodan yağının sitotoksitesi insan dermal fibroblast hücreleri üzerinde *in vitro* olarak değerlendirilmiştir. Hodan yağı ve enerjilendirilmiş oksijen molekülü içeren bitkisel içerikli formülasyonun ikinci derece *in vivo* yanık modellemesi üzerindeki etkinliği belirlenmiştir. Sitotoksite test sonuçları Hodan yağının insan dermal fibroblast hücreleri üzerinde toksik bir etkisinin bulunmadığını göstermiştir. Bitkisel formülasyonun ikinci derece yanıklarda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde etkili olduğu belirlenmiştir. Bitkisel formülasyonun yara iyileştirici etkinliğinin Hodan yağının antimikrobiyal, antifungal, antioksidan ve hücre proliferasyonunu artırıcı etkisi sayesinde gerçekleştiği düşünülmektedir. Elde edilen sonuçlar; bitkisel formülasyonun ikinci derece yanıkların tedavisinde kullanılabilme potansiyeli olduğunu göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Enerjilendirilmiş oksijen molekülleri, Hodan yağı, Yanık

To cite this article: Demirel HH, Erdal Altıntaş Ö, Erdoğan SF. Evaluation of the Efficacy of a Herbal Formulation Containing Energised Oxygen Derivative and Borage Oil by *In Vitro* and *In Vivo* Studies. Kocatepe Vet J. (2025);18(1):88-97

Submission: 18.12.2024

Accepted: 01.03.2025

Published Online: 05.03.2025

ORCID ID: HHID:0000-0002-4795-2266 ÖE A:0000-0003-4680-1738 SFE: 0000-0002-4319-7558

*Corresponding author e-mail: hdemirel@aku.edu.tr

GİRİŞ

Organizmanın hayati işlevlerini sürdürebilmesi için çeşitli fonksiyonların yerine getirilmesi, deri aracılığıyla sağlanır. Derinin bütünlüğü ve işlevselliği, bir dizi faktör tarafından olumsuz etkilenebilir ve bu durum yara oluşumuna yol açabilir. Yaraların iyileşmesi, derinin işlevinin yeniden kazanılması ve doku bütünlüğünün sağlanması açısından büyük bir öneme sahiptir. Yara iyileşme sürecinde birçok biyokimyasal ve hücrel mekanizma devreye girerken, hücrel yapıların ve doku tabakalarının yeniden oluşumu gerçekleşir. Yanıklar, organizmanın belirli bölgelerinin aşırı ısı, elektrik, kimyasal maddeler ve radyasyon gibi etkenlere maruz kalması sonucunda meydana gelen cilt yaralanmalarıdır (Ordin ve Sütsünbuloğlu 2017). Yanıklar, derinliklerine göre birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü derece olmak üzere dört ayrı kategoriye ayrılır (Markiewicz Gospodarek ve ark. 2022; Noor ve ark. 2022). Birinci derece yanıklar, derinin en üst katmanını olan epidermis tabakasının etkilendiği yaralanmalardır ve bu tür yanıklar genellikle kırmızı, kuru ve ağrılı bir görünüm arz eder. Yaralanmadan sonraki birkaç gün içerisinde ise epitelyumda kabuklaşma gözlemlenebilir. Bu tür yanıklar, birkaç gün içinde iz bırakmadan iyileşebilir (O'Brien ve Billmire 2008). Genellikle sıcak su dökülmesi, alev veya sıcak bir nesneyle temas sonucu oluşan ve derinin hem dermis hem de epidermis tabakasını etkileyen yanıklar ikinci derece yanık olarak sınıflandırılır. Bu tür yanıklar, doku hasarının daha fazla olduğu, ağrılı ve enfeksiyona açık yaralardır (Hussain 2013). Derinin tüm katmanlarının zarar gördüğü yanıklar üçüncü derece yanıklar olup, bu tür yanıkların kendiliğinden iyileşme yeteneği yoktur ve genellikle ağrılıdır. Üçüncü derece yanıklarda cerrahi tedavi uygulanmazsa skar gelişimi, sepsis ve ölüm riski artar. Kas, tendon ve kemiklerin de etkilendiği derin yanıklar ise dördüncü derece yanık olarak adlandırılır ve mutlaka cerrahi müdahale gerektirir (Patel ve ark. 2008; Suha ve Sanam 2022). Yaraların iyileşme sürecinde uygun çevresel koşulların sağlanması büyük önem taşır. Yara bakımında en sık kullanılan ürünler arasında kremler bulunur. Güçlü antimikrobiyal özelliklere sahip enerjilendirilmiş oksijen molekülleri (EOM), krem formülasyonlarında yer alabilir. Bu moleküller kararsız bileşiklerdir ve belirli bir yarılanma süresi sonunda enerjilerini kaybederek tekrar nötr oksijen moleküllerine dönüşürler. Serbest radikal olmadıkları için, triozon molekülleri olarak bilinen ozondan farklıdır. Güneş ışınları veya 254 nm dalga boyundaki ışınlar, oksijen moleküllerini enerjilendirilmiş oksijen türevlerine dönüştürebilir. Oksijen molekülleri, bu enerji ile birbirleri arasında geçici bağlar kurarak enerji depolarlar. Profoks jeneratörü, az miktarda elektrik enerjisi kullanarak havadan elde ettiği oksijenle EOM üretebilir (Tecer ve Gündüz 2021). EOM'ların yağ içinde tutunma oranı yüksek olduğu için çeşitli krem formülasyonlarında baz olarak kullanılabilirler (Okumuş ve ark. 2023).

Tıbbi ve aromatik bitkiler arasında önemli bir grup, yağ içeren bitkilerden oluşur. Özellikle sağlık sektöründe, bu bitkilerden elde edilen sabit yağlara olan ilgi artmıştır. Bu bitkilerden biri olan *Borago officinalis* L. (Hodan), Boraginaceae ailesine aittir. 30-60 cm boyunda, sert tüylü, açık mavi çiçeklere sahip olan bu yıllık otsu bitkinin yaprakları sebze olarak kullanılır (Baytop 1999). Boraginaceae ailesi dünya genelinde 100 cins ve yaklaşık 2000 tür ile temsil edilir ve tropikal, subtropikal ve ılıman bölgelerde yaygın olarak bulunur. Aile üyeleri genellikle yıllık, iki yıllık veya çok yıllık otsu bitkiler olup, nadiren çalı veya ağaç formunda olabilirler. Yaprakları basit, alternan dizilişli ve genellikle sert tüylü, nadiren tüsüzdür (Evans 2002; Tanker ve ark. 2007). Boraginaceae familyasına ait bitkiler genellikle Akdeniz Bölgesi'nde yetişir ve Türkiye florasında bu aileye ait 34 cins ve 315 tür doğal olarak bulunur (Davis 1978, 1988; Özhatay 2011). Bu bitkilerin tohumları, özellikle γ -linolenik asit açısından oldukça zengindir. γ -linolenik asit, linoleik asidin doymamış bir metaboliti olup, başlıca doymamış yağ asitlerinden biridir (Sönmez ve ark., 2018). İçeriğindeki γ -linolenik asit, multiple skleroz, diyabet, kalp hastalıkları, artrit, egzama, immün bozukluklar, kanser ve adet öncesi ağrılar gibi sağlık sorunları üzerinde faydalı etkiler gösteren bir yağ asididir (Gupta ve ark. 2010; Al-Khamees ve ark. 2011). Literatür verilerine göre, Hodan bitkisi, biyolojik aktiviteleri nedeniyle sağlık üzerinde iyileştirici etkiler gösteren bir ajan olarak kullanılmaktadır. Bazı araştırmalar, bu bitkinin solunum, idrar yolu ve cilt hastalıklarının yanı sıra kalp-damar hastalıkları ve iltihaplı durumlarda da destekleyici tedavi olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur (Pieszak ve ark. 2012; Karimi ve ark. 2017). Hodan yağı, hodan çiçeği tohumunun soğuk sıkılması sonucu elde edilen bir yağdır. Protein, mineral ve vitamin bakımından zengin olduğu için sağlık alanında kullanılır. Özellikle cilt sağlığına olan katkılarıyla bilinen hodan yağı, bu konuda oldukça başarılıdır. Yapılan araştırmalar, cildin elastikiyetini artıran kolajen üretimini desteklediğini göstermiştir. Aynı zamanda cilde dolgunluk veren bu yağ, cilt kırılganlıklarını da giderme konusunda oldukça etkilidir (Michalak ve ark. 2023).

Yanıkların tedavisi üzerine çeşitli çalışmalar yapılmasına ve ürünler elde edilmesine rağmen bunların maliyeti yüksek olması, yan etkilere sebebiyet vermesi gibi kullanımlarını kısıtlayan birçok etken vardır. Bu nedenle bu ürünlere alternatif ürünler geliştirilmesi oldukça önemlidir. Bu çalışmada, tıbbi öneme sahip Hodan yağı ve enerjilendirilmiş oksijen molekülleri içeren bitkisel formül ilk kez *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar ile değerlendirilmiştir.

EOM içeren Bitkisel İçerikli Formülasyon Hazırlanması

Profoks jeneratörü kullanılarak EOM (Enerjilendirilmiş Oksijen Molekülleri) elde edildi (Tecer ve Gündüz 2021; Okumuş ve ark. 2023). Bu jeneratör, saf oksijeni enerjilendirilmiş oksijen moleküllerine dönüştürme yeteneğine sahiptir. Bu dönüşüm, 254 nm dalga boyunda yoğun UV ışını yayan elektron sintilatörleriyle gerçekleştirilen reaktörlerde sağlanmaktadır. Nano delikler içeren bu sintilatörlerden geçen elektronlar, 254 nm dalga boyunda plazma ışımasını oluşturur. Kapasitör yapısındaki bu reaktörler, belirli bir rezonans frekansında bobinle indüklenir ve LC rezonans devresi sayesinde elektronların nano tüplerden geçişine imkan tanır. Reaktörler, AC 50.000 volt potansiyelinde indüklenerek çalışır. Bu sistemler, tetra oksijen üretmenin yanı sıra, zeytinyağı gibi bitkisel yağlarla da etkileşime girme potansiyeline sahiptir. Bu çalışmada, EOM moleküllerinin üretimi için zeytinyağı kullanıldı. Ayrıca, yara iyileştirme özelliği kazandırmak amacıyla formülasyona Hodan yağı eklendi ve en uygun formülasyonun etkinliği *in vivo* yanık modellemesiyle değerlendirildi (Okumuş ve ark. 2023).

Formül 1: EOM + Hodan yağı (1:1 v/v)

Formül 2: EOM + Hodan yağı (2:1 v/v)

Formül 3: EOM + Hodan yağı (3:1 v/v)

Formül 4: EOM + Hodan yağı (4:1 v/v)

Formül 5: EOM + Hodan yağı (5:1 v/v)

In Vitro Sitotoksikite Testi (MTT)

Hodan yağının HDFa hücre hattı (ATCC, PCS-201012) üzerindeki sitotoksik etkisi, MTT testi ile değerlendirildi. Hücreler, %10 (v/v) oranında fetal buzağı serumu (FBS), %1 (v/v) penisilin-streptomisin ve %1 (v/v) (1 mM) glutamin içeren DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) besiyeri kullanılarak, %5 CO₂ ortamda 37 °C'de inkübe edildi. MTT testi, 96 kuyucuklu mikropalakalar kullanılarak yapıldı. Her kuyucuğa 2×10⁴ hücre eklenip 200 µL besiyeri ile 37 °C'de inkübe edildi. Hücreler %70 veya daha fazla konfluent hale geldikten sonra, 200 µL Hodan yağının iki kat halinde azalan konsantrasyonları eklenerek 24 saat daha 37 °C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonrası her kuyucuğa 20 µL MTT çözeltisi (5 mg/mL, PBS içinde) ilave edilip aynı koşullarda inkübasyona bırakıldı. Ardından MTT çözeltisi uzaklaştırılıp, her kuyucuğa 200 µL DMSO eklenerek 5 dakika inkübasyona devam edildi. Absorbans, ELISA plaka okuyucusunda 570 nm dalga boyunda ölçüldü. Kontrol grubundaki hücrelerin canlılık oranı %100 kabul edilerek, deneysel hücrelerin canlılık oranları aşağıdaki formül ile hesaplandı (Denizot ve Land 1986). EOM için yapılan bir önceki çalışmada, HDFa hücreleri üzerinde sitotoksik etkisi olmadığı belirlenmiştir (Okumuş ve ark. 2023).

% Hücre canlılığı = (örneğin absorbans değeri / kontrolün absorbans değeri) * 100

In Vivo Çalışmalar

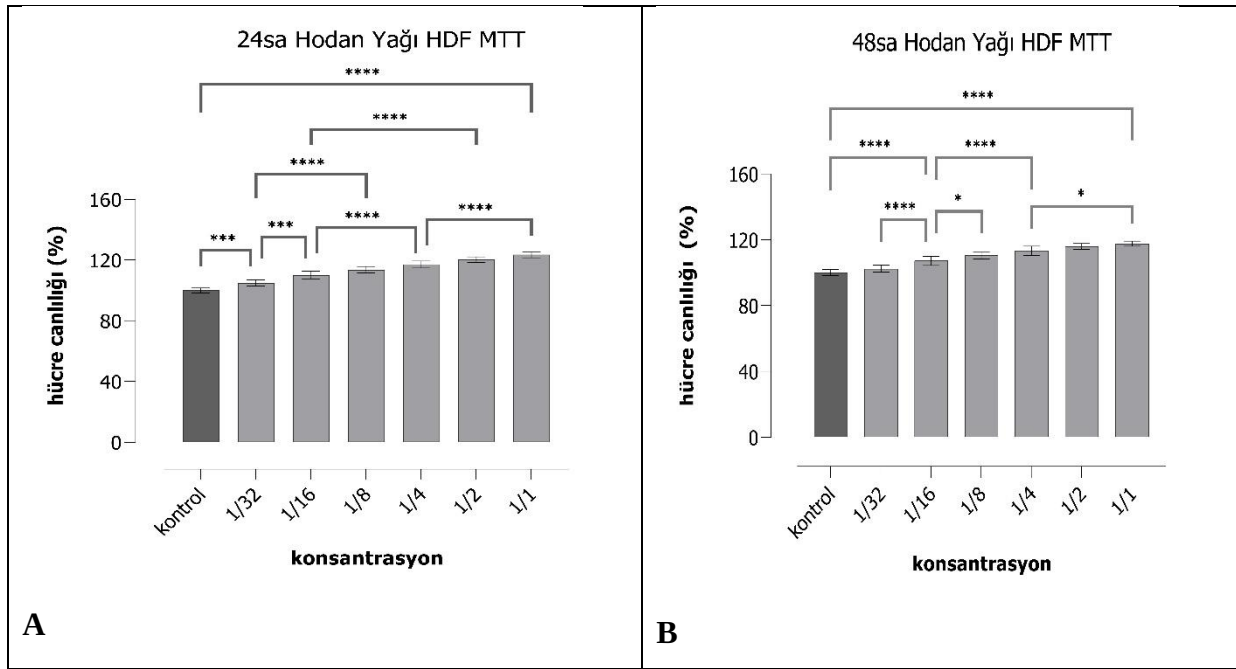
Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesinden temin edilen 18 adet erkek Sprague Dawley cinsi sıçan, 200-300 gram ağırlığında kullanıldı. Hayvanlar, deney sürecine başlamadan önce 7 gün boyunca ortama adapte olmaları için uygun oda sıcaklığında (25°C) ve nem oranı (%50-55) ile barındırıldı. Bu süre zarfında sıçanlara sınırsız miktarda sıçan yemi ve içme suyu sağlandı. Çalışmanın yapılabilmesi için Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan (AKUHADYK) 49533702/261 numaralı onay alındı. İkinci derece yanık modellemesinin değerlendirilmesinde 250-300 g ağırlığında Wistar albino erkek sıçanlar kullanıldı. Deneyde, sıçanlara 12 saat açlık uygulandıktan sonra, 87 mg/kg ketamin ve 13 mg/kg ksilazin ile anestezi sağlandı. Ardından, sıçanların vücut yüzey alanlarının %10'unu geçmeyecek şekilde 1x1 cm boyutunda iki metal plaka 30 saniye boyunca kaynar suda bekletildi ve bu plakalar deneklerin tıraş edilmiş sırtlarına 10 saniye süreyle basılarak ikinci derece yanık oluşturuldu (Okumuş ve ark. 2023). Bu çalışmada, 18 erkek sıçan kullanılarak her biri 6 sıçandan oluşan 3 grup oluşturuldu (Okumuş ve ark. 2023). Negatif kontrol (NK) grubunda hiçbir terapötik ajan kullanılmazken, pozitif kontrol (PK) grubunda yara iyileştirici etkisi bilinen *Centella asiatica* bitkisinin ekstresiyle yapılmış olan Madecassol kremi uygulandı. Üçüncü grupta ise sıçanlara EOM ve Hodan yağı içeren bitkisel formülasyon uygulandı. Yanık oluşumunun ardından, her gruptan 0., 3., 7., 14. ve 21. Günlerde sıçanlar anestezi altına alınarak yanık bölgesinden biyopsi alındı ve örnekler nötral tamponlu formalin ile fikse edildi. Örnekler, ilk olarak akan su altında bir gece bekletildikten sonra, etanol (%50-%100) ve ksilen çözücülerinden geçirildi. Ardından 58 °C'de erimiş parafinle infiltrasyon yapılarak parafin bloklara gömüldü. Mikrotom (Leica RM2245) kullanılarak parafin bloklardan 5-7 µm kalınlığında kesitler alındı. Ardından örnekler, toplamda 20 dakika süreyle üç kez ksilende bekletildi. Örneklerin hidrasyonu için sırasıyla birinci absolü alkolde 5 dakika, ikinci absolü alkolde, %96'lık alkolde, %80'lik alkolde ve %70'lik alkolde her biri 3 dakika süreyle bekletildikten sonra, distile suda 5 dakika süreyle yıkama işlemi uygulandı. Sonrasında, Harris Hematoksilen ile 10 dakika bekletilerek çekirdek boyaması yapıldı. Boya fazlası, çeşme suyu altında iyice yıkandıktan sonra eozin solüsyonuna alındı ve 5 dakika süreyle boyama işlemi tamamlandı. Boyama sonrası örnekler, sırasıyla %80, %96'lık alkol ve iki kez absolü alkolden geçirilerek, şeffaflaştırma için 5'er dakika süreyle üç farklı ksilende bekletildi ve son olarak entellan ile kapatıldı (Demirel vd, 2023). Boyanmış kesitler, araştırma mikroskopu (Nikon Corporation, Tokyo, Japonya) ile incelenip fotoğraflandı. Çalışma sonuçları, SPSS 22.0 yazılımı (SPSS Software, IBM, ABD) kullanılarak One Way ANOVA testi ile değerlendirildi (Okumuş ve ark. 2023).

BULGULAR

Hodan yağının HDFa hücreleri üzerinde 24, 48 saat boyunca sitotoksik etki göstermediği belirlenmiştir. Hodan yağının konsantrasyon artışına bağlı olarak 24. ve 48. saatlerde % hücre canlılığı değerlerinde artış olduğu tespit edilmiştir. Hodan yağının 1/1 konsantrasyonda kullanıldığında en yüksek hücre canlılığı 24. saatte $123,511 \pm 2,00$ ve 48. saatte $117,690 \pm 1,54$ olarak saptanmıştır (Şekil 1). Konsantrasyon artışına bağlı olarak hücre canlılığı değerlerinin de arttığı gözlenmiştir. Graph Pad Prism 9 (GraphPad Software, Inc., USA) programında One Way ANOVA, Tukey's çoklu karşılaştırma testi ile istatistiksel analizleri yapılmıştır ($p \leq 0.05$). EOM ve Hodan yağı formülasyonları krem formu bakımından

değerlendirilmiştir. En homojen, sürülebilir formdaki ve nötröl pH'daki formülasyon olan iki numaralı formül *in vivo* çalışmalarda kullanılmıştır (Okumuş ve ark. 2023).

İkinci derece *in vivo* yanık modellemesi üzerinde iki numaralı formülün iyileştirici etkisi test edilmiştir. *İn vivo* deney gruplarının Image J programı kullanılarak ölçülen yanık alanlarının iyileşme yüzdeleri Tablo 1'de belirtilmiştir. Birinci gün alınan biyopsilerde yanık derinliği değerlendirilmiş ve ikinci derece derin yanık oluşturulduğu belirlenmiştir. *İn vivo* deney gruplarının farklı uygulama günlerindeki yanık alanı görüntüleri Şekil 2'de gösterilmiştir. EOM+HY grubu 3., 7., 14. ve 21. günlerde sırasıyla $30,53 \pm 3,93$, $57,41 \pm 2,27$, $80,62 \pm 4,83$ ve $99,98 \pm 0,00$ olarak saptanmıştır.



Şekil 1. Hodan yağının HDFa hücre canlılığı üzerindeki etkisi
Figure 1. Effect of borage oil on HDFa cell viability

Tablo 1. *İn vivo* deney gruplarının ImageJ programı kullanılarak ölçülen yanık alanlarının iyileşme yüzdeleri
Table 1. Healing percentages of burn areas of *in vivo* experimental groups measured using ImageJ programme

İn vivo çalışma grupları (n=10)	Uygulama Günleri			
	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	14,87±2,29 ^c	29,26±2,74 ^d	52,76±2,41 ^c	80,89±3,38 ^b
PK	37,17±5,83 ^a	55,43±5,72 ^{ab}	90,83±1,42 ^a	99,98±0,00 ^a
EOM+HY	30,53±3,93 ^b	57,41±2,27 ^a	80,62±4,83 ^b	99,98±0,00 ^a
p değeri	0.000	0.000	0.000	0.000

NK: Negatif Kontrol, **PK:** Pozitif Kontrol, **EOM+HY:** Enerjilendirilmiş oksijen molekülleri ve hodan yağı içeren bitkisel formül
a, b, c, d: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan yanık iyileşmesi $P < 0,05$ değerleri istatistiksel açıdan önemlidir.
Ortalama $\pm$ standard sapma; n=6

Histopatolojik Değişiklikler

Birinci gün alınan biyopsilerde yanık derinliği değerlendirilmiş ve ikinci derece derin yanık oluşturulduğu belirlenmiştir. *İn vivo* deney gruplarının farklı uygulama günlerindeki yanık alanı görüntüleri ve istatistik değerlendirmeleri Şekil 2 ile Tablo 2’de gösterilmiştir. Deney gruplarındaki hayvanlara ait bitkisel formülasyonun reepitelizasyon, neovaskülarizasyon, granülasyon, kollajen, inflamatuvar hücre düzeyleri üzerine etkileri histopatolojik olarak ayrıntılı bir şekilde tanımlanmış ve Tablo 2 ile Şekil 3’de gösterilmiştir. Negatif kontrol grubu histopatolojik olarak incelendiğinde 3. günde epidermis ve dermis tabakalarının hemen hemen çoğunluğunun yanıktan etkilendiği ve nekrotik dokuların oluştuğu belirlendi. 7. günde dermis ve epidermis sınırında kopmaların oluştuğu, inflamatuvar hücre oluşumlarının şekillendiği dikkati çekti. 14. günde dermis epidermis sınırında çok sayıda inflamatuvar hücre oluşumuyla karakterize granülasyon dokusu oluşumu dikkati çekti. Yer yer kollajen ve fibrositlere de rastlandı. Ancak hakim hücrelerin çoğunluğu inflamatuvar nitlikte olduğu belirlendi. Neovaskülarize alanlar da dikkati çekti. 21. gün incelendiğinde ise inflamatuvar hücrelerin sayısı 14. güne göre azalırken fibrositlere ve kollajen oluşumlarının şekillendiği dikkati çekti. Ayrıca kısmi bir epitelizasyonun oluştuğu fark edildi. Pozitif kontrol grubu dokuları incelendiğinde 3. günde dermis ve epidermisin yanıktan etkilendiği kıl folikülü ve yağ ile ter bezlerinde de hasarların oluştuğu tespit edildi. Buna

ilaveten nekrotik doku olumu da dikkat çekmekteydi. 7. günde dermis ve epidermisteki nekrotik dokuda ayrılmalar göze çarparken, fibrotik ve inflamatuvar hücrelerin oluşumu da dikkati çekti. 14. günde kabuk yapısının ortadan kalktığı ve fibrotik dokuların çoğalma, inflamatuvar hücrelerin ise azalma eğiliminde olduğu belirlendi. Ayrıca en üst katmanda epitelizasyonun da fark edilir derecede oluştuğu saptandı. 21. gün incelendiğinde ise; dermiste birbirine sıkı bir şekilde bağlanmış kollajen lifler dikkati çekti. İnflamatuvar hücre sayısının azaldığı görüldü. Epidermis alanında yer yer karatınize epitelin oluştuğu tespit edildi. EOM+HY grubu incelendiğinde ise; 3. günde dermis ve epidermisi içine alan ikinci derece yanık oluşumunun şekillendiği belirlendi. Epidermis ve dermiste nekrotik dokuların oluşumu ile birlikte inflamatuvar hücreler ve neovaskülarize alanlar izlendi. 7. günde, nekrotik dokuda azalma ile birlikte fibrotik ve inflamatuvar hücrelerin varlığı dikkati çekti. 14. günde granülasyon dokusunun arttığı ve yoğun kollajen oluşumu görüldü. 21. günde inflamasyonun azaldığı yoğun bir fibrotik doku tespit edildi. Ayrıca epitelizasyonun çoğunluğunun tamamlanmış olduğu fark edildi. Negatif kontrol, pozitif kontrol ve enerjilendirilmiş oksijen molekülleri ve hodan yağı içeren bitkisel formül grubu dokularında reepitelizasyon, neovaskülarizasyon, granülasyon, kollajen, inflamatuvar hücre düzeyleri istatistiksel açıdan incelendiğinde aralarındaki farkın anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Deney Grupları	Uygulama Günleri				
	0.gün	3. gün	7.gün	14.gün	21.gün
NK					
PK					
EOM+HY					

Şekil 2. *İn vivo* deney gruplarının farklı uygulama günlerindeki yanık alanı görüntüleri

Figure 2. Burn area images of *in vivo* experimental groups on different application days

NK: Negatif Kontrol, PK: Pozitif Kontrol, EOM+HY: Enerjilendirilmiş oksijen molekülleri ve hodan yağı içeren bitkisel formül

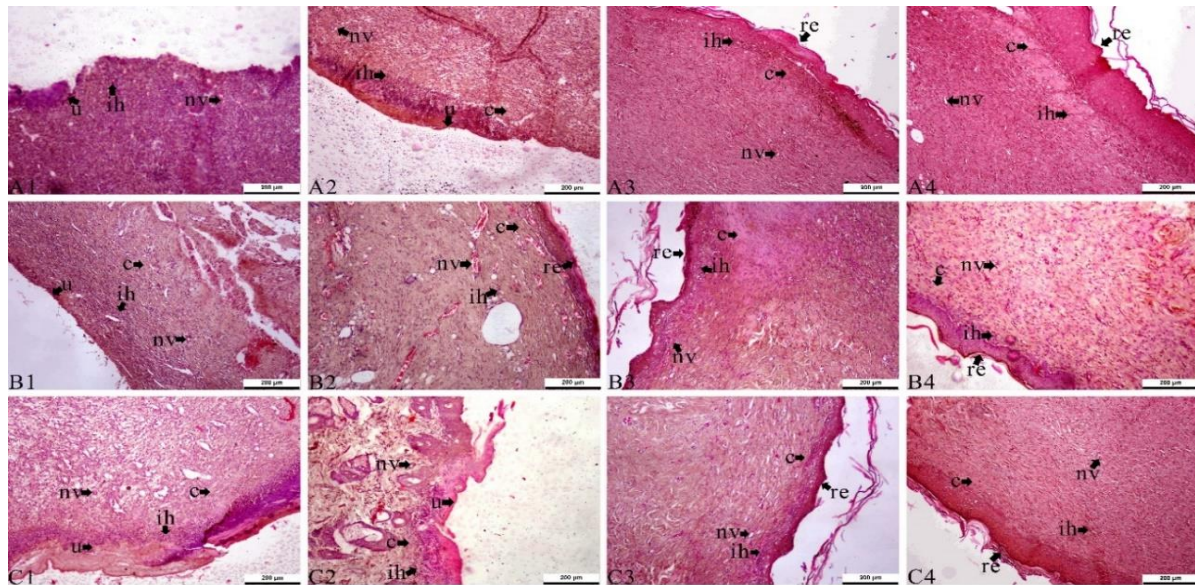
Tablo 2. Bitkisel formülasyonun reepitelizasyon, neovaskülarizasyon, granülasyon, kollajen, inflammatuar hücre düzeyleri üzerine etkileri.

Table 2. Effects of herbal formulation on reepithelialisation, neovascularisation, granulation, collagen, inflammatory cell levels.

<i>In Vivo</i> Grupları (n=6)	Reepitelizasyon	Neovaskülarizasyon	Granulasyon	Kollajen	İnflammatuar Hücre
NK-3. gün	0,16±0,40 ^g	0,50±0,54 ^c	2,16±0,40 ^{ab}	1,01±0,16 ^g	2,83±0,40 ^a
NK-7. gün	0,33±0,51 ^g	0,83±0,75 ^c	2,01±0,12 ^{bc}	1,16±0,40 ^{fg}	2,66±0,51 ^{ab}
NK-14. gün	1,01±1,16 ^{defg}	2,01±0,89 ^b	1,50±0,54 ^{cde}	1,50±0,54 ^{defg}	2,50±0,54 ^{abc}
NK-21.gün	0,83±0,75 ^{defg}	2,33±0,81 ^{ab}	0,33±0,81 ^{gh}	1,66±0,81 ^{cdefg}	2,50±0,54 ^{abc}
PK-3.gün	0,33±0,51 ^g	1,01±0,63 ^c	2,01±0,63 ^{bc}	2,16±0,98 ^{abcde}	2,16±0,75 ^{abcd}
PK-7.gün	1,51±0,54 ^{cdef}	2,33±0,81 ^{ab}	1,01±0,16 ^{ef}	2,33±1,03 ^{abcd}	2,33±0,51 ^{abc}
PK-14.gün	2,66±0,51 ^{ab}	3,01±0,96 ^a	0,83±0,40 ^{fg}	2,83±0,40 ^a	2,01±0,16 ^{bcd}
PK-21.gün	2,83±0,41 ^a	2,83±0,40 ^{ab}	0,00±0,00 ^h	2,33±0,81 ^{abcd}	1,33±0,51 ^f
EOM+HY-3.gün	0,66±0,52 ^{cfg}	0,83±0,41 ^c	2,66±0,51 ^a	2,16±0,75 ^{abcde}	2,50±0,54 ^{abc}
EOM+HY-7.gün	0,83±0,40 ^{defg}	2,16±1,32 ^{ab}	1,33±0,51 ^{def}	2,50±0,83 ^{abc}	2,33±0,52 ^{abc}
EOM+HY-14. gün	2,50±0,83 ^{abc}	2,66±0,52 ^{ab}	1,16±0,40 ^{def}	2,66±0,51 ^{ab}	1,83±0,40 ^{cdef}
EOM+HY-21. gün	2,51±0,84 ^{abc}	2,83±0,41 ^{ab}	0,00±0,00 ^h	2,50±0,83 ^{abc}	1,33±0,52 ^f
p değeri	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

NK: Negatif Kontrol, **PK:** Pozitif Kontrol, **EOM+HY:** Enerjilendirilmiş oksijen molekülleri ve hodon yağı içeren bitkisel formül
a, b, c, d, e, f, g, h: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan yanık iyileşmesi ($P<0,05$) değerleri istatistiksel açıdan önemlidir.

Ortalama ± standard sapma; n=6



Şekil 3. Erkek ratların deri dokularında enerjilendirilmiş oksijen türevi ve hodon yağı içeren bitkisel formülasyonun etkinliğinin *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar ile değerlendirilmesi. Tüm şekiller H&E ile boyanmıştır. Orijinal büyütme oranı olarak 10x ve 200 µm kullanılmıştır. (A) Negatif kontrol grubunu, (B) Pozitif Kontrol (C) Enerjilendirilmiş oksijen molekülleri ve hodon yağı içeren bitkisel formül (1) 3.gün, (2) 7. Gün, (3) 14. gün, (4) 21.gün yanık uygulanan ratları göstermektedir. **re:**reepitelizasyon, **nv:** neovaskülarizasyon, **u:**ulkus, **ih** : inflammatuar hücre, **c:** kollajen birikim alanlarını göstermektedir.

Figure 3. Evaluation of the efficacy of herbal formulation containing energised oxygen derivative and borage oil in skin tissues of male rats by *in vitro* and *in vivo* studies. All figures were stained with H&E. 10x and 200 µm were used as original magnification. (A) Negative control group, (B) Positive Control (C) Herbal formulation containing energised oxygen molecules and borage oil (1) 3rd day, (2) 7th day, (3) 14th day, (4) 21st day burned rats. **re:** reepithelialisation, **nv:** neovascularisation, **u:** ulcer, **ih:** inflammatory cell, **c:** collagen deposition areas.

TARTIŞMA

Son yıllarda yara ve yanıkların tedavisinde yan etkilere sebebiyet vermeyen bitkisel içerikli ürünlerin kullanımı daha çok tercih edilmektedir (Hajjalyani ve ark. 2018). Tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanımıyla ilgili her geçen gün yeni bilgilerin keşfedilmesi, biyoteknolojik gelişmeler ile ileri formülasyon teknolojilerinin kullanılması ile birlikte bitkisel içerikli medikal preparatlar geliştirilmektedir. Bu ürünler, tıbbi ve aromatik bitkiler sahip oldukları biyoaktif bileşenler sayesinde antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, aneljezik v.b. etkileri ile yara ve yanıkların tedavisinde daha etkili olabilmektedir. Bu çalışma kapsamında, sağlık alanında yaygın olarak kullanılan Hodan yağı ve antimikrobiyal etkinliğe sahip EOM içeren bitkisel içerikli formülasyonun etkinliği değerlendirilmiştir.

Hodan bitkisi, karaciğer hücrelerini etkileyen toksik pirrolizidin alkaloidleri (likopsamin, supinidin, amabilin ve intermedin) içerdiğinden harici kullanım için tavsiye edilir (Pieszak ve ark. 2012). Fitokimyasal analizler hodan otunun karbonhidratlar, yağ asitleri, fitosteroidler, polifenoller (vanilik, p-kumarik, p-hidroksibenzoik, gentisik, kafeik, sinapik, rosmarinik ve klorojenik asitler, kersetin, isorhamnetin ve kaempferol), tanenler, saponinler içerdiğini göstermektedir. Mukoid bileşikler, organik asitler (askorbik, malik, sitrik, asetik ve laktik asit), tokoferoller, allantoin, mineral tuzları ve vitaminler bakımından zengin olduğunu göstermiştir (Asadi-Samani ve ark. 2014; Abu-Qaoud ve ark. 2018; Kareem ve Hamad 2020). Yapılan çalışmalar Hodan bitkisinin biyoaktif madde içeriği nedeniyle antioksidan, antiinflamatuvar, yaşlanma karşıtı, UV koruyucu, yatıştırıcı veya yumuşatıcı etkileriyle topikal cilt ürünlerinde kullanılabilir olduğunu göstermiştir (Asadi-Samani ve ark. 2014; Zemmouri ve ark. 2019). Hodan bitkisinde bulunan önemli bir bileşik grubu, serbest radikalleri temizleme yetenekleriyle bilinen polifenollerdir. Fenolik asitler, flavonoidler ve bunların türevleri dahil olmak üzere fenolik bileşiklerin antioksidan özellikleri, aromatik bir halkaya bağlı hidroksil gruplarının varlığıyla ilişkilidir. Bitki polifenoller cilt fonksiyonu için önemli maddeler olarak kabul edilir. Polifenoller, kollajen ve elastin liflerinin hidrolizini katalize eden cilt kollajenazı ve elastazda bulunan enzimlerin aktivitesini inhibe eder (Michalak ve ark. 2022). Hodan tohumlarından elde edilen Hodan yağı, çeşitli endüstrilerde kullanılan değerli bir hammaddedir. Soğuk preslenmiş yağ olarak veya besin takviyesi formunda küresel pazarda değerli bir stoktur. Cilt sağlığı ve genel refah için çok önemli olan γ -linolenik asit gibi esansiyel yağ asitleri açısından zengindir. Ayrıca yağda alfa lipoik asit, flavonoidler, selenyum ve çeşitli vitaminler de bulunur (Pieszak ve ark. 2012; Schäfer ve ark. 2022). Hodan tohumu yağında γ -linolenik asit varlığından dolayı potansiyel anti-inflamatuvar etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (Asadi-Samani ve ark. 2014). Hodan yağı, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, yatıştırıcı, besleyici ve

nemlendirici özellikleri nedeniyle egzama, sedef hastalığı ve sivilce tedavisini desteklemesi nedeniyle kozmetikte geniş uygulama alanı bulmaktadır. Ayrıca atopik dermatit tedavisinde önemli olan uygun hidrolipid bariyerinin korunmasına da katkıda bulunur. Farmasötik kullanımları, kardiyovasküler destekten romatoid artritin tedavisine yardımcı olmaya ve hatta potansiyel olarak kanser riskini azaltmaya kadar uzanır. Hodan yağının zihinsel performansı arttırdığı ve omega-3 yağ asitlerine atfedilen depresyon gibi zihinsel bozuklukların riskini azalttığı bilinmektedir (Pieszak ve ark. 2012; Obiedzińska ve ark. 2012; Kaźmierska ve ark. 2017).

Michalak ve ark. (2023); *Borago officinalis* bitkisinin metanol ve su-metanol özütlерinin fenolik profilleri ve biyolojik aktivitelerini analiz etmişlerdir. Flavonoidler (astragalin, kaempferol 4-glukozit, rutosid ve vitexin) ve fenolik asitler (kafeik, klorojenik, 3,4-dihidroksifenilasetik, ferulik, p-hidroksibenzoik, protokatekuik, rosmarinik ve siringik) olmak üzere on iki bileşik saptanmıştır. İnsan keratinositleri (HaCaT) ve fibroblastlar (BJ) üzerinde yapılan *in vitro* testlerin sonuçları, özütlерinin cilt hücrelerindeki reaktif oksijen türlerinin hücre içi seviyesini azaltabildiğini göstermiştir. Protein denatürasyonunun, lipoksijenaz aktivitesinin ve proteinaz aktivitesinin inhibisyonunu değerlendirmek için yapılan testler, Hodan özütlерinin anti-inflamatuvar özelliklere sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca, bitkinin metanol özütü, yaşlanma karşıtı özelliklerin göstergesi olan hem kolajenaz hem de elastaz aktivitesinde güçlü bir inhibisyonu göstermiştir. Sonuçlar, Hodan bitki özlerinin cilt hücresi koruması bağlamında faydalı özelliklere sahip değerli biyoaktif bileşiklerin kaynağı olduğunu göstermiştir.

Başka bir çalışmada Farahpour ve ark. (2012), Hodan özütünün sıçan derisi yara iyileşme modelinde etkileri, histopatolojik çalışmalar ile değerlendirilmiştir. Sıçanlara %1,5 hodan merhemi, öserin-vazelin ve kontrolden oluşan 3 grup oluşturulmuştur. Tüm sıçanlara 21 gün boyunca günlük olarak topikal merhemler uygulanmıştır. Histopatolojik inceleme sonuçları, test gruplarının yara boyutunun kontrol grubuyla karşılaştırıldığında erken dönemde küçüldüğünü göstermiştir. Hodan ile histopatolojik değerlendirmede diğer gruplarla, kontrol ve plaseboyla karşılaştırıldığında anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Mevcut çalışma Hodan bitki özütünün yara iyileşme sürecini destekleyebildiğini göstermiştir.

Bu çalışmalara benzer olarak bizim çalışmamızda Hodan yağı ve EOM içeriğine sahip bitkisel formül ikinci derece yanık modellemesi üzerinde yara iyileştirici etkinliği test edilmiş olup sonuçlar kontrol grubuna elde edilen formülasyonun yara iyileştirici etkisinin olduğunu ve piyasada yara iyileştirici etkinliğiyle bilinen ve pozitif kontrol olarak kullanılan kremin etkinliği ile yakın değerlere sahip olduğunu göstermiştir. *In vivo* deney gruplarının yanık alanlarının

iyileşme oranları; 7. günün sonunda bitkisel formül uygulanan grupta $57,41 \pm 2,27$ iyileşme belirlenmişken bu oran pozitif kontrol grubunda $55,43 \pm 5,72$ ve negatif kontrol grubunda ise $29,26 \pm 2,74$ olarak belirlenmiştir. 14. günün sonunda bitkisel formül uygulanan grupta $80,62 \pm 4,83$ iyileşme belirlenmişken bu oran pozitif kontrol grubunda $90,83 \pm 1,42$ ve negatif kontrol grubunda ise $52,76 \pm 2,4$ olarak saptanmıştır. 21. günün sonunda ise bitkisel formül uygulanan grupta $99,87 \pm 0,00$ iyileşme belirlenmişken bu oran pozitif kontrol grubunda $99,98 \pm 0,00$ ve negatif kontrol grubunda ise $80,89 \pm 3,38$ olarak saptanmıştır.

Yara iyileşme süreci; inflamasyon, proliferasyon, rejenerasyon ve hücre sel yanıtın yer aldığı karmaşık bir süreçtir. Yara iyileşme sürecinde, keratinositler, fibroblastlar, endotelial hücreler, makrofajlar ve plateletler büyük rol oynamaktadır. Özçelik (2009) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, 2. derece yanık yaralarında yara bölgesine enjekte edilen trombosit zengin plazmanın fibroblast aktivasyonunu ve kollajen oluşumunu artırdığı iddia edilmektedir. Bu çalışmada, birinci gruptaki histopatolojik örnekler incelendiğinde, 14. günde fibroblast aktivasyonunun başladığı gözlemlenmiştir. 21. günde ise fibroblast aktivasyonuna bağlı olarak belirgin bir kollajenizasyonun geliştiği ortaya konmuştur. Öte yandan, 14. günde kontrol grubu örnekleri değerlendirildiğinde, fibroblast aktivasyonunun henüz başlamadığı tespit edilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada Subrahmanyam (1998), 2. derece yanık yaralarının tedavisinde bal kullanımının etkinliğini ortaya koymaktadır. Araştırmanın 7. gününde epitelizasyonun gerçekleştiği, 21. günde ise tamamlandığı vurgulanmaktadır. Ayrıca, Yüksel (2012) tarafından sıçanlar üzerinde gerçekleştirilen bir diğer çalışmada, $0,9\%$ luk sodyum klorür, 1% lik gümüş sülfadiazin ve 10% luk povidon iyot kullanıldığı belirtilmektedir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, 7., 14. ve 21. günlerde yapılan değerlendirmelerde, epitelizasyon ve kollajenizasyon açısından gruplar arasında anlamlı bir farkın olmadığı ifade edilmektedir. Buz (2012) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, 2. derece yanık yaralarının (parsiyel kalınlıkta) tedavisi amacıyla taurin, L-karnitin ve glutatyon gibi mezoterapik ajanlar kullanılmıştır. Bu çalışma sonucunda, uygulanan mezoterapik ajanların kontrol grubuna kıyasla epitelizasyon ve kollejenizasyon süreçlerini artırdığı gözlemlenmiştir. Ancak, 22. günde elde edilen örneklerin değerlendirilmesi sonucunda, taurin, L-karnitin ve glutatyonun kollejenizasyon ve epitelizasyon üzerinde yüzeysel bir etki yarattığı ifade edilmiştir. Bizim çalışmamız da yapılan incelemelerde bitkisel formülasyonun reepitelizasyon, neovaskülarizasyon, scar ve ulkus, kollajen, inflamatuvar hücre düzeyleri açısından birbirleri ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farkın olduğu ve literatürdeki çalışmaları destekler nitelikte olduğu belirlenmiştir.

Bu çalışmada 3,7,14 ve 21. günde alınan örneklerden yapılan histopatolojik incelemeler sırasında; EOM+HY uygulandığı olgulardan alınan örneklerde epitelizasyonun kontrol grubuna göre daha önce başladığı 7. günde, devam ettiği ve 21. günde tamamlandığı ortaya konulmuştur. EOM+HY grubu pozitif kontrol grubu ile yakın iyileşme süreci göstermiştir. Ayrıca kontrol grubunda ise, epitelizasyonun yetersiz düzeyde olduğu 21. günde epitelizasyonun henüz tamamlanmadığı saptanmıştır. Bu şekilde EOM+HY uygulanan yanık yaralarında yara iyileşme evrelerinin epitel onarımının negatif kontrole göre daha hızlı bir şekilde oluşturduğu belirlenmiştir.

SONUÇ

Bitkisel içeriğe sahip medikal ürünler ucuz ve kolay bulunabilirliği, yan etkilerinin olmaması veya çok az olması nedeniyle sentetik ilaçlara alternatif ürünler olarak değerlendirilmektedir. Bu çalışma kapsamında Hodan yağı ve enerjilendirilmiş oksijen molekülleri içeren bitkisel içerikli formülasyonun etkinliği ilk kez ikinci derece *in vivo* yanık modellemesi üzerinde değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen veriler; bitkisel formülasyonun ikinci derece yanıklar üzerinde pozitif kontrole yakın derecede etkili olduğunu ve ilaç geliştirme çalışmalarından kullanılabilme potansiyeli bulunduğunu göstermiştir. Bu iyileştirici etkinin bitkisel formülasyon içeriğindeki biyoaktif bileşenlerden kaynaklı antimikrobiyal, antifungal ve antioksidan etkisi sayesinde yara iyileşmesini desteklediği düşünülmektedir. Bu durum, yara/yanık iyileşmesinde kullanılan tıbbi öneme sahip bitkilerin, reepitelizasyon ve kolajenizasyonu hızlandırıcı maddelerle birlikte kullanımının yanık tedavisine önemli bir katkı sunacağını göstermektedir. Bu çalışma kapsamında elde edilen sonuçların klinik araştırmalar ile desteklenerek ürünün ticarileştirilebilmesi ve böylece karşılaşılan klinik vakalarda yanıkların daha kısa sürede iyileşmesine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Çıkar çatışması: Yazarların bildirecekleri herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

Yazarların Katkı Oranları: Yazarlar bu makaleye eşit oranda katkı sağlamışlardır.

Etik onay: Bu çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Araştırma Hayvanları Uygulama Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir. Bu araştırma Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (AKUHADYEK, Ref No: 49533702/261,Tarih: 31/10/2024).

- Abu-Qaoud, H., Shawarb, N., Hussien, F., Jaradat, N., & Shtaya, M. (2018). Comparison of qualitative, quantitative analysis and antioxidant potential between wild and cultivated *Borago officinalis* leaves from palestine. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 31(3).
- Al-Khamees, W. A. A., Schwartz, M. D., Alrashdi, S., Algren, A. D., & Morgan, B. W. (2011). Status epilepticus associated with borage oil ingestion. *Journal of Medical Toxicology*, 7, 154-157.
- Asadi-Samani, M., Bahmani, M., & Rafieian-Kopaei, M. (2014). The chemical composition, botanical characteristic and biological activities of *Borago officinalis*: a review. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 7, S22-S28.
- Baytop, T. (1999). Türkiye'de bitkiler ile tedavi: geçmişte ve bugün. Nobel Tıp Kitabevleri.
- Buz, A. (2012). Parsiyel kalınlıkta termal yanıkların tedavisinde mezoterapinin etkinliği-deneyisel çalışma. Uzmanlık Tezi, Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Zonguldak.
- Davis PH, (1978). Editor. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol. 6, Edinburgh: University Press; p. 237-437. Davis PH, Mill RR, Tan K, 1988. Editors. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol. 10 (Supplement). Edinburgh: University Press.
- Demirci, T., Hasköylü, M. E., Eroğlu, M. S., Hemberger, J., & Öner, E. T. (2020). Levan-based hydrogels for controlled release of Amphotericin B for dermal local antifungal therapy of Candidiasis. *European journal of pharmaceutical sciences*, 145, 105255.
- Demirel, H. H., Zemheri-Navruz, F., Kucukkurt, İ., Arslan-Acaroz, D., Tureyen, A., & Ince, S. (2023). Synergistic toxicity of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid and arsenic alters biomarkers in rats. *Toxicology Research*, 12(4), 574-583.
- Evans WC., (2002). *Trease and Evans Pharmacognosy*. 15th ed. Edinburgh, London, New York, Philadelphia, St Louis, Sydney, Toronto: W.B.Saunders.
- Farahpour, M. R., & Mavaddati, A. H. (2012). Effects of borage extract in rat skin wound healing model, histopathological study. *J Med Plants Res*, 6, 651-6.
- Foster, R. H., Hardy, G., & Alany, R. G. (2010). Borage oil in the treatment of atopic dermatitis. *Nutrition*, 26(7-8), 708-718.
- Gupta, M., & Singh, S. (2010). *Borago officinalis* Linn. an important medicinal plant of Mediterranean region: a review. *Int J Pharm Sci Rev Res*, 5(1), 27-34.
- Hajialyani, M., Tewari, D., Sobarzo-Sánchez, E., Nabavi, S. M., Farzaei, M. H., & Abdollahi, M. (2018). Natural product-based nanomedicines for wound healing purposes: therapeutic targets and drug delivery systems. *International journal of nanomedicine*, 5023-5043.
- Hussain A. (2013). Surgical treatment of acute burns. *Wounds*, 9(4), 54-59.
- Ibrahim, R. M., & Alshammaa, D. A. S. (2023). Pharmacological aspects of *Borago officinalis* (Borage): A review article. *Iraqi Journal of Pharmaceutical Sciences* (P-ISSN 1683-3597 E-ISSN 2521-3512), 32(1), 1-13.
- Kareem, A. T., & Hamad, M. N. (2020). Separation and identification of phenolic acid from *Borago officinalis* (F: Boraginaceae) cultivated in Iraq. *Iraqi Journal of Pharmaceutical Sciences* (P-ISSN 1683-3597 E-ISSN 2521-3512), 29(2), 139-151.
- Karimi, E., Oskoueian, E., Karimi, A., Noura, R., & Ebrahimi, M. (2018). *Borago officinalis* L. flower: A comprehensive study on bioactive compounds and its health-promoting properties. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12, 826-838.
- Kaźmierska, A., Boleśławska, I., & Przysławski, J. (2017). Wpływ wielonienasyconych kwasów tłuszczowych na skórę ze szczególnym uwzględnieniem kwasu gamma-linolenowego. *Nauka Przyroda Technologie*, 11(3), 23.
- Lokman Hakan, T., & Ali Mutlu, G. (2021). Design of a new cold atmospheric plasma reactor based on dielectric barrier discharge for the treatment and recovery of textile dyeing wastewater: Profoks/CAP Reactor. *Sustainable Practices in the Textile Industry*, 285-305.
- Markiewicz-Gospodarek, A., Koziół, M., Tobiasz, M., Baj, J., Radzikowska-Büchner, E., & Przekora, A. (2022). Burn wound healing: clinical complications, medical care, treatment, and dressing types: the current state of knowledge for clinical practice. *International journal of environmental research and public health*, 19(3), 1338.
- Michalak, M. (2022). Plant-derived antioxidants: Significance in skin health and the ageing process. *International journal of molecular sciences*, 23(2), 585.
- Michalak, M., Zagórska-Dziok, M., Klimek-Szczykutowicz, M., & Szopa, A. (2023). Phenolic profile and comparison of the antioxidant, anti-ageing, anti-inflammatory, and protective activities of *Borago officinalis* extracts on skin cells. *Molecules*, 28(2), 868.
- Noor, A., Afzal, A., Masood, R., Khaliq, Z., Ahmad, S., Ahmad, F., & Irfan, M. (2022). Dressings for burn wound: a review. *Journal of Materials Science*, 57(12), 6536-6572.
- Obiedzinska, A., & Waszkiewicz-Robak, B. (2012). Oleje tłoczone na zimno jako żywność funkcjonalna. *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 19(1).
- O'Brien, S. P., & Billmire, D. A. (2008). Prevention and management of outpatient pediatric burns. *Journal of craniofacial surgery*, 19(4), 1034-1039.
- Okumuş, N., Erdoğan, S. F., Altıntaş, Ö. E., Demirel, H. H., & Çelik, S. (2023). Enerjilendirilmiş Oksijen Molekülleri İçeren Bitkisel İçerikli Ürünün Yara İyileşmesi Üzerindeki Etkisinin Değerlendirilmesi. *Kocatepe Veterinary Journal*, 16(2), 195-208.
- Ordin, Y. S., & Sütsünbüloğlu, E. (2017). Yanık yaraları ve hemşirelik bakımı. *Türkiye Klinikleri Journal of Surgical Nursing Special Topics*, 3(3), 216-223.
- Özçelik, Ü. (2009). Kısmi Kalınlıkta Yanık Sonrası Trombosit Zengin Plazmanın Lokal Uygulanmasının Yara İyileşmesi Üzerine Etkileri. Uzmanlık Tezi, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara.

- Özhatay N, Kültür Ş, Gürdal MN. (2011).** Checklist of additional taxa to the supplement Flora of Turkey V. Turk J Bot; 35: 1-36.
- Patel, P. P., Vasquez, S. A., Granick, M. S., & Rhee, S. T. (2008).** Topical antimicrobials in pediatric burn wound management. Journal of Craniofacial surgery, 19(4), 913-922.
- Pieszak, M., Mikolajczak, P. L., & Manikowska, K. (2012).** Borage (*Borago officinalis* L.)-a valuable medicinal plant used in herbal medicine. Herba Polonica, 58(4).
- Schäfer, N., Sobczyk, M., Burczyk, D., Balwierz, R., & Skotnicka-Graca, U. (2022).** Possibilities of using vegetable oils in acne skin care. Aesth. Cosmetol. Med, 11(2), 49-54.
- Subrahmanyam, M. (1998).** A prospective randomised clinical and histological study of superficial burn wound healing with honey and silver sulfadiazine. Burns, 24(2), 157-161.
- Suha, S. A., & Sanam, T. F. (2022).** A deep convolutional neural network-based approach for detecting burn severity from skin burn images. Machine Learning with Applications, 9, 100371.
- Tanker, N., Koyuncu, M., & Coşkun, M. (2007).** Farmasötik Botanik. 3. baskı. Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları.
- Zemmouri, H., Ammar, S., Boumendjel, A., Messarah, M., El Feki, A., & Bouaziz, M. (2019).** Chemical composition and antioxidant activity of *Borago officinalis* L. leaf extract growing in Algeria. Arabian journal of chemistry, 12(8), 1954-1963.