

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

PROPOLİS EKSTRESİNİN DENEYSEL İNFLAMASYON VE
ANTIOKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BERAT YANGI

DANIŞMAN
YRD. DOÇ. DR. M. Cengiz ÜSTÜNER

AĞUSTOS 2012

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

PROPOLİS EKSTRESİNİN DENEYSEL İNFLAMASYON VE
ANTIOKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BERAT YANGI

DANIŞMAN
YRD. DOÇ. DR. M. Cengiz ÜSTÜNER

KABUL VE ONAY SAYFASI

Berat YANGI'nın Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı "Propolis Ekstresinin Deneysel İnflamasyon ve Antioksidan Sistem Üzerine Etkisi" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "KABUL" edilmiştir.

14.08.2012

Üye: Prof. Dr. Hasan Veysi GÜNEŞ

Üye: Prof. Dr. İrfan DEĞİRMENCI

Üye: Doç. Dr. Emre ENTOK

Üye: Doç. Dr. Hülyam KURT

Üye: Yrd. Doç. Dr. M. Cengiz ÜSTÜNER

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 17.08/2012. tarih ve ..925/4306... Sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. KAZIM ÖZDAMAR

Enstitü Müdürü

ÖZET

Vücutta meydana gelen doku hasarı veya patojen mikroorganizma enfeksiyonundan sonra sistemik veya bölgesel yanıtlar oluşur. Hasara karşı oluşan bu cevaba inflamatuvar yanıt veya inflamasyon denir. İnflamasyon; sepsis, aterosklerotik hastalıklar, kanser, romatoid artrit ve myokard infarktüsü gibi birçok hastalığın patofizyolojisinde önemli rol oynar.

Lipopolisakkarit (LPS), gram negatif bakterilerin dış zarının bir parçası olup, inflamatuvar sitokinlerin, serbest oksijen radikallerinin, nitrik oksit ve araşidonik asit metabolitlerinin aşırı üretimine yol açarak çeşitli inflamatuvar hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynar.

Propolis, çeşitli biyolojik ve farmakolojik özelliklerinden dolayı son yıllarda araştırmacıların ilgisini çeken doğal bir bal arısı ürünüdür. Antibakteriyel, antioksidan, antiviral, anti-inflamatuvar, antifungal, antitümör, antihepatotoksik, immünomodülatör, lokal anestetik gibi birçok etkiye sahiptir.

Bu çalışmada propolis ekstraktının deneysel inflamasyon ve antioksidan sistem üzerine olan etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Bunun için lipopolisakkarit (LPS) ile oluşturulan deneysel inflamasyon modeli kullanıldı. Çalışmamızda 42 adet 3 aylık Sprague Dawley soyu erkek sıçan ile 6 deney grubu oluşturuldu. Üç gruba intraperitoneal olarak 1 mg/kg LPS (E. coli, serotip 055-B5) uygulandı. LPS enjeksiyonundan 24 saat sonra tedavi gruplarına 30 ve 90 mg/kg propolis ekstraktı gavaj yolu ile verildi. FDG-PET taraması ile inflamasyon durumunu belirlemek için PET taramasından 1 saat önce ketamin anestezisi altında ¹⁸F -fluoro-deoxy- D-glucose (0,8 ml/kg) intrakardiyak olarak uygulandı. FDG-PET analizinden sonra kan ve doku örnekleri toplandı. Akciğer ve karaciğer ¹⁸F-FDG tutulumu hesaplandı. Karaciğer, böbrek, akciğer dokuları ve eritrosit malondialdehit (MDA) düzeyi, katalaz (KAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi belirlendi.

Çalışma sonunda akciğer, böbrek ve hemolizat MDA seviyeleri inflamasyon kontrol grubunda yüksek bulunurken propolis ile tedavi edilen inflamasyon gruplarında düşük bulundu. İnflamasyon kontrol gruplarının SOD aktivitesi akciğer dokusu ve hemolizatta düşük bulunurken propolis ile tedavi edilen inflamasyon gruplarında yüksek

bulundu. Benzer şekilde inflamasyon kontrol gruplarının KAT seviyesi akciğer dokusu ve hemolizatta düşük bulunurken propolis ile tedavi edilen inflamasyon gruplarında yüksek bulundu. Akciğer ve karaciğer ¹⁸F-FDG tutulumu inflamasyon kontrol gruplarında yüksek olup propolis ile tedavi edilen inflamasyon gruplarında düşük bulundu.

Sonuç olarak, propolisin sıçanlarda LPS ile oluşturulan inflamasyonun ve serbest radikallerin azaltılmasında etkili olduğu bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: FDG-PET, inflamasyon, LPS, oksidatif stres, propolis, sıçan.

ABSTRACT

After tissue injury or infection by pathogen microorganisms in the body, responses of systemic and local events are triggered. This generalized response to injury is referred to inflammatory response or inflammation. Inflammation plays key role in the pathophysiology of many diseases such as sepsis, atherosclerotic disease, cancer, rheumatoid arthritis and myocardial infarction.

Lipopolysaccharide (LPS) is a component of the outer membrane of gram-negative bacteria and it has an important role in the pathogenesis of several inflammatory diseases by causing excessive release of inflammatory cytokines, oxygen free radicals, nitric oxide, arachidonic acid metabolites.

Propolis is a natural bee-product, and because of several biological and pharmacological properties it has attracted researchers' interest in recent years. It has many effects including antibacterial, antioxidant, antiviral, anti-inflammatory, antifungal, antitumor, antihepatotoxic, immunomodulatory, local anesthetic and anticancer activity.

The aim of this study was to investigate the effects of propolis extract on experimental inflammation and antioxidant system.

We used the experimental lipopolysaccharide (LPS)-induced model. Totally, there were 42, 4-month old male Sprague Dawley rats in 6 groups in the study design. In three groups, 1mg/kg of LPS (*E. coli*, serotype 055-B5) was administered to the rats intraperitoneally. 30 mg/kg and 90 mg/kg of propolis extracts were given orally to treatment groups after 24-hours of intraperitoneal LPS injection.

To determine the lung and liver inflammation status via FDG-PET, ¹⁸F-fluoro-deoxy-D-glucose (0,8ml/kg) was administrated under the anesthesia by intracardiac injection before the 1h of PET scanning. After the FDG-PET analyses, blood and tissue samples were collected. Lung and liver ¹⁸F-FDG uptake was calculated. MDA, SOD, and CAT levels were measured in tissues and erythrocyte.

In the study, MDA levels of hemolysate, lung and liver tissues were increased in untreated inflammation group whereas decreased in inflammation groups treated with propolis. SOD activities of inflammation groups were found to be decreased in lung

tissue and hemolysate whereas SOD activities of propolis treated inflammation groups were increased. Similarly, CAT activities of inflammation groups were found to be decreased in lung tissue and hemolysate whereas CAT activities of propolis treated inflammation groups were increased.

Lung and liver ^{18}F -FDG uptake of inflammation groups were increased while lung and liver ^{18}F -FDG uptake of propolis treated inflammation groups were decreased.

As a result, propolis was found to be efficient in reducing inflammation and free oxygen radical production induced by LPS in rats.

Key words: FDG-PET, inflammation, LPS, oxidative stress, propolis, rat.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
SUMMARY	vi
İÇİNDEKİLER	viii
ŞEKİL DİZİNİ	xii
TABLO DİZİNİ	xiv
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. İNFLAMASYON	4
2.1.1. Akut İnflamasyon	5
2.1.1.1. Akut İnflamasyonun Patofizyolojisi	5
2.1.1.2. Akut İnflamasyonun Sistemik Etkileri	6
2.1.1.3. Akut İnflamasyonun Seyri	6
2.1.2. Kronik İnflamasyon	7
2.2. LİPOLİSAKKARİT (LPS)	8
2.3. SERBEST RADİKALLER, OKSİDATİF STRES VE ANTIOKSİDANLAR	9
2.3.1. Serbest Radikaller	9
2.3.1.1. Serbest Oksijen Radikalleri	9
2.3.1.2. Serbest Radikal Kaynakları	10
2.3.1.3. Serbest Oksijen Radikallerinin Biyokimyasal Etkileri	10
2.3.1.3.1. Serbest Radikallerin Lipidlere Etkileri: Lipid Peroksidasyonu	11

2.3.1.3.1.1. Malondialdehit (MDA)	12
2.3.1.3.2. Serbest Radikallerin DNA' ya Etkileri	12
2.3.2. Oksidatif Stres	13
2.3.2. Antioksidan Sistem	14
2.3.2.1. Antioksidan Etki Mekanizması	15
2.3.2.2. Antioksidanların Sınıflandırılması	16
2.3.2.2.1. Enzimatik Antioksidanlar	17
2.3.2.2.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)	17
2.3.2.2.1.2. Katalaz (KAT)	18
2.3.2.2.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)	18
2.3.2.2.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	19
2.4. PROPOLİS	19
2.4.1. Propolisin Fiziksel Yapısı ve Özellikleri	20
2.4.2. Propolisin Kimyasal Yapısı ve Özellikleri	20
2.4.3. Propolisin Biyolojik Yapısı ve Özellikleri	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1. GEREÇ	26
3.1.1. Deney Hayvanları	26
3.1.2. Kimyasal Maddeler	26
3.1.3. Aygıtlar	28
3.2. YÖNTEM	29
3.2.1. Deney Grupları ve Doz Miktarları	29
3.2.2. Deney Planı ve Uygulamalar	30
3.2.2.1. Örneklerin Hazırlanması	31
3.2.2.2. Enzim Aktivitelerinin Ölçümü	33

3.2.2.3. ¹⁸ F-FDG-PET Analizi	38
3.2.2.4. İstatistiksel Analiz	39
4. BULGULAR	40
4.1. KARACİĞER HOMOJENATINA AİT BULGULAR VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER	40
4.1.1. Karaciğer Homojenatında Malondialdehit (MDA) Seviyeleri	40
4.1.2. Karaciğer Homojenatında Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi	42
4.1.3. Karaciğer Homojenatında Katalaz (KAT) Aktivitesi	43
4.2 BÖBREK HOMOJENATINA AİT BULGULAR VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER	45
4.2.1. Böbrek Homojenatında Malondialdehit (MDA) Seviyeleri	45
4.2.2. Böbrek Homojenatında Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi	46
4.2.3. Böbrek Homojenatında Katalaz (KAT) Aktivitesi	47
4.3 AKCİĞER HOMOJENATINA AİT BULGULAR VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER	49
4.3.1. Akciğer Homojenatında Malondialdehit (MDA) Seviyeleri	49
4.3.2. Akciğer Homojenatında Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi	50
4.3.3. Akciğer Homojenatında Katalaz (KAT) Aktivitesi	51
4.4. HEMOLİZATA AİT BULGULAR VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER	53
4.4.1. Hemolizatta Malondialdehit (MDA) Seviyeleri	53
4.4.2. Hemolizatta Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi	54
4.4.3. Hemolizatta Katalaz (KAT) Aktivitesi	55
4.4.4. Akciğer ¹⁸ F-FDG Tutulumu	57

4.4.5. Karaciğer ¹⁸ F-FDG tutulumu	58
5. TARTIŞMA	60
5.1. PROPOLİSİN MDA DÜZEYLERİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ	60
5.2. PROPOLİSİN SOD ENZİM AKTİVİTESİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ	62
5.3. PROPOLİSİN KAT ENZİM AKTİVİTESİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ	64
5.4. PROPOLİSİN ¹⁸ F-FDG TUTULUMU ÜZERİNE OLAN ETKİSİ	66
6. SONUÇ	67
KAYNAKLAR	68

ŞEKİL DİZİNİ

ŞEKİL	SAYFA NO
Şekil 3.1. MDA standart eğrisi	37
Şekil 4.1. Deney gruplarının karaciğer homojenatında MDA değerleri	41
Şekil 4.2. Deney gruplarının karaciğer homojenatında SOD % inhibisyon değerleri	43
Şekil 4.3. Deney gruplarının karaciğer homojenatında katalaz (KAT) değerleri	44
Şekil 4.4. Deney gruplarının böbrek homojenatında MDA değerleri	46
Şekil 4.5. Deney gruplarının böbrek homojenatında SOD % inhibisyon değerleri	47
Şekil 4.6. Deney gruplarının böbrek homojenatında katalaz (KAT) değerleri	48
Şekil 4.7. Deney gruplarının akciğer homojenatında MDA değerleri	50
Şekil 4.8. Deney gruplarının akciğer homojenatında SOD % inhibisyon değerleri	51
Şekil 4.9. Deney gruplarının akciğer homojenatında katalaz (KAT) değerleri	52
Şekil 4.10. Deney gruplarının hemolizatta MDA değerleri	54
Şekil 4.11. Deney gruplarının hemolizatta SOD % inhibisyon değerleri	55
Şekil 4.12. Deney gruplarının hemolizatta katalaz (KAT) değerleri	56
Şekil 4.13. Deney gruplarının akciğer FDG tutulum (SUVmaks) değerleri	58
Şekil 4.14. Deney gruplarının akciğer ve karaciğer ¹⁸ -FDG-PET görüntüleri	58
Şekil 4.15. Deney gruplarının karaciğer FDG tutulum (SUD maks.) değerleri	59

TABLolar DİZİNİ

TABLO	SAYFA NO
Tablo 2.1. Radikal Olan ve Olmayan Oksijen Türevleri	9
Tablo 3.1 Deney grupları, deney gruplarına uygulanan maddeler, miktarları ve uygulamalar	30
Tablo 4.1. Deney gruplarının karaciğer homojenatında MDA değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	41
Tablo 4.2. Deney gruplarının karaciğer homojenatında SOD % inhibisyon değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	42
Tablo 4.3. Deney gruplarının karaciğer homojenatında katalaz (KAT) değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	44
Tablo 4.4. Deney gruplarının böbrek homojenatında MDA değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	45
Tablo 4.5. Deney gruplarının böbrek homojenatında SOD % inhibisyon değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	47
Tablo 4.6. Deney gruplarının böbrek homojenatında katalaz (KAT) değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	48
Tablo 4.7. Deney gruplarının akciğer homojenatında MDA değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	49
Tablo 4.8. Deney gruplarının akciğer homojenatında SOD % inhibisyon değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	51
Tablo 4.9. Deney gruplarının akciğer homojenatında katalaz (KAT) değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	52
Tablo 4.10. Deney gruplarının hemolizatta MDA değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	53
Tablo 4.11. Deney gruplarının hemolizatta SOD % inhibisyon değerleri	

ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	55
Tablo 4.12. Deney gruplarının hemolizatta katalaz (KAT) değerleri	
ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	56
Tablo 4.13. Deney gruplarının akciğer ¹⁸ F-FDG tutulum (SUD maks.) değerleri	
ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	57
Tablo 4.14. Deney gruplarının karaciğer ¹⁸ F-FDG tutulum (SUD maks.) değerleri	
ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	59

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER	Açıklama
EDTA	Etilendiamintetraasetik Asit
LPS	Lipopolisakkarit
SOR	Serbest Oksijen Radikalleri
NF-κB	Nükleer Faktör Kappa B
PNL	Polimorfonükleer Lökosit İnfiltrasyonu
RES	Retikuloendotelial Sistem
IL-1	İnterlökin-1
IL-6	İnterlökin-6
IL-8	İnterlökin-8
TNF-α	Tümör Nekrozu Faktörü Alfa
iNOS	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
COX-2	Siklooksijenaz-2
NO	Nitrik oksit
MDA	Malondialdehit
GAGs	Glikozaminoglikanlar
MN	Mikronükleus
MI	Mitotik indeks
TBA	Tiyobarbitürik asit
HO•	Hidroksil
O ₂ • ⁻	Süperoksit

H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
LOOH	Lipid hidroperoksidi
LOO•	Lipid peroksi radikali
GPx	Glutasyon peroksidaz
SOD	Süperoksit dismutaz
KAT	Katalaz
TİCAM	Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnflamasyon, immünolojik veya immünolojik olmayan her türlü zararlı, yabancı ve yıkıcı etkene karşı organizmanın verdiği doğal savunma yanıtıdır. Bir çok mediyatör ve hücrenin etki ettiği bu doğal savunma yanıtının amacı inflamasyonu tetikleyen nedeni ortadan kaldırmak veya etkisizleştirmek ve/veya doku onarımına yardımcı olmaktır. İnflamasyon, ateroskleroz, miyokard infarktüsü, kanser, romatoid artrit, yenidoğan akciğer hastalığı, sepsis, tüberküloz, sarkoidoz, crohn hastalığı, menenjit gibi ciddi hastalıkların patogeneğinde önemli bir yere sahiptir (2, 25, 71).

Çeşitli inflamasyon modellerinde, endotoksin ile oluşumları tetiklenen serbest oksijen radikalleri gibi moleküllerin inflamasyonun çeşitli aşamalarında rol oynadıkları bilinmektedir (71).

Gram (-) bakterilerin hücre duvarında bulunan lipopolisakkaritler (LPS) vücut tarafından hemen tanımlanmaktadır. Deneysel olarak LPS uygulamasının, kanda inflamasyon mediyatörleri ve serbest oksijen radikalleri (SOR) gibi moleküllerin artışına neden olduğu bildirilmiştir (19, 41, 71, 94). LPS kendini bağlayan protein ile birleştikten sonra monosit ve makrofajların hücre yüzeyinde bulunan reseptörü ile etkileşerek nükleer faktör kappa B (NF-κB)'i uyarıp inflamatuvar olayları başlatmaktadır (89).

Serbest oksijen radikallerinin miktarları organizmada oldukça hassas bir dengededir (23, 49). Serbest oksijen radikalleri ile antioksidanlar arasındaki dengenin bozulması "oksidatif stres" olarak adlandırılmaktadır (4). Serbest oksijen radikallerin birikimine paralel olarak doku-organ hasarının önlenmesi vücudun kendi oluşturduğu "antioksidan sistemi" adı verilen bir savunma mekanizmasıyla sağlanabilmektedir (23, 61). Serbest oksijen radikallerinin zararlı etkileri, antioksidanlar tarafından azaltılır veya tamamen ortadan kaldırılır. Hücre içinde oksijenin metabolize edildiği her yerde antioksidanlar, oksijen ara metabolitlerini azaltmak için hızlı ve spesifik olarak çalışırlar (93). Bitki

kökenli antioksidanlar (örneğin; fenolik asit, kateşin, flavonoidler vs.) redoks özellikleri sayesinde serbest oksijen radikallerinin yakalanmasında ve etkisiz hale getirilmesinde önemli rol oynar (73).

Propolis, *Apis mellifera* (bal arısı)'nın çeşitli bitkilerin yaprak, gövde ve tomurcuklarından topladıkları, reçinemi maddeleri ve bitki salgılarını salgıladıkları enzimlerle biyokimyasal değişikliğe uğratarak oluşturdukları kirli sarıdan, koyu kahverengine değişen renkte ve oda sıcaklığında yarı katı halde bulunan 300'den fazla bileşeni bulunan bir maddedir (6, 9, 35, 59, 74, 75, 95). Propolis; flavonoidler, flavonlar, fenolik asitler, kumarinler, ketonlar, kafeik asit esterleri, alifatik asitler, esterler, terpenoidler, vitaminler ve inorganik maddeleri içerir (9, 35, 75).

Propolisin farmakolojik aktivitesi 4 kategoriye ayrılabilir. Bunlar; biyolojik polimerlere bağlanma eğilimi, ağır metal iyonlara bağlanması, elektron taşınmasının hızlandırılması ve serbest radikalleri tutma kabiliyetidir. Bu özelliklerinden dolayı propolis; antibakteriyel, antifungal, antiviral, antioksidan, antiinflamatuvar, sitotoksik, immünomodülatör, antiülser, antihepatotoksik, lokal anestezi, antitümör, antikanser, immünoestimülantör gibi biyolojik aktiviteler göstermektedir (21, 45, 55, 70, 80, 83).

Serbest radikallerin oluşturduğu hasarlara karşı propolisin koruyucu etkisinin içeriğinde bulunan flavonoidlerin antiinflamatuvar, antioksidan ve serbest radikalleri süpürücü etkisinden ileri geldiği düşünülmektedir. Flavonoidler sadece tepkimelerin artmasını önlemekle kalmayıp aynı zamanda serbest radikallerin oluşumunu da önler. Yapılan araştırmalarda propolis ekstraktlarının SOR'lara karşı antioksidan aktiviteleri araştırılmış, antioksidan özellikte olduğu ve ksantin oksidaz aktivitesini belirgin bir şekilde inhibe ederek serbest radikal oluşumunu önlediği gözlemlenmiştir. Propolisin en önemli antioksidan mekanizması; serbest radikallerin oluşturduğu DNA hasarlarını tamir edici özellikte olmasından ve lipid peroksidasyonuna neden olan polimerize zincir reaksiyonlarını kırıcı özelliği ile SOR'ları dokulardan uzaklaştırıcı etki göstermesinden kaynaklanmaktadır (29, 42, 52, 95).

İnflamasyon kanser gelişimi için önemli bir risk faktörüdür. İnflamasyonun önlenmesi inflamasyon içerikli hastalıkların (pönomoni, ateroskleroz, miyokard infarktüsü, romatoid artrit, sepsis, tüberküloz, sarkoidosis, crohn hastalığı, menenjit, hepatit vb.) tedavisinde büyük öneme sahiptir. İnflamasyonla oluşan serbest radikaller DNA hasarına neden olabilmekte ve kanseri tetikleyebilmektedir. Yapılan literatür taramaları sonucunda, tıbbi özelliği oldukça iyi bilinen propolisin inflamasyon ve serbest radikal oluşumu üzerine olumlu etkilerine rastlanmıştır (38).

Verilen bilgiler doğrultusunda çalışmamızda LPS ile oluşturulan deneysel inflamasyon modelinde propolis ekstresinin inflamasyon ve antioksidan sistem üzerine olan etkilerinin araştırılması planlandı. Araştırmamızdan elde edeceğimiz sonuçların kanser biyogenezi, yeni doğal etken maddelerin geliştirilmesi ve yeni araştırma alanlarının belirlenmesi açısından önemli olacağına inanıyoruz.

2. GENEL BİLGİLER

2. 1. İNFLAMASYON

İnflamasyon travma, infeksiyöz ajanlar ve onların toksik ürünleri, kimyasal maddeler, aşırı sıcak-soğuk gibi fiziksel etkenler, cerrahi girişimler, immun cevap ve iskemi gibi uyarıların başlattığı ve dokuya zarar veren etkenin ortadan kaldırılıp, dokunun onarımını hedef alan biyolojik bir süreçtir (2). Bu lokal zedelenme, vasküler ve hücrel yanıtla yol açarak plazmadan ve lokal hücrelerden çok sayıda inflamatuvar mediyatörün salgılanmasına yol açar (50).

İnflamasyon ilk kez M.S. 1. yy' da Cornelis Celsus tarafından yerel kızarıklık, yerel şişlik, yerel ısı artışı, yerel ağrı olarak tanımlanmıştır. Daha sonra Virchous tarafından "functio laesa" olarak fonksiyon kaybı da beşinci klinik bulgu olarak ilave edilmiştir (25, 50). İnflamasyon; osteoartrit, ateroskleroz, miyokard infarktüsü, kanser, romatoid artrit, sepsis, tüberküloz, sarkoidoz, crohn hastalığı, menenjit gibi bir çok hastalığın patogeneğinde yer alır (2, 25, 71)

İnflamasyon, hücre zedelenmesinin nedenlerini ortadan kaldırmak ve zararlı etkenleri olduğu yerde sınırlı tutarak kontrol sağladıktan sonra, hücrel zedelenme sonucu oluşan nekrotik hücreleri ve dokuları ortamdan uzaklaştırarak dokunun yeniden yapılanmasını ve iyileşmesini başlatan biyolojik bir cevaptır (2).

İnflamasyonun önemli bileşenleri hemodinamik değişiklikler, polimorfonükleer lökosit (PNL) infiltrasyonu ve inflamatuvar mediyatörlerin salgılanmasıdır. Kompleman sisteminin çeşitli reaksiyon ürünleri, kan pıhtılaşma sisteminin reaksiyon ürünleri, araşidonik asit metabolitleri, prostoglandin, nitrik oksit, serbest oksijen radikalleri (SOR), lizozomal enzimler ve uyarılmış lenfosit, monosit ve makrofajlardan salınan, sitokin olarak adlandırılan hormonal maddeler inflamasyondaki semptomlardan ve doku hasarının sınırlandırılmasından sorumlu tutulmuşlardır. Lökositlerin zedelenme

bölgelerinde toplanmaları, burada doku ve hücre hasarına neden olan bir takım inflamatuvar mediyatörleri ve SOR'ni açığa çıkarmaları inflamasyonun gelişimi açısından oldukça önemlidir (2, 31, 64).

İlk olarak nötrofil ve monositler olmak üzere lökositlerin birikimi inflamatuvar reaksiyonun en önemli özelliğidir. İnflamasyonun nedeni bir enfeksiyon ise, ilk savunma hattı doku makrofajlarıdır. Aktif makrofajlar, buldukları retikuloendotelial sistem (RES) dokusundan ayrılarak hareketli hale gelirler ve inflamasyon bölgesine ulaşarak enfeksiyona karşı ilk savunma hattını oluştururlar (25)

İnflamasyonlarla ilgili birçok sınıflandırma olsa da kabul gören sınıflandırma inflamasyon süresi göz önüne alınarak yapılan sınıflandırmadır. Bu sınıflandırmaya göre inflamasyon akut ve kronik olmak üzere ikiye ayrılır (85)

2.1.1. Akut İnflamasyon

Akut inflamasyon, hücre ve dokulardaki hasara karşı kısa sürede ve çok hızlı olarak şekillenir. Vazodilatasyon, vasküler sızıntı, ödem gelişimi ve çoğunlukla polimorfnükleer lökositlerin göçü ile karakterizedir (20)

2.1.1.1. Akut İnflamasyonun Patofizyolojisi

Hücrel hasar oluşumundan sonra, genellikle ilk olarak kısa süreli bir vazokonstriksiyon ve bunu takip eden bir vazodilatasyon meydana gelir. Kimyasal mediyatörlerin salınımı ve hücrel efektörlerin aktivasyonu sonucunda ortaya çıkan lokal vazodilatasyon, kızarıklık ve ısı artışına, mikrovasküler yatakların açılmasına ve interstisyuma bir miktar proteince fakir transudat sızmasına neden olur. Bunu izleyerek şekillenen vasküler permeabilededeki artış ise proteince zengin bir sıvının damar dışına

çıkmasına, vasküler ozmotik basınçta azalmaya ve interstisyel sıvının ozmotik basıncında artışa, dolayısıyla da ödem şekillenmesine yol açar (5, 13, 51).

Vasküler değişikliklerin gelişmesi ile birlikte lökositlerdeki hücresel olaylar şekillenmeye başlar. Tüm bu vasküler ve hücresel olayların şekillenmesinde birçok kimyasal mediyatör görev alır. Vazodilatasyon; prostaglandinler ve nitrik oksit aracılığıyla gerçekleşir. Lökositlerin aktif hale gelmesini; bakteriyel ürünler ve kemokinler (örn: IL-8) neden olur. Ateş gelişmesinde; IL-1, IL-6, TNF- α , prostaglandinler, ağrı şekillenmesinde; prostaglandinler, bradikininler, doku hasarının oluşmasında ise nötrofil ve makrofaj lizozomal enzimleri, oksijen metabolitleri ve nitrik oksit gibi birçok kimyasal mediyatör görev alır (5, 13, 20, 51).

2.1.1.2. Akut İnflamasyonun Sistemik Etkileri

Akut inflamasyonda başlangıçta ortaya çıkan lokal bulgulara ilave olarak sistemik bulgular da şekillenebilir. Akut inflamasyonun başlıca sistemik bulguları ateş, periferik lökositik değişiklikler ve plazma proteinlerindeki değişikliklerdir (20, 85).

2.1.1.3. Akut İnflamasyonun Seyri

Akut inflamatuvar cevabın amacı, hasara neden olan ajanı inaktive ve nötralize etmektir. Akut inflamasyon aşağıdaki muhtemel durumlardan birisi ile sonlanır (5).

Çözülme: Komplike olmayan akut inflamasyonlarda, doku bir rezolüsyon süreci ile normale döner. Bu süreçte, eksudat ve hücre yıkıntıları eritilerek makrofajlar ile lenfatik akım yoluyla ortamdaki uzaklaştırılır (20).

Onarım: İnflamasyona neden olan etken nötralize edilmeden önce dokuda nekroz şekillenmişse, onarım faaliyeti başlatılır. Böylece nekroze dokular ya rejenerasyonla ya da skatriks oluşumu ile iyileşir (20).

İrin oluşumu: Bakteriye enfeksiyonlarda nötrofillerin aşırı şekilde göçleri ile birlikte erime nekrozu şekillenir (irinli inflamasyon). Nekrotik doku ve nötrofillerin likefaksiyona uğrayan kütlesi irin olarak isimlendirilir. İrinli bölgenin bir duvarla çevrilmesi ise apse oluşumu ile sonuçlanır (20).

Kronik inflamasyon: Sebep olan etkenlerin akut inflamatuvar cevap ile nötralize edilemediği durumlarda, vücutta bir immün cevap şekillenir. Bu da kronik inflamasyona neden olur (20).

2.1.2. Kronik İnflamasyon

Kronik inflamasyon, hücre ve dokulardaki hasarın devamlılığı nedeni ile provake edilen, uzun süreli (haftalar, aylar ya da belirsiz süreli) bir durumdur. Mononükleer hücre infiltrasyonu, inflamatuvar hücreler tarafından doku yıkımı, fibrozis ve anjiyogenez ile dokunun onarılması ile karakterizedir (20)

Kronik inflamasyon yüksek kanser riski ile ilişkili bir hastalıktır. Moleküler düzeyde, kronik inflamasyon sırasında oluşan serbest radikaller ve aldehitler, zararlı gen mutasyonlarına ve kanserle ilgili anahtar proteinlerin posttranslasyonel değişikliğine neden olabilir. Sitokinler, büyüme faktörleri ve NF- κ B gibi transkripsiyon faktörleri de dahil olmak üzere inflamasyonun diğer ürünleri, kanser genlerini (örneğin, tümör baskılayıcı genler ve onkogenler) ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve siklooksijenaz-2 (COX-2) gibi önemli inflamatuvar enzimlerin ekspresyonunu kontrol edebilir. Bu enzimler doğrudan SOR ları da etkiler. Kronik inflamasyonun prokanseroz sonuçları; DNA hasarı, artan DNA sentezi, hücre çoğalması, DNA onarımı yollarının ve hücre ortamının bozulması, apoptozis inhibisyonu, anjiyogenez ve invazyonun ilerlemesidir. Kronik inflamasyon aynı zamanda immünsupresyon ile ilişkilidir ve kanser için bir risk faktörüdür (38).

2.2. LİPOPOLİSAKKARİT (LPS)

Gram negatif bakterinin hücre duvarı ve sitoplazmik zarından oluşan yapısına hücre zarfı denir. Hücre zarfı dış zar, orta tabaka ve plazma zarından oluşur. Hücre zarfının primer işlevi sitoplazmik zarı dış etkilerden korumaktır. Dış zar gram negatif bakterilere özgüdür. Dış zarda primer olarak LPS ve porinler (por proteinleri) bulunur. Dış zardan LPS ve protein vezikülleri salgılanabilir. Ayrıca bakteri lizisine bağlı olarak hücre duvarı parçalanınca da ortama LPS yayılır. LPS, amfifilik karakterde (bir ucu hidrofilik, bir ucu hidrofobik), antijenik özelliğe sahip, 10^5 - 10^8 Da moleküler ağırlığı olan büyük bir moleküldür (18).

Escherichia coli (*E. coli*) gibi Gram-negatif bakterilerin hücre duvarının bir bileşeni olan ve "endotoksin" olarak da adlandırılan lipopolisakkaritler (LPS), sıçan ve farelere uygulandığında inflamasyona neden olmaktadır (71). Endotoksin, hepatositlerde üretilen moleküler ağırlığı 58 kilodalton olan bir akut faz reaktanı lipoprotein bağlayıcı protein ile birleşir. Bu yapı, monosit, makrofaj, lenfosit gibi hücrelerin yüzeyinde bulunan molekül ağırlığı 53 kilodalton olan CD14 molekülü ile birleşir. Konakçı hücrelerdeki CD14 molekülü glikozilofosfoinozitol yapısında bir reseptördür. Bu birleşme sonucu, hücre içinde bir sinyal yapımı ortaya çıkar ve nükleustaki NF- κ B aktive olur. TNF- α , IL-8 ve IL-1 gibi proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonu artar (8).

Çeşitli akut ve kronik inflamasyon modellerinde, endotoksin ile oluşumları tetiklenen proinflamatuvar sitokinler ile çeşitli hücrelerde, bir nükleer transkripsiyon faktörü olan NF- κ B' nin uyarılmasının ardından etkinlikleri artan nitrik oksit (NO), indüklenbilir iNOS ve COX-2 aracılığı ile oluşan NO, prostanoitler ve SOR'leri gibi moleküllerin inflamasyonun çeşitli aşamalarında rol oynadıkları bilinmektedir (71).

2.3. SERBEST RADİKALLER, OKSİDATİF STRES VE ANTIOKSİDANLAR

2.3.1. Serbest Radikaller

Atom çekirdeğinin etrafında bulunan elektronlar 'orbital' denilen yörüngelerde hareket halindedir. Kararlı durumlarda ilk orbitalde iki, diğerlerinde sekiz elektron bulunur. Bir veya daha fazla orbitalinde eşleşmemiş elektron bulunan atom veya moleküller serbest radikal olarak tanımlanır. Serbest radikaller kimyasal olarak kararsız yapılardır (54, 77). Dış orbitaldeki eşleşmemiş elektronun eşleşmesini sağlamak ve daha kararlı hale gelmesi için, herhangi bir molekül veya atom ile etkileşime girerek, o yapıdan bir elektron alma veya bir elektron verme eğilimindedirler. Bu nedenden dolayı, diğer moleküllerle reaksiyona girebilecek şekilde aktif bir yapı gösterirler. Serbest radikal oluşumunda moleküle bir elektron eklenmesi biyolojik ortamlarda en sık görülen serbest radikal oluşum şeklidir (32).

2.3.1.1. Serbest Oksijen Radikalleri

Biyolojik ortamlardaki en önemli serbest radikaller, oksijenin radikal türleridir. Reaktif oksijen türleri (ROT) sadece serbest oksijen radikallerini içermeyip, oksijen radikali oluşumunda yer alan, radikal olmayan oksijen türlerini de içerir (32) Radikal olan ve olmayan oksijen türevleri bileşiklerine örnekler tabloda verilmiştir.

Tablo 2.1. Radikal Olan ve Olmayan Oksijen Türevleri

Radikal Oksijen Türleri		Radikal Olmayan Oksijen Türleri	
Hidroksil	HO•	Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂
Alkoksil	RO•	Singlet oksijen	O ₂
Peroksil	ROO•	Ozon	O ₃
Süperoksit	O ₂ • ⁻	Hipoklorid asit	HOCl
Nitrik oksit	NO•	Lipid hidroperoksit	LOOH
Azot dioksit	NO ₂ •	Peroksinitrit	ONOO ⁻

Hidroksil ($\text{HO}\cdot$), süperoksit ($\text{O}_2\cdot^-$) gibi reaktif oksijen türleri ve hidrojen peroksit (H_2O_2) baz değişikliği (modifikasyonları), zincir kırığı ve DNA-protein çapraz bağ kırıkları gibi her türlü DNA hasarına neden olmaktadır. Reaktif oksijen ve azot türleri direk ya da dolaylı olarak hücrel makromoleküllerde geçici ya da kalıcı hasara yol açmaktadır. Böylece, oksidatif stres hasarları oluşur. Nükleik asit, protein ve lipid gibi hücrel makromoleküller üzerinde oksidatif hasarları kanser dahil birçok hastalığın oluşumunda sorumlu tutulmuştur (4, 72).

2.3.1.2. Serbest Radikal Kaynakları

Alkol, uyuşturucu gibi bağışıklık yapan maddeler, infeksiyöz ajanlar, radyasyon, hava kirliliği, pestisitler, solventler, anestezi maddeler, aromatik hidrokarbonlar, sigara ve antineoplastikler ekzojen radikal kaynakları olarak sayılabilir. Mitokondrial elektron transport sistemi, iskemi, travma, inflamasyon, intoksikasyona bağı oksidatif stres durumları, peroksizom enzimleri, tioller, katekolaminler, hidrokinonlar, flavinler, tetrahidroproteinler, endoplazmik retikulum ve nükleus zarındaki elektron transport sistemleri, NADPH oksidaz, lipooksijenaz, prostaglandin sentetaz gibi hücre içi enzimler de endojen radikal kaynaklarıdır (2, 15).

2.3.1.3. Serbest Oksijen Radikallerinin Biyokimyasal Etkileri

Serbest oksijen radikalleri normal metabolizmanın ürünü olarak oluşabildikleri gibi; organizmanın; iyonize radyasyona, oksitleyici ajanlara ve yabancı maddelere maruz kaldığı durumlarda da ortaya çıkabilir. Serbest oksijen radikallerinin en önemli hedefleri lipidler, proteinler ve nükleik asitlerdir. Serbest radikallerin genellikle karşılaştıkları ilk yapı hücre veya zarların lipid bileşenleridir. Ayrıca in vivo ve in vitro yapılan çalışmalarda serbest oksijen radikallerinin karbonhidratlara, lipidlere, proteinlere ve DNA ya zarar verdiği belirtilmiştir (16).

2.3.1.3.1. Serbest Radikallerin Lipidlere Etkileri: Lipid Peroksidasyonu

Hücre zarları çoklu doymamış yağ asitleri açısından zengindir. Çoklu doymamış yağ asitleri, oksitleyici radikaller için kolay hedefler. Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipid peroksidasyonu olarak bilinir ve zincirleme olarak kendiliğinden süren bir reaksiyondur (32, 49).

Bir proton ve bir elektrona sahip olan hidrojen atomu radikal özellik gösterir. Biyolojik bir molekülden bir hidrojen atomu ayrıldığında geride kalan molekülde eşleşmemiş bir elektron bırakır. Hidroksi radikali gibi etkili olan radikaller, bir hidrojen kopararak biyolojik molekül ile etkileşime girerler. Bu lipid peroksidasyonunu başlatan bir reaksiyondur. Bu reaksiyonlar dört basamakta oluşur (4, 30).

1. Başlama basamağı: HO• radikali, bir yağ asidinin (LH) metilen kısmından bir hidrojen atomu (H) kopararak lipid radikali oluşturur.

2. İlerleme basamağı: Zincir reaksiyonu, oluşan lipid radikaline O₂ ilavesi ile devam eder ve lipid peroksi radikali (LOO•) ile lipid hidroperoksidi (LOOH) oluşur.

3. Yıkım basamağı: Tek elektron üzerinden yeniden yapılanma lipid parçalanması ile sonuçlanır. Bu oluşan ürünlerden birisi, malondialdehittir (MDA). Kan ve idrarda saptanabilir.

4. Sonlanma basamağı: Zincir reaksiyonu, antioksidanlar tarafından ayrıca radikallerin birbiri ile tepkime vermesiyle sonlandırılabilir.

Lipid peroksidasyonunun, zar lipid yapısındaki değişiklikler nedeni ile zar işlevinin bozulması, oluşan serbest radikallerin enzimler ve diğer hücre bileşenleri

üzerine etkisi, son ürünler olan aldehitlerin sitotoksik etkileri gibi farklı yollarla hücre hasarına sebep olduğu düşünülmektedir (16).

2.3.1.3.1.1. Malondialdehit (MDA)

Test malzemelerinin etkisini değerlendirmek amacıyla lipid peroksidasyonunun zincir reaksiyonu ürünlerinden birisi olan MDA konsantrasyonu tiyobarbitürik asit (TBA) metodu kullanarak plazma ve karaciğer homojenatında belirlenmektedir. Yöntem TBA ile MDA ve diğer peroksidede lipid yıkım ürünleri reaksiyonu ile oluşan kırmızı kromoforun 532 nm' de absorbansının ölçülmesi esasına dayanmaktadır (3, 4).

2.3.1.3.2. Serbest Radikallerin DNA' ya Etkileri

Sağlığa zararlı oksijen metabolitlerinden doğrudan nükleik asitler de etkilenecek baz hidroksilasyonu, DNA iplikçiklerinin çapraz bağlanması veya kırılmasına yol açabilir. Bu da hücre ölümü veya mutasyonla sonuçlanır. Sitotoksite, büyük oranda nükleik asit baz değişimlerinden ileri gelen kromozom değişikliklerine veya DNA' nın yapısındaki diğer bozukluklara bağlıdır. Hidroksil radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar (4).

Hasar, doğrudan veya dolaylı olabilir. Doğrudan hasar, H₂O₂' den oluşan hidroksil radikalının DNA' ya çok yakın bir yerde oluşması ve onu kırması şeklindedir. Dolaylı olarak ise hücre içi sıvıda serbest Ca⁺²' nin artışı proteazları aktive edebilir. Bunun sonucunda hücre iskeleti bozulur. Nükleazların aktivasyonu sonucu DNA kırılması gerçekleşir. Serbest radikaller ve özellikle malondialdehit, hücre çekirdeğinde başlıca DNA ile tepkimeye girmektedir. Nükleik asit yapısındaki baz değişimleri veya DNA zincir kopması sonucu kromozomal yapıda değişiklikler oluşturarak sitotoksiteye neden olmaktadır. Bugüne kadar oksidatif olarak değişmiş yaklaşık 20 tip DNA saptanmıştır. Sonuçta mutajenik ve kanserojenik etkiler gözlenmektedir (23, 32).

2.3.2. Oksidatif Stres

Serbest radikal molekülleri, antioksidan savunma gücü ile dinamik bir denge içinde bulunduğu sürece organizma için yararlıdır. Örneğin; fagositik hücreler tarafından mikroorganizmaların öldürülmesinin ana mekanizması serbest radikal üretimidir. Serbest radikaller apoptozun tetikleyicisi, habercisi ve efektörü olarak görev yaparlar. Bu şekilde; aşırı hücre çoğalmasını önleyerek homeostazide yer alırlar. Serbest radikaller ikinci haberci olup, transkripsiyon faktörlerini aktive ederler. Hücreler arası haberleşmede görev alırlar. Hücrenin büyümesini sağlayan olayları düzenlerler. Sitozolda ve mitokondride üretilen serbest oksijen radikali, protein sistein kalıntılarının redoksunu düzenleyerek proteinlerin yapı ve işlevinin düzenlenmesinde rol oynarlar (4).

Organizmada serbest radikallerin zararlı etkileri ortaya çıkmadan etkisizleştirilmesini sağlayan güçlü savunma sistemleri bulunmaktadır. Serbest radikallerin oluşum hızı ile etkisizleştirilme hızı dengede olduğu sürece organizma bu bileşiklerden etkilenmemektedir. Buna karşılık savunma azalır ya da bu zararlı bileşiklerin oluşum hızı sistemin savunma gücünü aşarsa, bu denge bozulup serbest radikallere bağlı zararlı etkiler ortaya çıkmaya başlar. Serbest radikaller doku ve hücrelerde oksidatif stres olarak etkilerini gösterirler (16)

Oksidatif Stresin Etkileri

1. Hücre organelleri ve zarındaki lipid ve protein yapısını bozarlar.
2. Hücre içi yararlı enzimleri etkisiz hale getirirler.
3. DNA yapısını bozarlar.
4. Mitokondrilerdeki aerobik solunumu bozarlar.

5. Elastaz, proteaz, fosfolipaz, ksantin oksidaz gibi litik enzimleri aktive eder.
6. Hücrenin potasyum kaybını artırır.
7. Trombosit kümelenmesini artırır.
8. Dokulara fagosit toplanmasını artırır.
9. Hücre dışındaki kollajen doku parçalarını, savunma enzimlerini ve transmitterleri yıkar.
10. Mikro ve makromolekülleri etkileyerek kapiller geçirgenliği bozar.

2.3.2. Antioksidan Sistem

Organizmada sürekli biçimde serbest radikal niteliğinde bileşikler oluşmaktadır. Ancak bu radikallerin organizmaya zarar vermesi güçlü bir savunma sisteminin varlığı nedeniyle engellenmektedir. Bu nedenle serbest radikallerin oluşum hızı ile etkisizleştirme hızının dengede tutulması son derece önemlidir. Bu denge bozulduğu zaman, serbest radikallerin zararlı etkileri ortaya çıkmakta ve çeşitli organ ve sistemler olumsuz etkilenmektedir (30, 62, 96, 97).

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için organizmada birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bunlar "antioksidan savunma sistemleri" ya da kısaca "antioksidanlar" olarak bilinirler. *In vivo* ve *in vitro* deneyler antioksidanların serbest radikallere karşı koruyucu rol oynadığını göstermektedir (16).

Antioksidan etki tipleri dört başlık altında toplanabilir (97).

1. Toplayıcı etki (scavenging)
2. Baskılayıcı etki (quencher)
3. Zincir kırıcı etki (chain breaking)
4. Onarıcı etki (repairing)

Radikallerin aşırı reaktif yapılarına bağlı olarak, hücrenel bileşenlerdeki karbonhidrat, protein ve lipidlerin oksidasyonu ile sonuçlanacak zararın önlenmesi antioksidanların görevidir (16). Serbest oksijen radikallerini etkileyerek, onları tutma veya çok daha zayıf yeni bir moleküle çevirme işlemine toplayıcı etki, serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif hale dönüştürme işlemine baskılayıcı etki, serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak reaksiyon zincirini kıran etkiye zincir kırıcı etki ve tamir fonksiyonuna da onarıcı etki denir (58, 86).

2.3.2.1. Antioksidan Etki Mekanizması

Antioksidanlar etkilerini, şimdiye kadar tespit edilebilen altı değişik mekanizma ile gösterirler. Bu mekanizmalar, birbirinden bağımsız veya bir arada işleyebilmektedirler (16). Bu mekanizmalar:

1. Antioksidan maddeler, oksijen ile reaksiyona girerek ya da onun yerini alarak dokudaki oksijen konsantrasyonunu azaltabilir.

2. Hidroksil (OH•) radikali yapısında yer alan hidrojen atomu ve bağ oluşturabilecek yapıdaki ürünleri ortadan temizleyerek, peroksidasyonun başlamasını önleyebilirler.
3. Hücre zarı lipidlerini direk etkileyerek peroksit oluşturabilen singlet oksijeni baskılayabilir ya da temizleyebilirler.
4. Metal iyonları ile reaksiyona girip, reaktif grupların lipid peroksitlerden peroksil ve alkoksil radikallerinin oluşumunu önleyebilirler.
5. Peroksitler ile reaksiyona girerek, radikal olmayan ürünlere dönüştürebilirler. Örneğin; glutatyon peroksidaz (GPx), peroksitleri bu yolla temizleyen bir antioksidandır.
6. Zincir reaksiyon oluşumuna neden olabilen serbest radikallerle reaksiyona girebilir ve yağ asidi zincirlerinden sürekli hidrojen iyonu salınımını önleyebilir ve böylece zincir reaksiyonları kırabilirler.

2.3.2.2 Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidan sistem; enzimleri, suda ve yağda çözünen radikal tutucularını ve metal iyonlarını bağlayan proteinleri kapsamaktadır. Antioksidanlar genel olarak, endojen kaynaklı ve eksojen kaynaklı antioksidanlar olmak üzere başlıca iki ana grupta toplanır (30, 58, 72). Endojen ve eksojen kaynaklı antioksidanlar primer savunma sistemleri, lipolitik enzimler, proteolitik enzimler ve DNA tamir edici enzimler ise sekonder savunma sistemleri olarak adlandırılır (96).

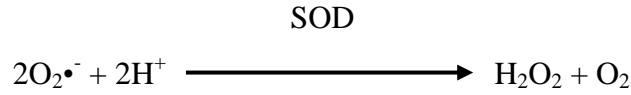
Endojen antioksidanlar enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak iki gruba ayrılırlar (72). Eksojen antioksidanlar, vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olmak üzere sınıflandırılırlar (16).

2.3.2.2.1. Enzimatik Antioksidanlar

Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT) ve glutasyon peroksidaz gibi redoks döngüsünde yer alan enzimler enzimatik antioksidanları oluştururlar. Hücre içindeki primer korunma sistemini meydana getirirler (30, 40). Enzimatik antioksidanlar serbest radikal zincir tepkimesinin başlaması için gerekli olan serbest radikal miktarının azaltılmasını sağladıkları için primer antioksidanlar olarak da tanımlanırlar. Genel olarak enzimatik savunma sistemleri suda çözünerek, sitoplazmadaki zararlı oksijen türevlerini ortadan kaldırırlar (16).

2.3.2.2.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz enzimi süperoksitin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler.



Süperoksit radikalinin ortamdan temizlendiği tepkimeye dismutasyon tepkimesi denir. Bu tepkime SOD enzimi tarafından katalizlenerek iki süperoksit radikalinin kendi aralarında etkileşimini sağlayarak H₂O₂ ve O₂ oluşumu ile sonuçlanır. Bu olay lipid peroksidasyonunu engeller (30, 72). Hücre içerisindeki bölümlerde süperoksit düzeylerini kontrol etmede rol oynar. Mitokondrilerde bulunan sitokrom sistemi, hücre içi sitoplazmik yapıları oksidanların zararlı etkilerinden korur. Fakat bu sistemin yetersiz kaldığı ve oksidatif stresin arttığı durumlarda, SOD ve diğer doğal enzimler devreye girip, organizmada aktivitelerini artırarak koruyucu etkinliklerini sürdürürler (30).

SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır. Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda süperoksit üretimi olmaktadır.

Bu enzim sayesinde intrasellüler süperoksit düzeyleri düşük tutulur. SOD fagosite edilmiş bakterilerin öldürülmesinde de rol oynar (16).

2.3.2.2.1.2. Katalaz (KAT)

Katalaz, hidrojen peroksidin su ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlar. Peroksizomlarda lokalize olmuştur ve hücre dışında bulunmaz. Kan, kemik iliği, böbrek ve karaciğer hücrelerinde bulunur. Katalaz enzimi, hidrojen peroksit ve metil hidroperoksit gibi küçük moleküllere etki ederek oksidazların etkisi ile oluşan toksik H₂O₂'nin direk olarak suya dönüşmesini sağlar (16).

KATALAZ



Böylece ikinci derecede sentezlenen toksik hidroksil radikallerinin temizlenmesini sağlayarak, H₂O₂'nin vücutta birikimini engelleyerek makromolekülleri H₂O₂'nin yıkıcı etkisinden korur (30, 69). Ayrıca kanser, diyabet, retinopati, arteroskleroz, iskemik-reperfüzyon hasarı, nörodejeneratif hastalıklar, beslenme yetersizliği ve yaşlanma gibi birçok çok patolojik olayda ortaya çıkan oksidatif strese karşı savunmada katalaz antioksidan sistemin öncelikli enzimidir (22).

2.3.2.2.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

Glutatyon peroksidaz, tetramerik ve 4 selenyum atomu ihtiva eden sitozolik bir enzim olup, hidrojen peroksitlerin indirgenmesinden sorumludur. Birbirine kenetli enzim sistemi GSH-Px ve GSH-Rd glutatyon harcayarak H₂O₂'nin redüksiyonunu katalizler (22).

2.3.2.2.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

Hücrelerde birçok enzimatik olmayan antioksidanlar bulunmaktadır. Bu sistem enzimatik antioksidan sistemlerinin aktivitesini tamamlayıcı şekilde görev yaparlar. Böylece ortamda aşırı oluşan reaktif oksijen türlerinin temizlenmesi ve enzimlerin *in vivo* ortamda modülasyonunu sağlayarak oluşan hücreleri oksidatif stresten korurlar (16). Bu antioksidanlar kendi aralarında lipid fazda bulunan ve sıvı fazda bulunan antioksidanlar olarak iki kısımda incelenir. Lipid faz antioksidanlarından olan α - tokoferol, dokudaki major E vitamini formu olup, E vitamininin % 80 - % 90' ını oluşturmaktadır. Yağda çözünen ve zincir kırıcı bir antioksidandır (30, 56). Sıvı faz antioksidanlarından askorbik asit, suda çözünen en güçlü antioksidan molekül olup, lipid peroksidasyonunu başlatan radikallerin etkilerini yok ederek, lipidleri oksidasyona karşı korur (30, 69).

2.4. PROPOLİS

Propolis; bal arıları tarafından çam, meşe, huş, okaliptüs, kavak, kestane vb. ağaçlar ve bazı otsu bitkilerin tomurcuk, yaprak ve benzeri kısımlarından toplanır ve kovan içerisinde yarık ve çatlakların onarımı, kovan içinde ölen, ancak kovan dışına taşınamayan arı veya diğer canlıların vücutlarının mumyalanmasında kullanılır. Böylece bunların çürüyüp, mikroorganizma üretmeleri engellenmiş olur. Ayrıca yavru yetiştirme döneminde yarık ve çatlaklardan suyun buharlaşıp kaybolmasını engeller. Böylece kovan içi gerekli olan hava ve nem korunmuş olur. Bunların yanında olumsuz çevre koşullarından kovayı korumak, kovan giriş deliğini küçültmek amacıyla da kullanılmaktadır. Bir çok amaca yönelik olarak kullanılan propolis zamk gibi yapışkan, reçinemsî kokulu ve edinildiği kaynağa göre rengi koyu sarıdan kahverengiye kadar değişen bir maddedir (27, 53, 67, 80, 87, 88). Bal arılarının depoladığı propolis, bazı bitkilerin yapışkan salgıları olan zamk, sakız, lipofilik maddeler olabileceği gibi bitki ve ağaçların öz suyu olan sızıntılar da olabilmektedir (14).

Geleneksel hekimlikte yaygın olarak kullanılan ve Hipokrat, Heredot, Aristo ve diğer antik dönem bilginleri tarafından övgü ile söz edilen propolis, çok eski çağlardan bu yana insanlar tarafından çeşitli hastalıkların tedavisinde ve etkilerinin azaltılmasında kullanılmıştır (53).

Propolis ilk kez Yunanlılar tarafından keşfedilerek doğal bir antibiyotik olarak kullanılmış ve propolis kelimesi, pro (ilk ya da savunma) polis (şehir)'den türetilmiştir (28, 53, 76, 87, 88). Ayrıca, Mısırlıların bazı hastalıkların tedavi edilmesi ve ölülerin mumyalanmasında propolisi kullandıkları, Yunanlılar ve Romalıların da propolisi deri apselerini iyileştirme etkisi nedeniyle yüzyıllarca ilaç olarak kullandıkları bildirilmektedir (27, 76).

Günümüzde propolis dünya ticaretinde ve marketlerde düzenli olarak alınıp satılan bir ürün haline gelmiştir (44). Başlıca üretici ülkeler, başta Çin olmak üzere Arjantin, Uruguay, Şili, Brezilya, Kanada ve bazı Doğu Avrupa ülkeleridir (26, 44).

2.4.1. Propolisin Fiziksel Yapısı ve Özellikleri

Propolis 10°C'nin altında sert ve kırılğan, 15°C - 25°C arasında mum kıvamında elastik bir yapı göstermekte, 30°C - 40°C'de yumuşayıp yapışkan bir durum almakta, 80°C'de kısmen erimektedir. Kovandan alındığı zaman yapışkan ve kendine özgü bir kokusu vardır. Derin dondurucuya konulduğunda hemen katılaşmaktadır (28, 53, 76).

2.4.2. Propolisin Kimyasal Yapısı ve Özellikleri

Dünyanın değişik bölgelerinden toplanan propolis örneklerinde 300'den fazla kimyasal bileşik tanımlanmıştır (70). Propolis örneklerinden belirlenen bileşik grupları elde edildiği kaynağa göre değişebilmektedir (27). Ham propolisin bileşimi kaynağına göre değişmekle birlikte, genellikle %50 reçine, %30 mum, %10 esansiyel ve aromatik yağlar, %5 polen ve %5 oranında aminoasit, mineral, vitaminler içeren çeşitli maddeler

ile bioflavonoidler olarak bilinen bileşiklerin yüksek aktiviteli karışımından oluşmaktadır (57).

Propolis; flavonoidler, sinnamik asit ve türevleri, benzoik asit, sinaptik ve izoferulik asitler, çeşitli aldehitler, ketonlar ve eser elementler, kleredon, diterpenler, kumarinler, steroidler, aminoasitler ve inorganik bileşikler gibi çeşitli kimyasal bileşikler içermektedir (21, 70). Propolisin temel bileşenlerinin flavonoidler olduğu tespit edilmiştir (91).

Propoliste bulunan bazı mineral maddeler son yıllarda yapılan araştırma sonuçlarına göre Kalsiyum (Ca), Magnezyum (Mg), Potasyum (K), Sodyum (Na), Demir (Fe), Bakır (Cu), Çinko (Zn) ve Mangan (Mn) olarak saptanmıştır (53).

Propoliste vitaminlerin miktarları düşük olmakla beraber genellikle B1, B2, B6, C, E, nikotik ve pantotenik asit vitaminlerini içermektedir. Propolis; serin, glikol, aspargin ve glutamik asitleri, alanin, triptofan, fenilalanin, lösin, sistin, lizin, histidin, arginin, prolin, treonin olmak üzere 8-17 kadar aminosit ihtiva etmektedir (70).

2.4.3. Propolisin Biyolojik Yapısı ve Özellikleri

Propolisin farmakolojik aktivitesi 4 kategoriye ayrılabilir. Bunlar; biyolojik polimerlere bağlanma eğilimi, ağır metal iyonlara bağlanması, elektron taşınmasının hızlandırılması ve serbest radikalleri tutma kabiliyetidir. Bu özelliklerinden dolayı propolis; antibakteriyel, antifungal, antiviral, antioksidan, antiinflamatuvar, sitotoksik, immünomodülatör, antiülser, antihepatotoksik, lokal anestezi, antitümör, antikanser, immünostimülatör gibi biyolojik aktiviteler göstermektedir. Ayrıca, popüler bir ilaç olarak halk tıbbında, apiterapide, biokozmetikte ve ilaç sanayinde çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır (21, 45, 55, 70, 80, 83). Propolisin flavonoid yapısı toplandığı bitkiye bağlı olarak bazı farklılıklar da gösterebilmektedir. Propoliste bulunan bütün bileşenlerin içinde flavonoidlerin oranı %25'in üzerindedir. Flavonoidler polifenolik bileşiklerdir. Serbest radikal temizleme özelliklerinden dolayı antioksidan özelliktedir

ve lipit peroksidasyonunu inhibe ederler (70).

Propolisin önemli bir bileşeni olan flavonoidlerin, antiinflamatuvar, antioksidan, serbest radikal temizleyici, antitümoral, hepatoprotektif, vasküloprotektif, antiülser, intestinal motilite ve sekresyon inhibisyonu, antiosteoprotik, antialerjik, antimikrobiyal ve immünomodülatuar özellikleri rapor edilmiştir (29).

Propolisin farmakolojik etkileri içeriğindeki farklı maddelerden kaynaklanmaktadır. Antimikrobiyal etki gösteren aktif bileşenleri pinocembrin, galangin, kafeik asit fenil ester ve ferulik asittir. Antifungal bileşenleri pinocembrin, pinobanksin, kafeik asit fenil ester, benzil ester, sakuranetin ve pterostilben, antiviral komponentleri ise, kafeik asit fenil ester, luteolin ve kuersetindir. (70).

Propolis inflamatuvar süreçte, nötrofiller tarafından oluşturulan serbest radikalleri yakalar (91, 92). Ayrıca, antiinflamatuvar etkisini hidrofolat redüktaz inhibisyonu sağlayarak ve prostaglandin sentezini inhibe ederek gösterir. Akut inflamasyonda lipooksijenaz ve siklooksijenaz üretimini baskılar (59).

Propolis, trombosit agregasyonunu ve eikosanoid sentezini inhibe ederek immün sistem düzenleyici etki gösterir (34).

Propolis, toksik olmayan dozlarda bazı antibiyotiklerin antibakteriyel etkisini artırır. Bakteriyel hücre bölünmesini engeller, bakteriyel hücre duvarı ve sitoplazmasını bozar ve bakteriyel enfeksiyon sırasında fagositleri uyarır. HIV-1 enfeksiyonunu anlamlı bir şekilde inhibe eder. HIV-1 enfekte hastaların lenfositlerinin immün yanıtını geliştirir. Propolisin antiinflamatuvar özelliğinin olduğu, dermatitlere karşı antibakteriyel krem olarak kullanıldığı ve doku yenileme özelliğine sahip olduğu bildirilmiştir (70).

Makrofajlar, konak savunma mekanizmalarını içeren doğal ve kazanılmış bağışık yanıtta önemli role sahip hücrelerdir. Fagositoz, enzim ve sitokin salınımı, serbest

radikallerin oluşumu gibi fonksiyonlara sahip bu hücreler, konağın mikroorganizmalarla mücadelesinde vazgeçilmez yere sahiptir. Ancak makrofajların fazla aktivasyonu, TNF- α , interlökin 1 beta (IL-1 β) ve IL-6 gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin fazla üretimi nedeniyle, hücrelerde hasara ve inflamatuvar barsak hastalıkları ve romatoid artrit gibi inflamatuvar hastalıklara yol açar (43).

Propolis'in makrofajları aktive ederek nonspesifik bağışıklık sistemi üzerinde düzenleyici rol oynadığı bilinmektedir (84).

Kaya ve Özbilge, yapmış oldukları bir çalışmada, propolisin gram negatif bakterilerin dış zar bileşeni olan lipopolisakkarit (LPS) ile uyarılmış makrofajlarda pro-inflamatuvar sitokinlerin üretimi üzerine etkisiyle ilgili yaptıkları çalışmada propolisin, toplandığı bitkiye, coğrafik bölgeye, mevsime ve toplayan arı türüne bağlı olarak kimyasal bileşimi ve buna bağlı olarak biyolojik aktivitesi değişmekte olduğunu ve pro-inflamatuvar sitokinlerin baskılanması gerektiği durumlarda kullanılabilecek bir ajan olarak kullanabileceğini bildirmişlerdir (45).

Kumazawa ve ark. kamferol ve fenetil kafeat gibi antioksidan içeriğinden dolayı propolisin güçlü antioksidan özelliğinin olduğunu tespit etmişlerdir (52).

Flavonoidlerin propolis içindeki en etkili ve bol bulunan antioksidan madde olduğu belirtilmektedir (81).

Nieva ve ark. Arjantin propolisinde antioksidan aktivite ile flavonoid içeriğinin belirgin biçimde ilişkili olduğunu göstermişlerdir (65). Öte yandan flavonoid içeriği ve inhibe olan malondialdehit (MDA) yüzdesi arasında pozitif ilişki olduğunu da saptamışlardır. Bununla beraber, flavonoid içeriğinden başka, diğer içeriklerin de antioksidan özelliğe neden olduğu belirtilmektedir (66).

Russo ve ark. kafeik asit fenetil ester (CAPE)'den arındırılmış propolis ekstraktının antioksidan özelliğini araştırdıkları bir çalışmada CAPE'li ve CAPE'siz

propolis ekstraktlarının doza bağımlı olarak serbest radikal temizleme etkisinin olduğunu, ksantin oksidaz aktivitesinin belirgin biçimde inhibe edildiğini ve antilipoperoksidatif kapasitenin olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada CAPE'li ekstraktın CAPE'siz olana göre daha aktif olduğu görülmüştür. Çalışmanın sonucunda CAPE'nin propolisin antioksidan etkinliğinde çok önemli bir role sahip olduğu ifade edilmiştir (79). Ayrıca propolisin sahip olduğu güçlü antioksidan etkinliğin yüksek konsantrasyonda kafeik asit ve fenetil kafeat içermesine bağlı olduğu bulunmuştur (33).

Natarajqan ve ark. propolisin aktif bileşeni olan CAPE' in NF-κB aktivasyonunun potansiyel spesifik inhibitörü ve hücre proliferasyonunu ve apoptozisi antioksjenaz aktivitesi ile düzenlendiğini belirtmektedirler (63).

Cardile ve ark. yaptıkları çalışmada insan kıkırdak dokusu ve kondrosit kültüründe propolis ekstraktının kronik inflamasyonda salınan anahtar moleküller olan NO ve glikozaminoglikanlar (GAGs) üzerine olan etkilerini incelemişlerdir. Çalışmanın sonunda propolis ve onun aktif bileşeni olan CAPE' in IL-1β üzerine çok ciddi etkileri olduğu bulunmuş ve propolis ekstraktının sahip olduğu aktif bileşenlerden dolayı kıkırdak dokuyu koruyucu ve çok iyi serbest radikal temizleyici etkisinin olduğunu bildirmişlerdir (11).

Yapılan çalışmalara göre, propolisin içerdiği kuersetin, flavonoidler, artemillin-C, kafeik asit ve CAPE gibi maddelerin anti tümöral etkinliğe sahip olduğu gösterilmiştir (17, 90). İnsan lenfosit kültüründe yapılan çalışmada 1 ml konsantrasyonda propolise maruz kalan hücrelerde mikronükleus (MN) oluşum oranının kontrol gurubuna göre 2-3 kat daha fazla olduğu; bununla beraber mitotik indekste (MI) ters etkiye neden olduğu bulunmuştur (68). Propolis uygun dozlarda kullanıldığında antikarsinojenik özellik gösteren bir yapıdır, kanser tedavisinde de propolisin etanol ekstraktının kullanılabilceği belirtilmektedir (78)

Propolis antiinflamatuvar ajan olarak, prostoglandinlerin sentezini inhibe eden, timus bezini aktive eden, fagositik aktiviteyi tetikleyerek savunma sistemine yardımcı

olan, hücresel bağışıklığı stimüle eden ve epitelyal dokularda iyileşmeyi olumlu etkileyen özelliklere sahiptir (9, 79). Akut ve kronik durumlarda anti-inflamatuvar etkinlik göstermektedir. Propolis'in yapısındaki bileşikler arasında sadece CAPE ve galanginin anti-inflamatuvar aktiviteye sahip olduğu görülmüştür; bununla birlikte CAPE'nin etkisinin daha fazla olduğu belirtilmektedir (11).

Propolisin, ağızda oluşan kronik ve akut inflamatuvar durumlarında, periodontitiste, sinüzitte, alt ve üst solunum yolu hastalıklarında ve deri ülserlerinde kullanım nedeni bu tür özelliklere sahip olması olarak açıklanmaktadır. Kokaine benzer etkinlikte anestetik, biyolojik dokular üzerine rejeneratif ve birçok tip kanser hücresi üzerine anti neoplastik etkinliği vardır. Terapötik aktivitelerinin, içerdiği flavonoidlere bağlı olduğu ifade edilmektedir. Ayrıca flavonoidlerin immün sistemi indükledikleri güçlü oksijen radikal temizleme özelliğinin olduğu da rapor edilmiştir (70). Propolis doku yenileyici, bakterisid ve fungusid özelliği ile kozmetikte çeşitli kremlerin yapımında da kullanılmaktadır (48).

Propolisin bu faydalı özelliklerinin yanında toksik ve alerjik özellikleri de araştırılmıştır. Propolis kullanan kişilerde zehirlenme belirtisine rastlanmamıştır. Ancak, literatürde bazı alerjik reaksiyonların bildirildiği vaka raporları bulunmaktadır (70).

Verilen bilgiler doğrultusunda çalışmamızda LPS ile oluşturulan deneysel inflamasyon modelinde propolis ekstresinin inflamasyon ve serbest radikal oluşumu üzerine olan etkilerinin araştırılması planlandı.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇ

Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında gerçekleştirildi. Çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulunda 26.10.2011 tarih, 41 numaralı toplantı ve 231/2011 kayıt numaralı onay alınarak yapıldı. Çalışmanın tüm aşamalarında hayvan hakları evrensel bildirgesi kurallarına uyuldu.

3.1.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Cerrahi Araştırma Merkez (TICAM)'inde yetiştirilen, 3 aylık 200-250 g ağırlığında erkek Sprague-Dawley sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar, deney başlangıcından kesim süresine kadar 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ışıklandırması olan, ortalama 22 ± 2 °C ısı ve % 45- 50 nem koşullarına sahip Anabilim Dalımız hayvan laboratuvarında bakıldı. Deney sürecinde tüm deney hayvanları kafeslerde, standart sıçan pellet yemi ile (Oğuzlar Yem Sanayi) ad libidum beslendi ve her gün taze çeşme suyu verildi.

3.1.2. Kimyasal Maddeler

- LPS (Lipopolisakkarit) E.coli serotype 055-B5 (Sigma)
- Saf Propolis Ekstraktı (Arı Dünyası)
- %30 H₂O₂ (Sigma)
- ¹⁸F -fluoro- deoxy- D-glucose

- Ketamin (%10)
- Tetraetoksipropane (Sigma)
- Eter
- Fosforik asit (H_2PO_4) (Merck)
- Hidrojen peroksit (H_2O_2) (%30'luk)(Sigma)
- KCl (Merck)
- KH_2PO_4 (Merck)
- Na_2HPO_4 (Merck)
- n-Bütanol (Sigma)
- Serum fizyolojik
- Superoksit Dismutaz Ölçüm Kiti (Sigma)
- TBA (tiyobarbitürik asit) (Merck)
- Total Protein Ölçüm Kiti (Sigma)

3.1.3. Aygıtlar

- Buz makinesi
- Buzdolabı (+4)
- Derin dondurucu (-20)
- Derin dondurucu (-80)
- Elisa reader (BioLab)
- Enjektör (10 ml)
- Etüv (Nüve NT 715)
- Hassas terazi (Precisa-125A)
- Hayvan kafesi
- Hemoglobin pipeti (20 ul)
- Homojenizatör (IKA-Ultra -Turrax T25)
- Laboratuvar saati
- Manyetik karıştırıcı (Nüve)
- Operasyon takımı

- Otomatik pipetler
- Parafilm
- pH metre
- Santrifüj tüpleri
- Soğutmalı santrifüj (Heraeus Megafuge 1.0. R)
- Spektrofotometre (Shimadzu UV-1601)
- Spektrofotometre tüpleri (1 ml, 2 ml)
- Su banyosu (Nüve)
- Vorteks mikser (Restch)
- Biograph 6 Hires PET/BT (Siemens, Knoxville, Tennessee, USA)

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Deney Grupları ve Doz Miktarları

Çalışmada 3 aylık, 42 adet Sprague-Dawley türü erkek sıçan kullanıldı. Deney hayvanları arasından rastgele seçimle her biri 7 sıçandan oluşan 6 grup deneye başlanmadan 1 hafta önce oluşturuldu. Oluşturulan deney grupları, deney gruplarına uygulanan maddeler, miktarları ile birlikte **Tablo 3.1'** de belirtilmektedir.

Tablo 3.1 Deney grupları, deney gruplarına uygulanan maddeler, miktarları ve uygulamalar

GRUPLAR	n	
Kontrol Grubu	7	SF (i.p.)
Propolis 30 Grubu	7	SF (i.p.) + 30mg/kg propolis (i.g.)
Propolis 90 Grubu	7	SF (i.p.) + 90mg/kg propolis (i.g.)
İnflamasyon Grubu	7	LPS (E.coli serotype 055-B5) 1mg/kg, SF içinde çözülerek (i.p.)
İnflamasyon+Propolis 30 Grubu	7	LPS (E.coli serotype 055-B5) 1mg/kg, SF içinde çözülerek (i.p.) + 30mg/kg propolis (i.g.)
İnflamasyon+Propolis 90 Grubu	7	LPS (E.coli serotype 055-B5) 1mg/kg, SF içinde çözülerek (i.p.) + 90mg/kg propolis (i.g.)

3.2.2. Deney Planı ve Uygulamalar

İnflamasyon, İnflamasyon+Propolis 30 ve İnflamasyon+Propolis 90 gruplarına LPS ile inflamasyonun indüklemesinden 24 saat sonra propolis tedavisine başlandı. İnflamasyon+Propolis 30 ve Propolis 30 gruplarına 30mg/kg, İnflamasyon+Propolis 90 ve Propolis 90 gruplarına 90mg/kg doz olmak üzere 8 saatte bir toplam 3 doz propolis uygulandı. Son propolis enjeksiyonunu takip eden 8. saatte hayvanlar FDG-PET taraması için hazırlandı.

Akciğer ve karaciğer ¹⁸F-FDG tutulumu ile inflamasyonun belirlenmesi için sıçanlara ketasol (1ml/kg) anestezisi altında kardiyak olarak 0,8ml/kg ¹⁸F-fluoro-deoxy-D-glucose (FDG) enjekte edildi. ¹⁸F-FDG uygulamasından yarım saat sonra, akciğer ve karaciğer ¹⁸F-FDG tutulumu FDG-PET (Biograph 6 Hires PET/BT Siemens, Knoxville, Tennessee, USA) cihazı ile görüntülendi.

Görüntüleme sonunda hayvanların kalp kanı EDTA' lı tüplere alındı. EDTA' lı tüplere alınan kan örneklerinden protokole uygun hemolizatlar hazırlanarak, her bir gruba ait malondialdehit (MDA) düzeyi, katalaz (KAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi spektrofotometrik olarak ölçüldü.

Alınan akciğer, karaciğer ve böbrek dokularından hazırlanan homojenatta spektrofotometrik olarak malondialdehid (MDA) düzeyi, süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (KAT) enzim aktivitesi ölçüldü.

3.2.2.1. Örneklerin Hazırlanması

Eritrosit Hemolizatlarının Hazırlanması

Eritrosit hemolizati hazırlanması için Sun ve arkadaşlarının 1988'de yayınladığı metot kullanıldı (88, 95).

- 1) 2 ml lik EDTA' lı CBC tüpüne 2 ml kan alındı.
- 2) +4°C de 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi.
- 3) Plazması ayrıldı. Tüpte eritrosit peleti bırakıldı.
- 4) Eritrosit peleti kadar serum fizyolojik eklendi.
- 5) +4°C de 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi.
- 6) Supernatant atıldı.
- 7) Geride kalan pelet hacmi kadar serum fizyolojik eklendi.

- 8) +4°C de 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi.
- 9) Supernatant atıldı.
- 10) Geride kalan pelet hacmi kadar serum fizyolojik eklendi.
- 11) +4°C de 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi.
- 12) Supernatant atıldı.
- 13) Geride kalan pelet hacmi kadar distile su eklendi.
- 14) +4°C de 5000 rpm de 15 dakika santrifüj edildi.
- 15) Supernatant alındı ve SOD, MDA, katalaz ölçümü yapılanaya kadar -80°C de muhafaza edildi.

Homojenat Hazırlanması:

- 1) Örnek sayısı kadar tüp alınarak numaralandı.
- 2) Ölçüm işlemine kadar -80°C'lik derin dondurucuda saklanan karaciğer, böbrek ve akciğer doku örneklerinden 0,5 g tartıldı.
- 3) Alınan örnekler SF ile yıkandı.
- 4) Buz dolu bir kap içinde tüpe geçirildi.
- 5) Tüp içindeki örnekler daha sonra %1 KCl çözeltisi kullanılarak homojenize edildi.

- 6) Buz dolu bir kap içindeki tüpte bulunan örnek, ultrasonik homojenizatör cihazında 8000 devirde 10 vuruşta homojenize edildi.
- 7) Daha sonra soğutmalı santrifüjde +4°C'de 4000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi.
- 8) Üstte toplanan süpernatant kısmı ayrı bir vialle alınarak SOD, MDA ve KAT ölçümlerinde kullanılmak üzere -80 °C'de saklandı.

3.2.2.2. Enzim Aktivitelerinin Ölçümü

SOD Aktivitesi Ölçümü

SOD aktivitesi WST (water-soluble tetrazolium salt) reaksiyonuna dayanan "Sigma SOD Determination Kit (Cat. No:19160)" ile belirlendi.

Ölçüm Yöntemi:

- 1) 20 µl örnek, tüm örnek ve blank 2 kuyucuklarına eklendi ve 20 µl ddH₂O blank 1 ve blank 3 kuyucuklarına eklendi.
- 2) 200 µl WST solüsyonu tüm kuyucuklara eklendi ve karıştırıldı.
- 3) 20 µl Dilüsyon Buffer tüm blank 2 ve blank 3'lere eklendi.
- 4) 20 µl Enzim Çalışma Solüsyonu tüm blank 1'lere eklendi ve karıştırıldı.
- 5) 37 °C'de 20 dk. inkübe edildi.
- 6) 450nm'de Elisa okuyucu ile absorbans değerleri okundu.

7) SOD aktivitesi aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplandı.

SOD aktivitesi

$$(\% \text{ inhibisyon oranı}) = \{[(A_{\text{blank 1}} - A_{\text{blank 3}}) - (A_{\text{örnek}} - A_{\text{blank 2}})] / (A_{\text{blank 1}} - A_{\text{blank 3}})\}$$

Katalaz (KAT) Aktivitesi Ölçümü

Katalaz aktivitesi, hidrojen peroksitin substrat olarak kullanıldığı spektrofotometrik yöntem ile Lück (1963) ve Beutler (1984)'in metodlarından uyarlanarak ölçüldü.

Ölçüm Yöntemi:

1) Fosfat tamponu:

A) 4.08 g KH_2PO_4 alınarak 500 ml distile suda çözüldü.

B) 8.04 g Na_2HPO_4 alınarak 500 ml distile suda çözüldü.

Daha sonra (A) çözeltilisinden 3.3 ml alınarak (B) çözeltilisi ile 100 ml ye tamamlandı ve $\text{pH}=7.4$ 'e ayarlandı.

2) Substrat solüsyonu: %30 H_2O_2 den 8.11 ml alınıp, fosfat tamponu ile 1000 ml ye tamamlanıp $\text{pH} 7.4$ ayarlandı.

Spektrofotometrede Okuma

1) Örnek ve kör tüpleri çizelgede belirtildiği şekilde hazırlandı.

	Örnek Tüpü	Kör Tüpü
Fosfat tamponu	-	1450µl
Substrat (H ₂ O ₂)	1450µl	-
Örnek	50µl	50µl

2) Örnek tüpü hazırlandıktan sonra 240nm'de 3 dk boyunca her 30sn'de bir kere köre karşı okundu.

Sonucun Hesaplanması

Spektrofotometrede okunan değerler, aşağıdaki formüle uygulandı ve sonuçlar;

$$\text{Katalaz aktivitesi} = \frac{\Delta A \times V_T}{E \times V_H} = E\ddot{U}/\text{ml}$$

olarak bulundu.

ΔA : Absorbans farkı

V_T : Deney çözeltisinin toplam hacmi (ml)

V_H : Deneyde kullanılan örnek hacmi (ml)

$E = 0,071$ (1mM H₂O₂'nin oluşturduğu absorbans değeri)

Malondialdehit (MDA) Düzeyi Ölçümü

Yöntemin amacı; lipit peroksidasyonu son ürünlerinden bir tanesi olan MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile verdiği renk reaksiyonuna dayanmaktadır (88, 95).

a. Çözeltiler

- 1) % 1 Fosforik asit çözeltisi: 1 ml fosforik asit, distile su ile 100 ml ye tamamlandı.
- 2) % 0.6 TBA (Tiyobarbitürik Asit) çözeltisi: 6 g TBA 1000 ml suda çözündürüldü.

b. Spektrofotometrede Okuma

- 1) Her ölçümde bir kör ve örnek tüpleri hazırlandı.
- 2) Kör tüpüne; 0.5 ml distile su, 3 ml fosforik asit çözeltisi, 1 ml TBA çözeltisi, örnek tüpüne; 0.5 ml hemolizat, 3 ml fosforik asit çözeltisi, 1 ml TBA çözeltisi ilave edildi.
- 3) Kör ve örnek tüpleri bir beherde su içinde 45 dakika kaynatıldı.
- 4) Tüpler soğuduktan sonra içlerine 4 ml butanol ilave edildi.
- 5) 3500 rpm'de 10 dak santrifüj edildi.
- 6) Ölçüm için süpernatant alındı

7) Spektrofotometre 532 nm'de distile su ile sıfırlandıktan sonra kör ve örnek tüplerinin absorbansları okundu.

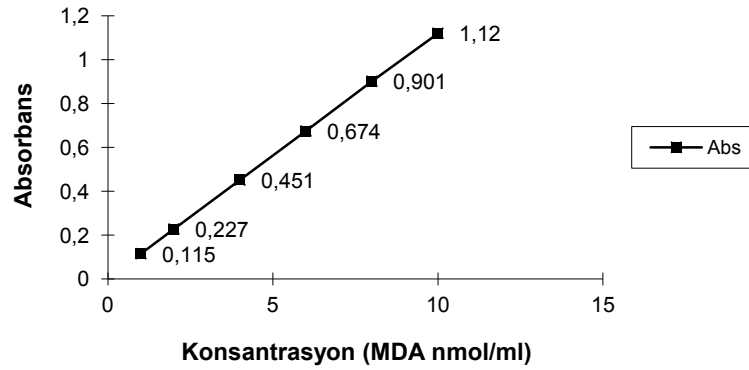
c. Sonucun Hesaplanması

1- Konsantrasyonların belirlenebilmesi için; lipit peroksit standard (1.1.3.3. tetraetoksipropan) 1, 2, 4, 6, 8, 10 nmol/ml de hazırlandı.

2- Standart eğrisinin hazırlanması:

- Kör tüpüne; 0.5 ml distile su, 3 ml fosforik asit çözeltisi, 1 ml TBA çözeltisi konuldu.

- Standart tüplerine; 0.5 ml farklı konsantrasyonlarda standart, 3 ml fosforik asit çözeltisi, 1 ml TBA çözeltisi ilave edildi ve absorbanslar okundu. Okunan absorbanslarla, konsantrasyon değerleri milimetrik kağıt üzerinde karşılaştırılarak standart eğrisi çizildi (**Şekil 3.1**). Standart eğrisinde, spektrofotometreden okunan absorbans değerine karşılık gelen konsantrasyon değerleri okundu.



Şekil 3.1. MDA standart eğrisi

3.2.2.3. ¹⁸F-FDG-PET Analizi

Pozitron Emisyon Tomografisi (PET) metabolik görüntüleme esasına dayanır. En sık olarak hücrenin temel enerji kaynağı olarak kullanılan glukozun kısa yarı ömürlü radyoizotoplarla işaretlenmesi ile oluşan 18-florodeoksiglukoz (¹⁸F-FDG) gibi kullanılır. PET fonksiyonel ve metabolik değişiklikleri görüntüler. Bu değişiklikler anatomik değişikliklerden önce meydana geldiği için PET erken tanıda avantaj sağlamaktadır. PET/ BT; Pozitron Emisyon Tomografi ve Bilgisayarlı Tomografi cihazlarının birleşmesi ile oluşan hibrid bir görüntüleme yöntemidir. PET, verilen radyofarmosötik ile vücudun fonksiyonu hakkında bilgi toplarken, BT vücuttaki normal ve patolojik dokuların anatomik detayını vermektedir.

¹⁸F-FDG hastaya damar yolu ile verilir. Kanser hücrelerinin normal hücrelerden daha hızlı metabolizmaya sahip olması nedeniyle ¹⁸F-FDG, bu hücrelerde daha fazla tutulur ve tümör dokusunun yeri görüntülenebilir. Ancak vücutta tümör hücreleri kadar aktif şeker kullanan beyin, kalp gibi vücut bölgelerimiz yanında enfeksiyon ve inflamatuvar alanlarda benzer tutulum yapar (10, 24, 47).

Sonucun Değerlendirilmesi

Fluorodeoksiglukoz vücutta glukoz ile oldukça benzer biyodanılım gösterir. Görüntü yorumlanırken fizyolojik olmayan ve background aktiviteye oranla artmış FDG tutulumu gösteren odaklar araştırılır. Bir lezyonun artmış FDG aktivitesine sahip olup olmadığını gösteren ve malign/benign dokuların ayırımını değerlendirmede kullanılan semikantitatif bir değer olan ‘‘Maksimum Standart Uptake Değeri’’ (SUD maks) kullanılır. Bu değer belirlenmesinde ilgi alanı içerisindeki FDG birikimi, hastaya enjekte edilen total FDG dozu ve hasta ağırlığı veya vücut yüzey alanına göre normalize edilir (98).

$$\text{SUD maks} = \frac{\text{Seçilen alanın ortalama aktivitesi (mCi/ml)}}{\text{Enjekte edilen doz (mCi)/ vücut ağırlığı (kg)}}$$

3.2.2.4. İstatistiksel Analiz

Çalışmamız sonucunda elde edilen bulgulardan hemolizat ve homojenat SOD, MDA ve Katalaz ANOVA, Tukey (SPSS 13.0) ile değerlendirildi. Önemlilik için $p < 0,05$ düzeyi kullanıldı.

4. BULGULAR

Lipopolisakkarit (LPS) ile oluşturulan deneysel inflamasyonu modeli kullanılan bu çalışmada üç gruba intraperitoneal olarak 1 mg/kg LPS (E. coli, serotip 055-B5) uygulandı. LPS enjeksiyonundan 24 saat sonra tedavi gruplarına 30 ve 90 mg/kg propolis ekstraktları 8 saatte bir olmak üzere toplam 3 kez gavaj yolu ile verildi. FDG-PET taraması ile inflamasyon durumunu belirlenmek için PET taramasından 1 saat önce ketamin anestezisi altında ¹⁸F -fluoro- deoxy- D-glucose (0,8 ml/kg) intrakardiyak olarak uygulandı. FDG-PET analizinden sonra kan ve doku örnekleri toplandı. Akciğer ve karaciğer ¹⁸F-FDG tutulumu hesaplandı. Toplanan kan ve doku örneklerinden MDA düzeyleri, SOD ve KAT enzim aktiviteleri belirlendi.

4.1. KARACİĞER HOMOJENATINA AİT BULGULAR VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER

4.1.1. Karaciğer Homojenatında Malondialdehit (MDA) Seviyeleri

Karaciğer homojenatında MDA seviyeleri, kontrol grubunda, $7,60 \pm 0,78$ nmol/g yaş doku, Propolis 30 grubunda $6,79 \pm 0,83$ nmol/g yaş doku, Propolis 90 grubunda $7,26 \pm 1,16$ nmol/g yaş doku, İnflamasyon grubunda $8,82 \pm 1,23$ nmol/g yaş doku, İnflamasyon+Propolis 30 grubunda $8,13 \pm 1,08$ nmol/g yaş doku, İnflamasyon+Propolis 90 grubunda $6,18 \pm 0,42$ nmol/g yaş doku bulundu.

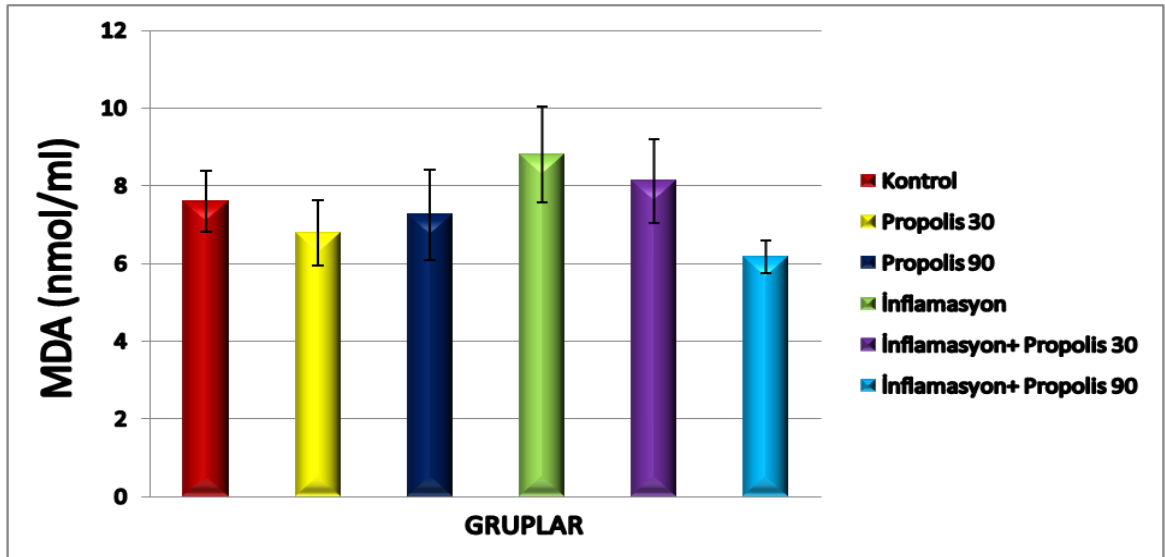
Karaciğer homojenatında MDA seviyelerine bakıldığında, kontrol grubuna göre diğer gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0,05$). İnflamasyon grubuna göre Propolis 30 ($p < 0,01$), Propolis 90 ($p < 0,05$) ve İnflamasyon+Propolis 90 ($p < 0,001$) gruplarının MDA seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu. İnflamasyon+Propolis 30 grubuna göre

İnflamasyon+Propolis 90 ($p<0,01$) grubunun MDA seviyesi istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu (**Tablo 4.1, Şekil 4.1**).

Tablo 4.1. Deney gruplarının karaciğer homojenatında MDA değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	MDA (nmol/g yaş doku) Ortalama \pm Standart sapma	F	P	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol	7	7,60 \pm 0,78	6,735	0,000		ns	ns	ns	ns	ns
2	Propolis 30	7	6,79 \pm 0,83			ns		ns	**	ns	ns
3	Propolis 90	7	7,26 \pm 1,16			ns	ns		*	ns	ns
4	İnflamasyon	7	8,82 \pm 1,23			ns	**	*		ns	***
5	İnflamasyon+Propolis 30	7	8,13 \pm 1,08			ns	ns	ns	ns		**
6	İnflamasyon+Propolis 90	7	6,18 \pm 0,42			ns	ns	ns	***	**	

* $p<0,05$ ** $p<0,01$ *** $p<0,001$



Şekil 4.1. Deney gruplarının karaciğer homojenatında MDA değerleri

4.1.2. Karaciğer Homojenatında Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi

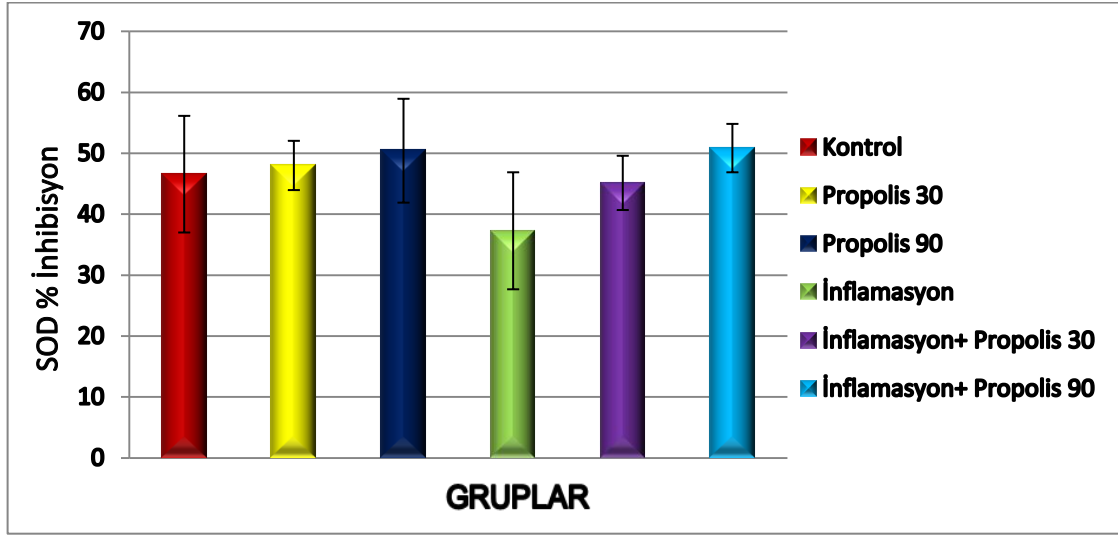
SOD % inhibisyonu, kontrol grubunda, $46,57 \pm 9,57$ % inhibisyon, Propolis 30 grubunda $48,00 \pm 4,04$ % inhibisyon, Propolis 90 grubunda $50,42 \pm 8,52$ % inhibisyon, İnflamasyon grubunda $37,28 \pm 9,60$ % inhibisyon, İnflamasyon+Propolis 30 grubunda $45,14 \pm 4,45$ % inhibisyon, İnflamasyon+Propolis 90 grubunda $50,85 \pm 3,97$ % inhibisyon bulundu.

SOD % inhibisyonu bakımından, Kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel anlam bulunmadı ($p>0,05$). İnflamasyon grubuna göre, Propolis 90 ($p< 0,05$) ve İnflamasyon+Propolis 90 ($p< 0,05$) gruplarında SOD % inhibisyonu istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (**Tablo 4.2, Şekil 4.2**).

Tablo 4.2. Deneysel gruplarının karaciğer homojenatında SOD % inhibisyon değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	SOD % inhibisyon Ortalama \pm Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol	7	$46,57 \pm 9,57$	4,483	0,003		ns	ns	ns	ns	ns
2	Propolis 30	7	$48,00 \pm 4,04$			ns		ns	ns	ns	ns
3	Propolis 90	7	$50,42 \pm 8,52$			ns	ns		*	ns	ns
4	İnflamasyon	7	$37,28 \pm 9,60$			ns	ns	*		ns	*
5	İnflamasyon+Propolis 30	7	$45,14 \pm 4,45$			ns	ns	ns	ns		ns
6	İnflamasyon +Propolis 90	7	$50,85 \pm 3,97$			ns	ns	ns	*	ns	

* $p< 0,05$ ** $p<0,01$ *** $p<0,001$



Şekil 4.2. Deney gruplarının karaciğer homojenatında SOD % inhibisyon değerleri

4.1.3. Karaciğer Homojenatında Katalaz (KAT) Aktivitesi

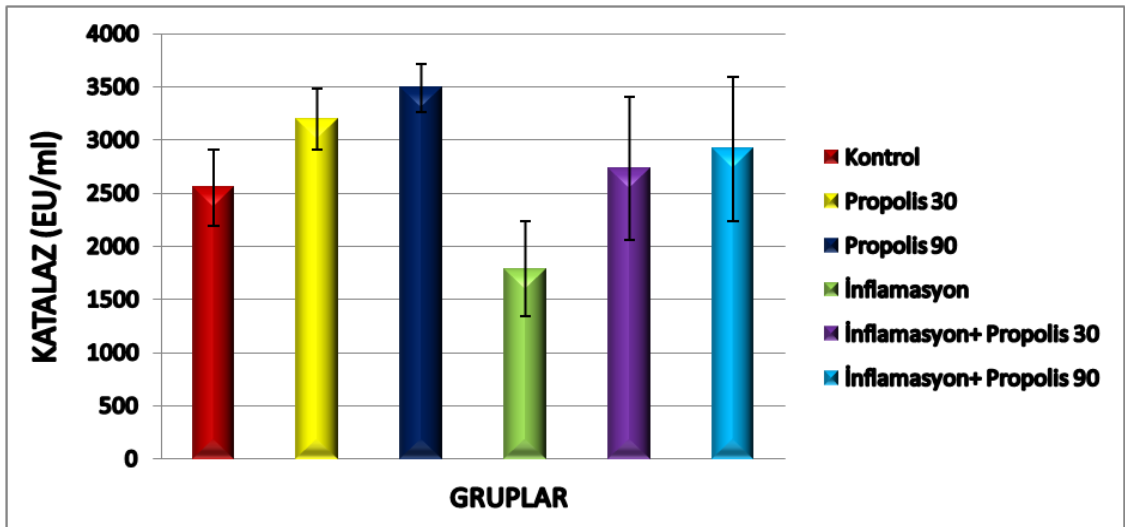
Karaciğer homojenatında KAT aktivitesi, kontrol grubunda, 2554 ± 357 kU/mg yaş doku, Propolis 30 grubunda 3192 ± 287 kU/mg yaş doku, Propolis 90 grubunda 3491 ± 228 kU/mg yaş doku, İnflamasyon grubunda 1788 ± 443 kU/mg yaş doku, İnflamasyon+Propolis 30 grubunda 2734 ± 670 kU/mg yaş doku, İnflamasyon+Propolis 90 grubunda 2915 ± 674 kU/mg yaş doku bulundu.

Katalaz aktivitesi bakımından, Kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, Propolis 90 grubu istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p < 0,01$). İnflamasyon grubuna göre; Propolis 30 ($p < 0,001$), Propolis 90 ($p < 0,001$), İnflamasyon+Propolis 30 ($p < 0,01$) ve İnflamasyon+Propolis 90 ($p < 0,01$) grupları istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (**Tablo 4.3, Şekil 4.3**).

Tablo 4.3. Deneş gruplarının karaciğer homojenatında katalaz (KAT) değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	KAT (kU/mg yaş doku) Ortalama ± Standart	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol	7	2554±357	10,667	0,000		ns	**	ns	ns	ns
2	Propolis 30	7	3192±287			ns		ns	***	ns	ns
3	Propolis 90	7	3491±228			**	ns		***	ns	ns
4	İnflamasyon	7	1788±443			ns	***	***		**	**
5	İnflamasyon+Propolis 30	7	2734±670			ns	ns	ns	**		ns
6	İnflamasyon +Propolis 90	7	2915±674			ns	ns	ns	**	ns	

* p< 0,05 ** p<0,01 *** p<0,001



Şekil 4.3. Deneş gruplarının karaciğer homojenatında katalaz (KAT) değerleri

4.2 BÖBREK HOMOJENATINA AİT BULGULAR VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER

4.2.1. Böbrek Homojenatında Malondialdehit (MDA) Seviyeleri

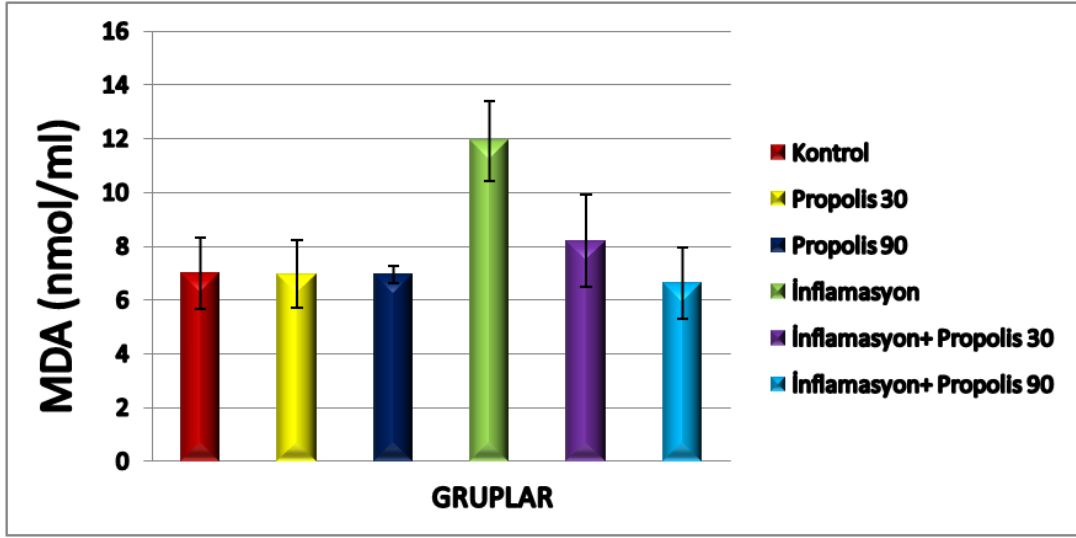
Böbrek homojenatında MDA seviyeleri, Kontrol grubunda $7,00 \pm 1,32$ nmol/g yaş doku, Propolis 30 grubunda $6,97 \pm 1,26$ nmol/g yaş doku, Propolis 90 grubunda $6,95 \pm 0,34$ nmol/g yaş doku, İnflamasyon grubunda $11,92 \pm 1,50$ nmol/g yaş doku, İnflamasyon+Propolis 30 grubunda $8,20 \pm 1,71$ nmol/g yaş doku, İnflamasyon+Propolis 90 grubunda $6,62 \pm 1,34$ nmol/g yaş doku bulundu.

Böbrek homojenatında MDA seviyelerine bakıldığında, Kontrol grubuna göre İnflamasyon grubu istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p < 0,001$). İnflamasyon grubuna göre, Propolis 30 ($p < 0,001$), Propolis 90 ($p < 0,001$), İnflamasyon+Propolis 30 ($p < 0,001$) ve İnflamasyon+Propolis 90 ($p < 0,001$) gruplarının MDA seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu (**Tablo 4.4, Şekil 4.4**).

Tablo 4.4. Deney gruplarının böbrek homojenatında MDA değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	MDA (nmol/g yaş doku) Ortalama \pm Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol	7	$7,00 \pm 1,32$	16,344	0,000		ns	ns	***	ns	ns
2	Propolis 30	7	$6,97 \pm 1,26$			ns		ns	***	ns	ns
3	Propolis 90	7	$6,95 \pm 0,34$			ns	ns		***	ns	ns
4	İnflamasyon	7	$11,92 \pm 1,50$			***	***	***		***	***
5	İnflamasyon+Propolis 30	7	$8,20 \pm 1,71$			ns	ns	ns	***		ns
6	İnflamasyon+Propolis 90	7	$6,62 \pm 1,34$			ns	ns	ns	***	ns	

* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$



Şekil 4.4. Deney gruplarının böbrek homojenatında MDA değerleri

4.2.2. Böbrek Homojenatında Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi

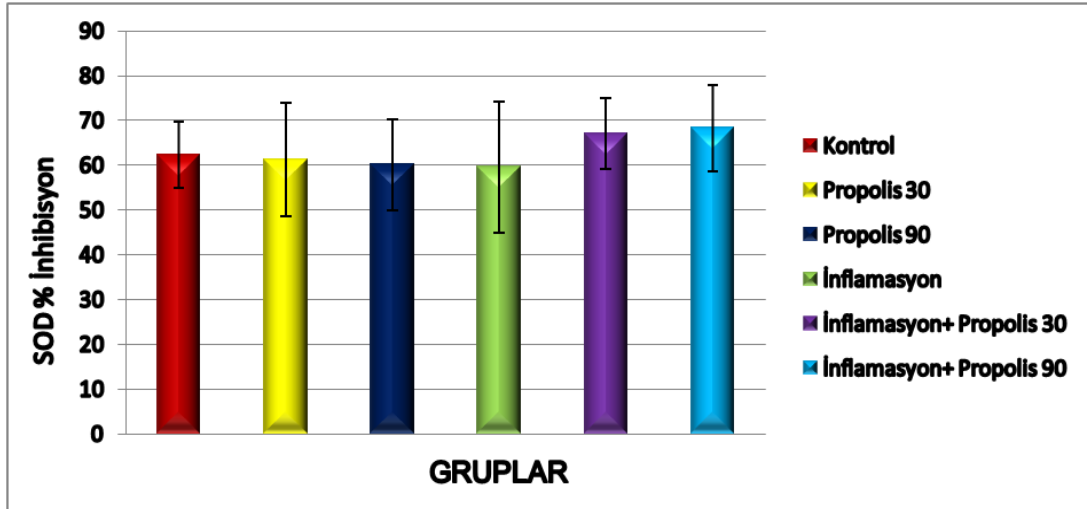
Böbrek homojenatında SOD % inhibisyonu, kontrol grubunda, $62,42 \pm 7,36$ % inhibisyon, Propolis 30 grubunda $61,28 \pm 12,67$ % inhibisyon, Propolis 90 grubunda $60,14 \pm 10,10$ % inhibisyon, İnflamasyon grubunda $59,57 \pm 14,57$ % inhibisyon, İnflamasyon+Propolis 30 grubunda $67,14 \pm 7,98$ % inhibisyon, İnflamasyon+Propolis 90 grubunda $68,28 \pm 9,51$ % inhibisyon bulundu.

Böbrek homojenatında SOD % inhibisyonu bakımından, Kontrol grubuna göre diğer gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlam bulunmadı ($p > 0,05$). İnflamasyon grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlam bulunmadı ($p > 0,05$) (Tablo 4.5, Şekil 4.5).

Tablo 4.5. Deney gruplarının böbrek homojenatında SOD % inhibisyon değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	SOD % inhibisyon Ortalama ± Standart sapma	F	P	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol	7	62,42±7,36	0,838	0,532		ns	ns	ns	ns	ns
2	Propolis 30	7	61,28±12,67			ns		ns	ns	ns	ns
3	Propolis 90	7	60,14±10,10			ns	ns		ns	ns	ns
4	İnflamasyon	7	59,57±14,57			ns	ns	ns		ns	ns
5	İnflamasyon +Propolis 30	7	67,14±7,98			ns	ns	ns	ns		ns
6	İnflamasyon +Propolis 90	7	68,28±9,51			ns	ns	ns	ns	ns	

* p< 0,05 ** p<0,01 *** p<0,001



Şekil 4.5. Deney gruplarının böbrek homojenatında SOD % inhibisyon değerleri

4.2.3. Böbrek Homojenatında Katalaz (KAT) Aktivitesi

Böbrek homojenatında KAT aktivitesi, kontrol grubunda, 291 ± 59 kU/mg yaş doku, Propolis 30 grubunda 376 ± 116 kU/mg yaş doku, Propolis 90 grubunda 520 ± 62 kU/mg yaş doku, İnflamasyon grubunda 215 ± 30 kU/mg yaş doku,

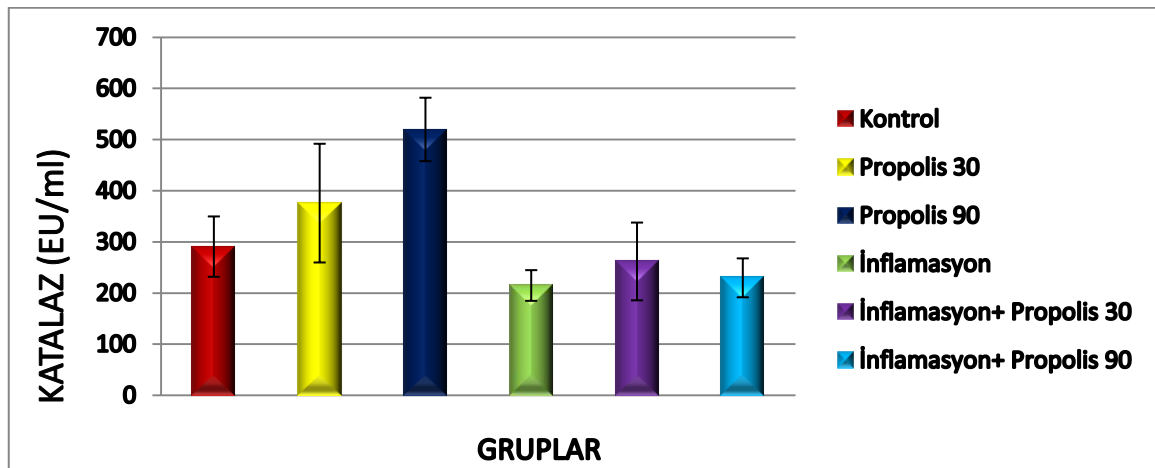
İnflamasyon+Propolis 30 grubunda 262 ± 76 kU/mg yaş doku, İnflamasyon+Propolis 90 grubunda 230 ± 38 kU/mg yaş doku bulundu.

Katalaz aktivitesi bakımından, Kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, Propolis 90 grubu istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p < 0,001$). İnflamasyon grubuna göre, Propolis 30 ($p < 0,01$) ve Propolis 90 grupları istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu. Propolis 90 ($p < 0,001$) grubu diğer gruplara göre Katalaz (KAT) aktivitesi bakımından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (**Tablo 4.6, Şekil 4.6**).

Tablo 4.6. Deney gruplarının böbrek homojenatında katalaz (KAT) değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	KAT (kU/mg yaş doku) Ortalama \pm Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol	7	291 \pm 59	19,104	0,000		ns	***	ns	ns	ns
2	Propolis 30	7	376 \pm 116			ns		**	**	*	**
3	Propolis 90	7	520 \pm 62			***	**		***	ns	***
4	İnflamasyon	7	215 \pm 30			ns	**	***		ns	ns
5	İnflamasyon+Propolis 30	7	262 \pm 76			ns	*	***	ns		ns
6	İnflamasyon +Propolis 90	7	230 \pm 38			ns	**	***	ns	ns	

* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$



Şekil 4.6. Deney gruplarının böbrek homojenatında katalaz (KAT) değerleri

4.3 AKCİĞER HOMOJENATINA AİT BULGULAR VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER

4.3.1. Akciğer Homojenatında Malondialdehit (MDA) Seviyeleri

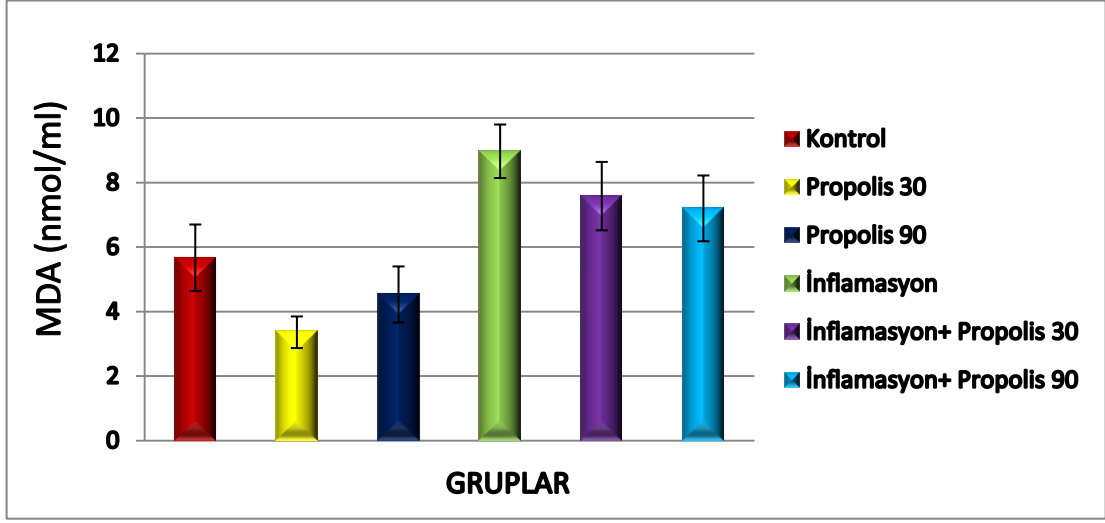
Akciğer homojenatında MDA seviyeleri, kontrol grubunda, $5,67 \pm 1,03$ nmol/g yaş doku, Propolis 30 grubunda $3,36 \pm 0,49$ nmol/g yaş doku, Propolis 90 grubunda $4,53 \pm 0,87$ nmol/g yaş doku, İnflamasyon grubunda $8,97 \pm 0,83$ nmol/g yaş doku, İnflamasyon+Propolis 30 grubunda $7,58 \pm 1,06$ nmol/g yaş doku, İnflamasyon+Propolis 90 grubunda $7,20 \pm 1,02$ nmol/g yaş doku bulundu.

Akciğer homojenatında MDA seviyelerine bakıldığında, kontrol grubuna göre diğer gruplar karşılaştırıldığında, İnflamasyon ($p<0,001$), İnflamasyon+Propolis 30 ($p<0,01$) ve İnflamasyon+Propolis 90 ($p<0,05$) grupları istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek, Propolis 30 ($p<0,001$) grubu istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu. İnflamasyon grubuna göre, Propolis 30 ($p<0,001$), Propolis 90 ($p<0,001$) ve İnflamasyon+Propolis 90 ($p<0,05$) gruplarının MDA seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu (**Tablo 4.7, Şekil 4.7**).

Tablo 4.7. Deney gruplarının akciğer homojenatında MDA değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup	Gruplar	n	MDA (nmol/g yaş doku) Ortalama \pm Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol	7	$5,67 \pm 1,03$	36,601	0,000		***	ns	***	**	*
2	Propolis 30	7	$3,36 \pm 0,49$			***		ns	***	***	***
3	Propolis 90	7	$4,53 \pm 0,87$			ns	ns		***	***	***
4	İnflamasyon	7	$8,97 \pm 0,83$			***	***	***		ns	*
5	İnflamasyon+Propolis 30	7	$7,58 \pm 1,06$			**	***	***	ns		ns
6	İnflamasyon+Propolis 90	7	$7,20 \pm 1,02$			*	***	***	*	ns	

* $p<0,05$ ** $p<0,01$ *** $p<0,001$



Şekil 4.7. Deney gruplarının akciğer homojenatında MDA değerleri

4.3.2 Akciğer Homojenatında Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi

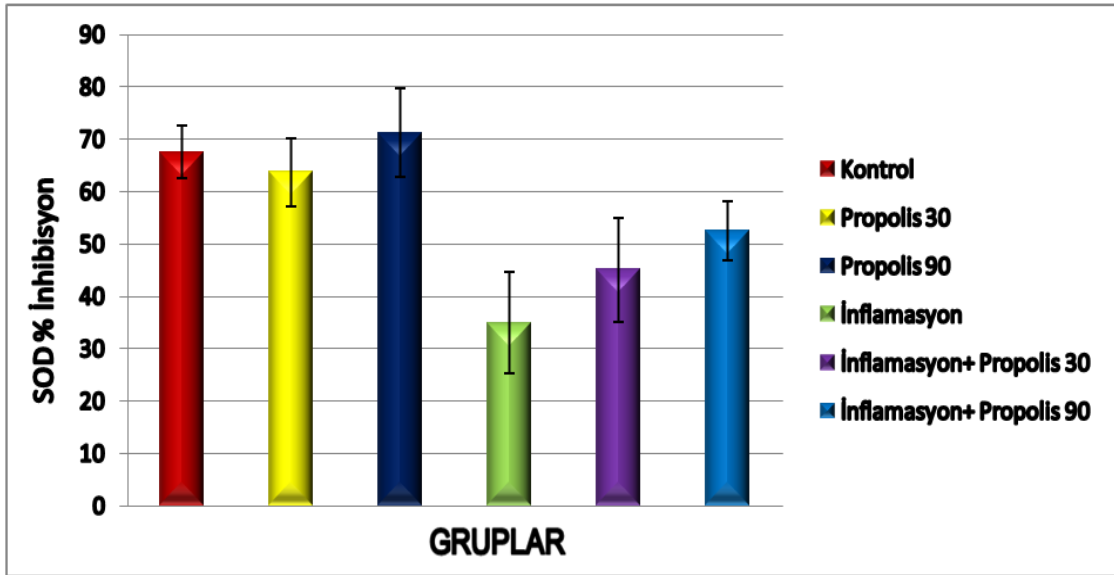
SOD % inhibisyonu, kontrol grubunda, $67,57 \pm 4,99$, Propolis 30 grubunda $63,71 \pm 6,55$, Propolis 90 grubunda $71,28 \pm 8,42$, İnflamasyon grubunda $35 \pm 9,72$, İnflamasyon+Propolis 30 grubunda $45,14 \pm 9,88$, İnflamasyon+Propolis 90 grubunda $52,57 \pm 5,71$ bulundu.

SOD % inhibisyonu bakımından, Kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, İnflamasyon ($p<0.001$), İnflamasyon+Propolis 30 ($p<0,001$) ve İnflamasyon+Propolis 90 ($p<0,05$) gruplarında SOD seviyesi istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu. İnflamasyon grubuna göre, Propolis 30 ($p<0.001$), Propolis 90 ($p<0.001$) ve İnflamasyon+Propolis 90 ($p<0.01$) grupları istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (Tablo 4.8., Şekil 4.8.).

Tablo 4.8. Deney gruplarının akciğer homojenatında SOD % inhibisyon değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	SOD % inhibisyon Ortalama ± Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol	7	67,57±4,99	23,031	0,000		ns	ns	***	***	*
2	Propolis 30	7	63,71±6,55			ns		ns	***	**	ns
3	Propolis 90	7	71,28±8,42			ns	ns		***	**	**
4	İnflamasyon	7	35±9,72			***	***	***		ns	**
5	İnflamasyon+Propolis 30	7	45,14±9,88			***	**	***	ns		ns
6	İnflamasyon +Propolis 90	7	52,57±5,71			*	ns	**	**	ns	

* p< 0,05 ** p<0,01 *** p<0,001



Şekil 4.8. Deney gruplarının akciğer homojenatında SOD % inhibisyon değerleri

4.3.3. Akciğer Homojenatında Katalaz (KAT) Aktivitesi

Akciğer homojenatında KAT aktivitesi, kontrol grubunda, 211 ± 58 kU/mg yaş doku, Propolis 30 grubunda 205 ± 66 kU/mg yaş doku, Propolis 90 grubunda 316 ± 103 kU/mg yaş doku, İnflamasyon grubunda 80 ± 35 kU/mg yaş doku,

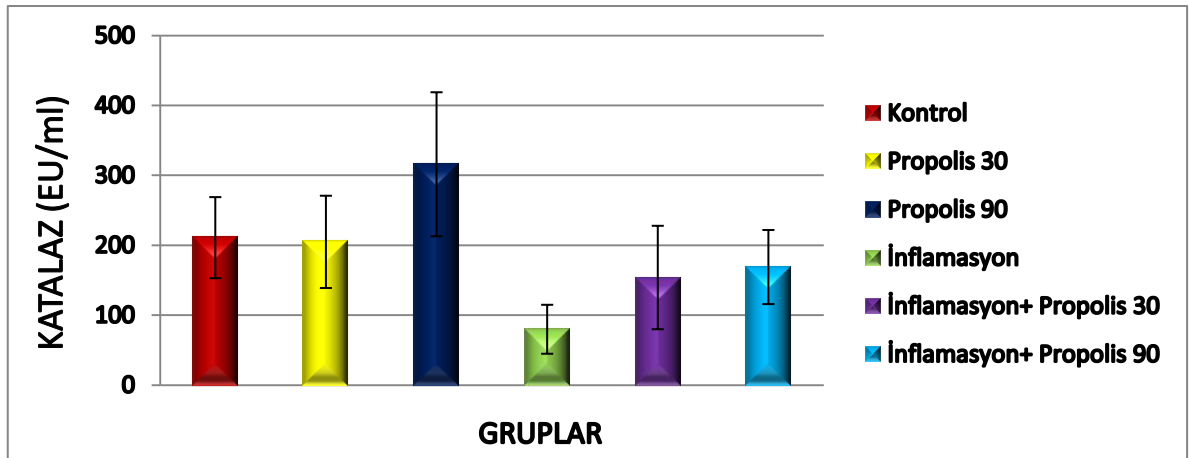
İnflamasyon+Propolis 30 grubunda 154 ± 74 kU/mg yaş doku, İnflamasyon+Propolis 90 grubunda 169 ± 53 kU/mg yaş doku bulundu.

Katalaz aktivitesi bakımından, Kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, İnflamasyon grubu ($p < 0.05$) istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu. İnflamasyon grubuna göre, Propolis 30 ($p < 0.05$) ve Propolis 90 ($p < 0.001$) grupları istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (**Tablo 4.9.**, **Şekil 4.9.**).

Tablo 4.9. Deney gruplarının akciğer homojenatında katalaz (KAT) değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirmeleri

Grup no	Gruplar	n	KAT (kU/mg yaş doku) Ortalama \pm Standart sapma	F	P	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol	7	211 \pm 58	9,026	0,000		ns	ns	*	ns	ns
2	Propolis 30	7	205 \pm 66			ns		**	*	ns	ns
3	Propolis 90	7	316 \pm 103			ns	*		***	**	**
4	İnflamasyon	7	80 \pm 35			*	*	***		ns	ns
5	İnflamasyon+Propolis 30	7	154 \pm 74			ns	ns	**	ns		ns
6	İnflamasyon +Propolis 90	7	169 \pm 53			ns	ns	**	ns	ns	

* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$



Şekil 4.9. Deney gruplarının akciğer homojenatında katalaz (KAT) değerleri

4.4. HEMOLİZATA AİT BULGULAR VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER

4.4.1. Hemolizatta Malondialdehit (MDA) Seviyeleri

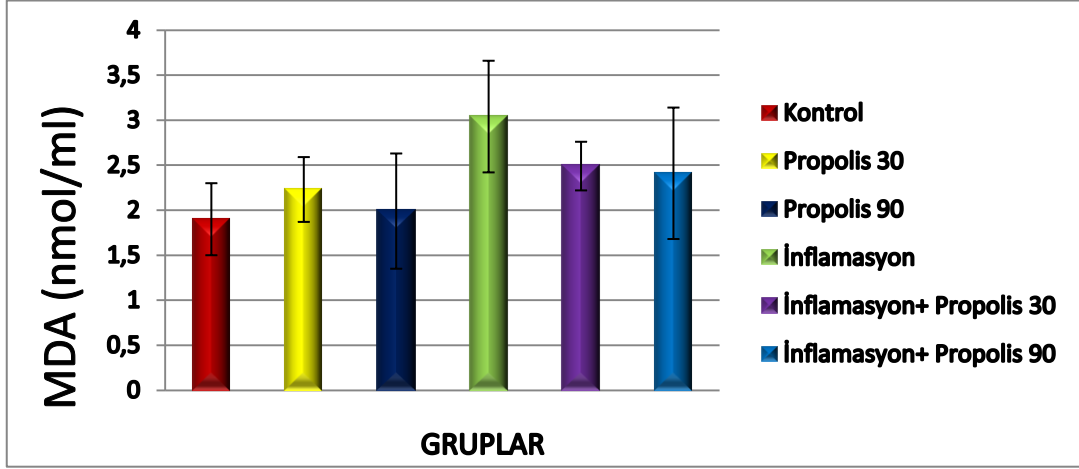
Hemolizatta MDA seviyeleri, kontrol grubunda, $1,90 \pm 0,40$ nmol/g yaş doku, Propolis 30 grubunda $2,23 \pm 0,36$ nmol/g yaş doku, Propolis 90 grubunda $1,99 \pm 0,64$ nmol/g yaş doku, İnflamasyon grubunda $3,04 \pm 0,62$ nmol/g yaş doku, İnflamasyon+Propolis 30 grubunda $2,49 \pm 0,27$ nmol/g yaş doku, İnflamasyon+Propolis 90 grubunda $2,41 \pm 0,73$ nmol/g yaş doku bulundu.

Hemolizatta MDA seviyelerine bakıldığında, Kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, İnflamasyon grubu ($p < 0,01$) istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (Tablo 4.10., Şekil 4.10.).

Tablo 4.10. Deney gruplarının hemolizatta MDA değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirmeleri

Grup no	Gruplar	n	MDA (nmol/g yaş doku) Ortalama \pm Standart sapma	F	P	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol	7	$1,90 \pm 0,40$	4,147	0,004		ns	ns	**	ns	ns
2	Propolis 30	7	$2,23 \pm 0,36$			ns		ns	ns	ns	ns
3	Propolis 90	7	$1,99 \pm 0,64$			ns	ns		*	ns	ns
4	İnflamasyon	7	$3,04 \pm 0,62$			**	ns	*		ns	ns
5	İnflamasyon+Propolis 30	7	$2,49 \pm 0,27$			ns	ns	ns	ns		ns
6	İnflamasyon+Propolis 90	7	$2,41 \pm 0,73$			ns	ns	ns	ns	ns	

* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$



Şekil 4.10. Deney gruplarının hemolizatta MDA değerleri

4.4.2. Hemolizatta Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi

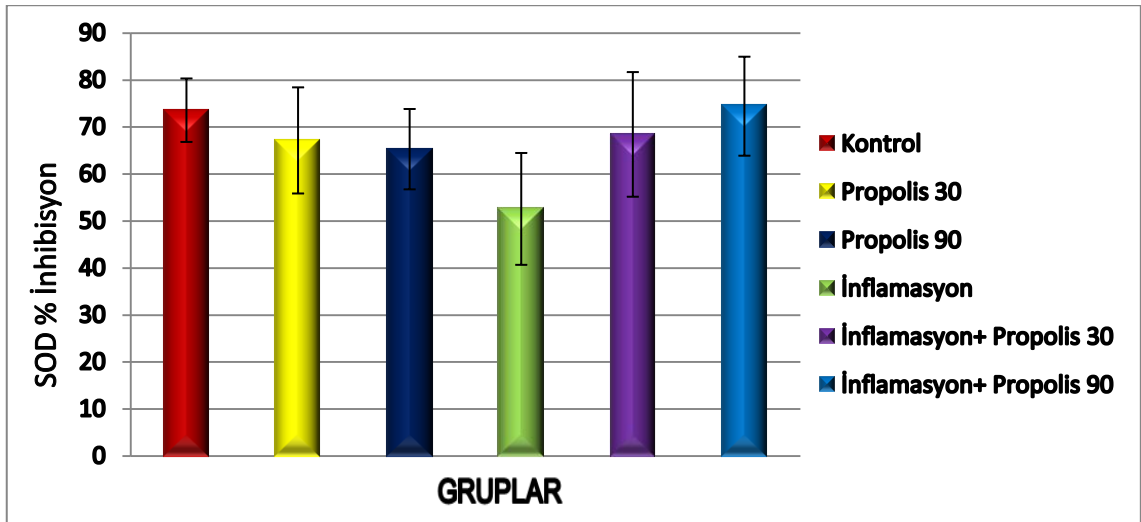
Hemolizatta SOD % inhibisyonu, kontrol grubunda, $73,57 \pm 6,75$ % inhibisyon, Propolis 30 grubunda $67,14 \pm 11,29$ % inhibisyon, Propolis 90 grubunda $65,28 \pm 8,55$ % inhibisyon, İnflamasyon grubunda $52,57 \pm 11,90$ % inhibisyon, İnflamasyon+Propolis 30 grubunda $68,42 \pm 13,26$ % inhibisyon, İnflamasyon+Propolis 90 grubunda $74,42 \pm 10,53$ % inhibisyon bulundu.

SOD % inhibisyonu bakımından, Kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, İnflamasyon grubu ($p < 0.01$) istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu. İnflamasyon grubuna göre İnflamasyon+Propolis 90 ($p < 0.01$) grubu istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (Tablo 4.11., Şekil 4.11.).

Tablo 4.11. Deneysel grupların hemolizatta SOD % inhibisyon değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirmeleri

Grup	Gruplar	n	SOD % inhibisyon Ortalama ± Standart sapma	F	P	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol	7	73,57±6,75	4,979	0,001		ns	ns	**	ns	ns
2	Propolis 30	7	67,14±11,29			ns		ns	ns	ns	ns
3	Propolis 90	7	65,28±8,55			ns	ns		ns	ns	ns
4	İnflamasyon	7	52,57±11,90			**	ns	ns		ns	**
5	İnflamasyon+Propolis 30	7	68,42±13,26			ns	ns	ns	ns		ns
6	İnflamasyon +Propolis 90	7	74,42±10,53			ns	ns	ns	**	ns	

* p< 0,05 ** p<0,01 *** p<0,001



Şekil 4.11. Deneysel grupların hemolizatta SOD % inhibisyon değerleri

4.4.3. Hemolizatta Katalaz (KAT) Aktivitesi

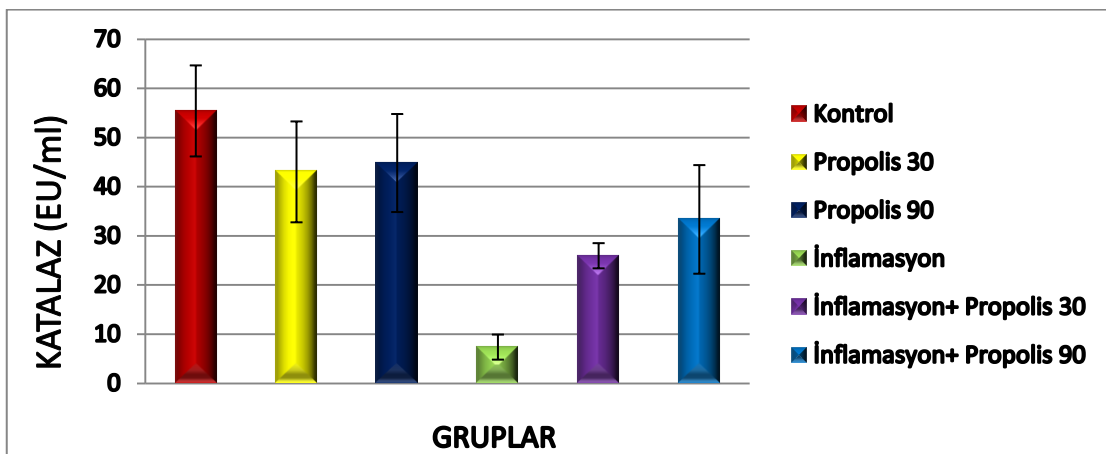
Hemolizatta KAT aktivitesi, kontrol grubunda, $55,41 \pm 9,26$ kU/mg yaş doku, Propolis 30 grubunda $43,01 \pm 10,26$ kU/mg yaş doku, Propolis 90 grubunda $44,81 \pm 9,97$ kU/mg yaş doku, İnflamasyon grubunda $7,37 \pm 2,55$ kU/mg yaş doku, İnflamasyon+Propolis 30 grubunda $25,95 \pm 2,56$ kU/mg yaş doku, İnflamasyon+Propolis 90 grubunda $33,34 \pm 11,05$ kU/mg yaş doku bulundu.

Katalaz aktivitesi bakımından, Kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, İnflamasyon ($p<0.001$), İnflamasyon+Propolis 30 ($p<0,001$) ve İnflamasyon+Propolis 90 ($p<0,001$) gruplarında KAT aktivitesi istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu. İnflamasyon grubuna göre; Propolis 30 ($p<0.001$), Propolis 90 ($p<0.001$), İnflamasyon+Propolis 30 ($p<0.01$) ve İnflamasyon+Propolis 90 ($p<0.001$) grupları istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (**Tablo 4.12.**, **Şekil 4.12.**).

Tablo 4.12. Deney gruplarının hemolizatta katalaz (KAT) değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirmeleri

Grup no	Gruplar	n	KAT (kU/mg yaş doku) Ortalama ± Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol	7	55,41±9,26	28,104	0,000		ns	ns	***	***	***
2	Propolis 30	7	43,01±10,26			ns		ns	***	**	ns
3	Propolis 90	7	44,81±9,97			ns	ns		***	**	ns
4	İnflamasyon	7	7,37±2,55			***	***	***		**	***
5	İnflamasyon+Propolis 30	7	25,95±2,56			***	**	**	**		ns
6	İnflamasyon +Propolis 90	7	33,34±11,05			***	ns	ns	***	ns	

* $p<0,05$ ** $p<0,01$ *** $p<0,001$



Şekil 4.12. Deney gruplarının hemolizatta katalaz (KAT) değerleri

4.4.4. Akciğer ¹⁸F-FDG Tutulumu

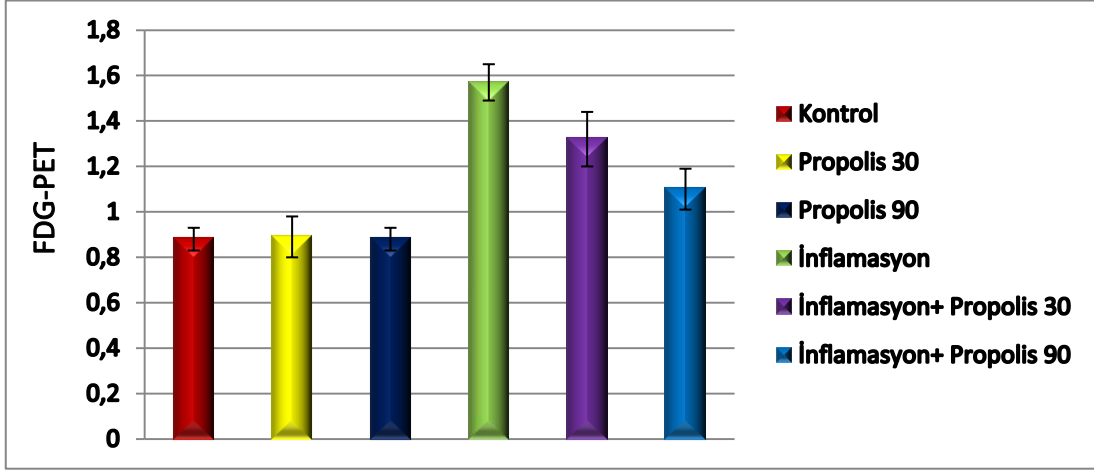
Akciğer ¹⁸F-FDG tutulumu, Kontrol grubunda, $0,88 \pm 0,05$ SUD maks., Propolis 30 grubunda $0,89 \pm 0,09$ SUD maks., Propolis 90 grubunda $0,88 \pm 0,05$, İnflamasyon grubunda $1,57 \pm 0,08$ SUD maks., İnflamasyon+Propolis 30 grubunda $1,32 \pm 0,12$ SUD maks., İnflamasyon+Propolis 90 grubunda $1,10 \pm 0,09$ SUD maks.bulundu.

Akciğer ¹⁸F-FDG tutulumuna bakıldığında, kontrol grubuna göre, İnflamasyon ($p<0.001$), İnflamasyon+Propolis 30 ($p<0.001$) ve İnflamasyon+Propolis 90 ($p<0.01$) grupları istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu. İnflamasyon grubuna göre diğer grupların hepsi istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu ($p<0.001$) (Tablo 4.13., Şekil 4.13., Şekil 4.14.).

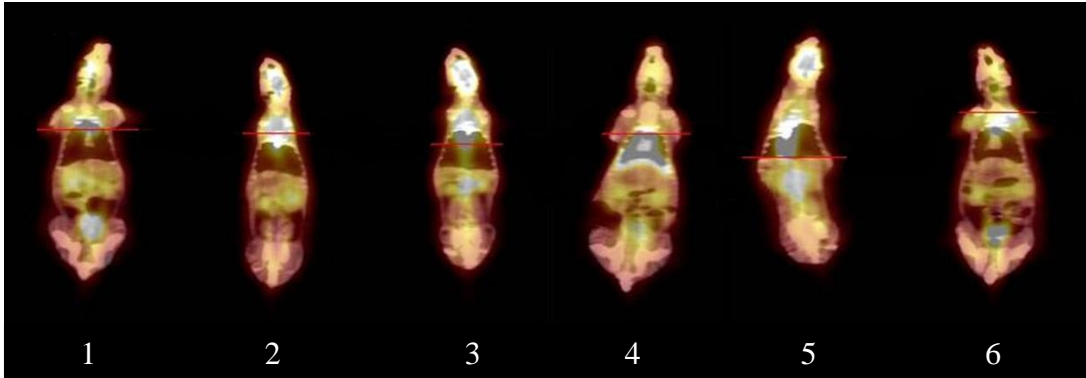
Tablo 4.13. Deney gruplarının akciğer 18F-FDG tutulum (SUD maks.) değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirmeleri

Grup no	Gruplar	n	SUD maks. Ortalama ± Standart sapma	F	P	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol	7	0,88±0,05	70,687	0,000		ns	ns	***	***	**
2	Propolis 30	7	0,89±0,09			ns		ns	***	***	***
3	Propolis 90	7	0,88±0,05			ns	ns		***	***	***
4	İnflamasyon	7	1,57±0,08			***	***	***		***	***
5	İnflamasyon+Propolis 30	7	1,32±0,12			***	***	***	***		**
6	İnflamasyon +Propolis 90	7	1,10±0,09			**	**	***	***	**	

* $p<0,05$ ** $p<0,01$ *** $p<0,001$



Şekil 4.13. Deney gruplarının akciğer ¹⁸F-FDG tutulum (SUD maks.) değerleri



Şekil 4.14. Deney gruplarının akciğer ve karaciğer ¹⁸F-FDG-PET görüntüleri. 1. kontrol, 2. propolis 30, 3. propolis 90, 4. inflamasyon kontrol, 5. inflamasyon+propolis30, 6. inflamasyon+propolis 90.

4.4.5. Karaciğer ¹⁸F-FDG tutulumu

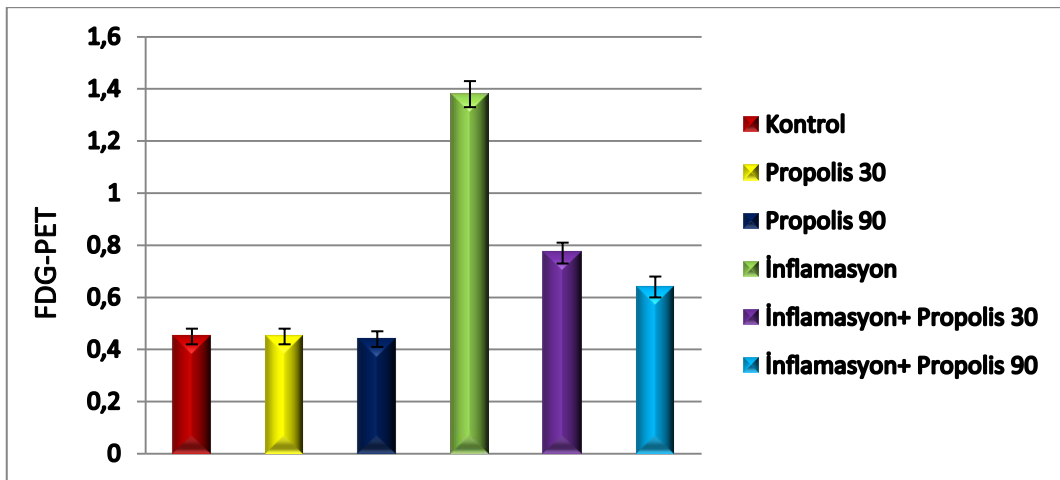
Karaciğer ¹⁸F-FDG tutulumu, kontrol grubunda $0,45 \pm 0,03$ SUD maks., Propolis 30 grubunda $0,45 \pm 0,03$ SUD maks., Propolis 90 grubunda $0,44 \pm 0,03$ SUD maks., İnflamasyon grubunda $1,38 \pm 0,05$ SUD maks., İnflamasyon+Propolis 30 grubunda $0,77 \pm 0,04$ SUD maks., İnflamasyon+Propolis 90 grubunda $0,64 \pm 0,04$ SUD maks.bulundu.

Karaciğer ^{18}F -FDG tutulumuna bakıldığında, kontrol grubuna göre, İnflamasyon, İnflamasyon+Propolis 30 ($p<0.001$) ve İnflamasyon+Propolis 90 ($p<0.001$) grupları istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu. İnflamasyon grubuna göre İnflamasyon+Propolis 30 ($p<0.001$) ve İnflamasyon+Propolis 90 ($p<0.001$) grupları istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu ($p<0.001$) (Tablo 4.14., Şekil 4.15.) (Bkz Şekil 4.14.).

Tablo 4.14. Deney gruplarının karaciğer ^{18}F -FDG tutulum (SUD maks.) değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	SUD maks. Ortalama \pm Standart sapma	F	P	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol	7	0,45 \pm 0,03	476,878	0,000		ns	ns	***	***	***
2	Propolis 30	7	0,45 \pm 0,03			ns		ns	***	***	***
3	Propolis 90	7	0,44 \pm 0,03			ns	ns		***	***	***
4	İnflamasyon	7	1,38 \pm 0,05			***	***	***		***	***
5	İnflamasyon+Propolis 30	7	0,77 \pm 0,04			***	***	***	***		***
6	İnflamasyon +Propolis 90	7	0,64 \pm 0,04			***	***	***	***	***	

* $p<0,05$ ** $p<0,01$ *** $p<0,001$



Şekil 4.15. Deney gruplarının karaciğer ^{18}F -FDG tutulum (SUD maks.) değerleri

5. TARTIŞMA

5.1. PROPOLİSİN MDA DÜZEYLERİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ

Escherichia coli (E. coli) gibi Gram-negatif bakterilerin hücre duvarının bir bileşeni olan ve "endotoksin" olarak da adlandırılan lipopolisakkarit (LPS), sıçan ve farelere uygulandığında inflamasyona neden olmaktadır. Çeşitli akut ve kronik deneysel inflamasyon modellerinde, endotoksin ile oluşumları tetiklenen TNF- α , IL-8 ve IL-1 gibi proinflamatuvar sitokinler ile çeşitli hücrelerde bir nükleer transkripsiyon faktörü olan NF κ -B' nin uyarılmasının ardından etkinlikleri artan nitrik oksit (NO), serbest oksijen radikalleri, indüklenebilir nitrik oksit (iNOS) ve COX-2 aracılığı ile oluşan NO, prostanooidler ve serbest oksijen radikalleri (SOR) gibi moleküllerin inflamasyonun çeşitli aşamalarında rol oynadıkları bilinmektedir (8, 12, 46, 71).

Mirzoeva ve Calder yaptıkları çalışmada propolisin antiinflamatuvar etkisini hidrofolat redüktaz inhibisyonu sağlayarak ve prostaglandin sentezini inhibe ederek gösterdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca akut inflamasyonda lipooksijenaz ve siklooksijenaz üretimini baskıladığı bildirilmiştir (59). Yapılan çalışmalarda propolisin inflamatuvar süreçte, nötrofiller tarafından oluşturulan serbest radikalleri yakaladığı bildirilmiştir (91, 92).

Nieva ve arkadaşları Arjantin propolisinde antioksidan aktivite ile flavonoid içeriğinin belirgin biçimde ilişkili olduğunu göstermişlerdir (65). Ayrıca flavonoid içeriği ve inhibe olan malondialdehit (MDA) yüzdesi arasında pozitif ilişki olduğunu da saptamışlardır. Bununla beraber, flavonoid içeriğinden başka, diğer içeriklerin de antioksidan özelliğe neden olduğu belirtilmektedir (66).

Kaya ve Özbilge propolisin, gram negatif bakterilerin dış zar bileşeni olan lipopolisakkarit (LPS) ile uyarılmış makrofajlarda pro-inflamatuvar sitokinlerin üretimi üzerine etkisiyle ilgili yaptıkları çalışmada propolis'in, pro-inflamatuvar sitokinlerin

baskılanması gerektiği durumlarda kullanılabilir bir ajan olduğunu bildirmişlerdir (45).

Koksel ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada LPS uygulanan sıçanlarda serum ve akciğer dokusunda MDA düzeylerini anlamlı olarak arttırdığı ancak propolisin temel bir bileşeni olan CAPE'in MDA düzeylerini anlamlı derecede düşürdüğü, inflamasyonu ve LPS'nin neden olduğu akciğer doku hasarını azalttığını bildirmişlerdir (46).

Çelik ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *Escherichia coli* (E. coli) uygulanan gruplarda böbrek homojenatlarında MDA düzeylerini anlamlı olarak arttırdığı ve propolisin temel bir bileşeni olan CAPE'in MDA düzeylerini düşürdüğünü, oksidatif hasarı azalttığını bildirmiştir (12).

Hoşnuter ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada propolisin temel bileşenlerinden biri olan CAPE'in, lipid peroksidasyonunu baskılayarak MDA düzeyini düşürdüğü, reaktif oksijen türlerini azaltıcı etki gösterdiği, ksantin oksidaz ve nitrik oksit sentaz aktivitelerini baskı altında tutarak engellediği ve süperoksit dismutaz aktivitesinin tüketiminin önlenmesi ile antioksidan özellik gösterdiği bildirilmiştir (39).

Çalışmamızda elde edilen bulgulara göre; hemolizatta, böbrek ve akciğer dokularında, İnflamasyon grubundaki MDA düzeyinin Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunması LPS'nin oksidatif stresi tetiklediğini göstermektedir. İnflamasyon grubunda LPS'nin neden olduğu MDA düzeyindeki bu artış karaciğer dokusunda anlamlı bulunmadı. Böbrek dokusunda, İnflamasyon grubuna göre İnflamasyon+Propolis 30 ve İnflamasyon+Propolis 90 gruplarının MDA seviyelerinin anlamlı derecede düşük olması, tedavi edici olarak verilen 30mg/kg ve 90mg/kg propolis ekstraktlarının gruplardaki MDA seviyelerini anlamlı olarak düşürdüğünü ve lipid peroksidasyon düzeyini azalttığını göstermektedir. Bu azalmanın, kullanılan propolis ekstraktının böbrek dokusunda antioksidan etki göstererek, reaktif oksijen radikallerinin temizlenmesi sonucu oluştuğu ve propolis tedavisinin lipid peroksidasyonunu azaltıcı yönde etki ettiğini göstermektedir. Propolis,

İnflamasyon+Propolis 30 ve İnflamasyon+Propolis 90 gruplarında MDA düzeylerini kontrol altında tutarak, böbrek dokusunda LPS'nin neden olduğu oksidatif stres, inflamasyon ve doku hasarını azaltmıştır. Karaciğer ve akciğer dokularında İnflamasyon grubuna göre İnflamasyon+Propolis 90 grubunun MDA seviyesinin anlamlı derecede düşük olması tedavi edici olarak verilen 90mg/kg propolis ekstraktının antioksidan etki göstererek, reaktif oksijen radikallerinin temizlenmesi sonucu, lipid peroksidasyonunu azaltıcı yönde etki ettiği göstermektedir. Tedavi edici olarak verilen 90mg/kg propolis ekstraktının karaciğer ve akciğer dokusunda 30mg/kg propolis ekstraktına göre daha etkili olduğunu düşünmekteyiz. Yapılan diğer çalışmalar bizim bulgularımızla uygunluk göstermektedir.

5.2. PROPOLİSİN SOD ENZİM AKTİVİTESİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ

Radikallerin aşırı reaktif yapılarına bağlı olarak, hücresel bileşenlerdeki karbonhidrat, protein ve lipidlerin oksidasyonu ile sonuçlanacak zararın önlenmesi antioksidanların görevidir (16). Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT) ve glutatyon peroksidaz gibi redoks döngüsünde yer alan enzimler doğal olarak vücutta oluşan enzimatik antioksidanları oluştururlar. Hücre içindeki primer korunma sistemini meydana getirirler (30, 40). Enzimatik antioksidanlar serbest radikal zincir tepkimesinin başlaması için gerekli olan serbest radikal miktarını azaltılmasını sağladıkları için primer antioksidanlar olarak da tanımlanırlar. Genel olarak enzimatik savunma sistemleri, zararlı oksijen türevlerini ortadan kaldırırlar (16, 58, 86). Hsiao ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada süperoksit dismutaz'ın karaciğer hücrelerinde reaktif oksijen türlerinin (süperoksit), hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen önemli bir enzim olduğu bildirilmiştir. Ayrıca SOD enziminin lipid peroksitler veya reaktif oksijen türleri tarafından kolayca inaktive olduğu belirtilmiştir (40). Propolis ile polifenolik bileşiklerinin enzimatik antioksidanlardan GSH-Px, GSSG-R, SOD, KAT, XO, iNOS aktivitelerini arttırdığı, enzimatik olmayan antioksidan sistemde ise GSH seviyesini artırdığı, hidrojen peroksit, tekli oksijen molekülü ve lipid peroksid radikallerini temizlediği, hidrate elektron atağından DNA'yı koruduğu gösterilmiştir (29). Aynı zamanda, bazı araştırmacılar tarafından propolis ve

ilişkili flavonoidlerin DNA tamir enzimleri (DNA polimeraz beta gibi), hemeoksijenaz-1 ve mitokondriyal süperoksid dismutaz üzerinden antioksidan etkinliği artırdığını rapor edilmiştir (7).

Sebai ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada lipopolisakkarit uygulanan gruplarda endojen antioksidan enzimler olan SOD, KAT ve GPx aktivitelerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunduğunu bildirmişlerdir (82).

Mohamadin ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada lipopolisakkarit uygulayarak oksidatif stres oluşturulan gruplarda KAT, SOD ve GSH-Px aktivitelerini aktivitelerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulduklarını bildirmişlerdir (60).

Önceki çalışmalarla uyumlu olarak bu çalışmada, Kontrol grubuna göre İnflamasyon grubunun SOD % inhibisyonu bakımından, akciğer dokusunda ve hemolizatta SOD aktivitelerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı, bu azalmanın LPS ile oluşturduğumuz inflamasyon modelinde deney hayvanlarının savunma sisteminde, başta uyarılmış nötrofiller olmak üzere diğer savunma sistemlerince SOR üretiminin tetiklendiği, meydana gelen oksidatif strese cevap olarak SOD sentezinin arttığı ancak; SOR'un aşırı miktarda olması SOD'la SOR arasındaki dengeyi bozduğu, SOR ürünlerinin SOD tüketimini artırıp SOD düzeyini azalttığını düşünmekteyiz. Yaptığımız çalışmada; hemolizatta, karaciğer ve akciğer dokularında İnflamasyon grubuna göre İnflamasyon+Propolis 90 grubunun SOD % inhibisyonu bakımından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunması, tedavi edici olarak kullanılan 90mg/kg propolis ekstraktının antioksidan etki göstererek ortamdaki serbest oksijen radikallerini uzaklaştırarak ya da metabolize ederek, SOD enziminin bu radikallerden etkilenmesini engelleyerek tüketimini azalttığı ve endojen antioksidan sistemi güçlendirdiğini göstermektedir.

5.3. PROPOLİSİN KAT ENZİM AKTİVİTESİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ

Radikallerin aşırı reaktif yapılarına bağlı olarak, hücrenel bileşenlerdeki karbonhidrat, protein ve lipidlerin oksidasyonu ile sonuçlanacak zararın önlenmesi antioksidanların görevidir (16). Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT) ve glutatyon peroksidaz gibi redoks döngüsünde yer alan enzimler doğal olarak vücutta oluşan enzimatik antioksidanları oluştururlar. Hücre içindeki primer korunma sistemini meydana getirirler (30, 40). Enzimatik antioksidanlar serbest radikal zincir tepkimesinin başlaması için gerekli olan serbest radikal miktarının azaltılmasını sağladıkları için primer antioksidanlar olarak da tanımlanırlar. Genel olarak enzimatik savunma sistemleri, zararlı oksijen türevlerini ortadan kaldırırlar (16, 58, 86). Fahmy ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, yüksek dönüşüm hızlarından birine sahip olan katalazın, hidrojen peroksidin su ve moleküler oksijene dönüşümünü sağladığını; lipid hidroperoksitlere etki etmeyerek, hidrojen peroksit ve metil hidroperoksit gibi küçük moleküllere etki ettiklerini ve bunun sonucunda da ikinci derecede sentezlenen toksik hidroksil radikallerinin temizlenmesini sağlayarak, H_2O_2 'nin vücutta birikimini engellediğini belirtmiştir (22).

Propolis ile polifenolik bileşiklerinin enzimatik antioksidanlardan GSH-Px, GSSG-R, SOD, KAT, XO, iNOS aktivitelerini arttırdığı, enzimatik olmayan antioksidan sistemde ise GSH seviyesini artırdığı, hidrojen peroksit, tekli oksijen molekülü ve lipid peroksid radikallerini temizlediği, hidrate elektron atağından DNA'yı koruduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda, bazı araştırmacılar tarafından propolis ve ilişkili flavonoidlerin DNA tamir enzimleri (DNA polimeraz beta gibi), hemeoksijenaz-1 ve mitokondriyal süperoksit dismutaz üzerinden antioksidan etkinliği artırdığını rapor edilmiştir (21).

Sebai ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada lipopolisakkarit uygulanan gruplarda endojen antioksidan enzimler olan SOD, KAT ve GPx aktivitelerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunduğunu bildirmişlerdir (82).

Mohamadin ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada lipopolisakkarit uygulayarak oksidatif stres oluşturulan gruplarda KAT, SOD ve GSH-Px aktivitelerini aktivitelerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulduklarını bildirmişlerdir (60).

Bu çalışmadaki KAT aktivitesi incelendiğinde; hemolizat ve karaciğer, böbrek, akciğer dokusunda diğer gruplara göre İnflamasyon grubunun KAT aktivitesi düşük bulunmuş olup, LPS, serbest oksijen radikal oluşumunu tetikleyerek antioksidan sistemi olumsuz yönde etkilemiş ve endojen antioksidan olan KAT düzeyini azaltmıştır.

Karaciğer ve böbrek dokusunda, Kontrol grubuna göre 90mg/kg propolis ekstraktı verilen Propolis 90 gruplarının KAT aktivitesinin istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunması, propolisin endojen antioksidan olan KAT'ın aktivitesini arttırdığını göstermektedir. Ayrıca karaciğer ve böbrek dokusunda Propolis 90 grubunun Propolis 30 grubuna göre anlamlı olması 90mg/kg propolis ekstraktının 30mg/kg 'a göre daha etkili olduğunu düşündürmektedir.

Karaciğer, böbrek ve akciğer dokusunda İnflamasyon+Propolis 30 ve İnflamasyon+Propolis 90 gruplarının KAT aktivitesi bakımından Kontrol grubuna göre istatistiksel anlamda bir fark olmaması, tedavi edici olarak kullanılan propolis ekstraktının antioksidan etki göstererek ortamdaki serbest oksijen radikallerini uzaklaştırarak ya da metabolize ederek katalaz enziminin bu radikallerden etkilenmesini azalttığı ve endojen antioksidan sistemi güçlendirdiğini göstermektedir. Ayrıca hemolizatta İnflamasyon+Propolis 30 ve İnflamasyon+Propolis 90 gruplarının KAT aktivitesi bakımından İnflamasyon grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olması, propolis tedavisinin inflamasyon oluşumunda önleyici/tedavi edici bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Yapılan diğer çalışmalar bizim bulgularımızla uygunluk göstermektedir.

5.4. PROPOLİSİN ¹⁸F-FDG TUTULUMU ÜZERİNE OLAN ETKİSİ

¹⁸Fluorodeoksiglukoz kanser spesifik bir ajan olmayıp; sarkoidoz, tüberküloz, fungal enfeksiyon ve serebral abse gibi pek çok infeksiyöz ve inflamatuvar hastalıkta da artmış tutulum göstermektedir. Bu da inflamatuvar hücrelerdeki artmış glikoliz hızıyla ilişkili bulunmuştur (36, 37, 41).

İnfeksiyonlarda FDG tutulum mekanizması tam olarak açıklanabilmiş değildir. Abseler, sinüzit, pankreatit gibi durumlarda FDG alımı artar. İyileşmekte olan kemik dokusu ve osteoartritte de FDG alımı artmıştır. Sarkoidoz ve tüberküloz gibi granümatöz hastalıklarda da FDG alımının arttığı bildirilmiştir (1).

Bu bulgulara göre yaptığımız deneysel modelde, akciğer ve karaciğerde, Kontrol grubuna göre İnflamasyon, İnflamasyon+Propolis 30 ve İnflamasyon+Propolis 90 gruplarında ki ¹⁸F-FDG tutulumunun istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunması LPS'nin inflamasyona neden olduğu ve oluşan inflamatuvar yanıtı bağlı olarakta hücrelerde artmış glikoz kullanımını göstermektedir. Akciğer ve karaciğerde, İnflamasyon grubuna göre İnflamasyon+Propolis 30 ve İnflamasyon+Propolis 90 gruplarındaki FDG tutulumunun istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunması kullanılan propolis ekstresinin inflamasyonu azalttığını göstermektedir.

6. SONUÇ

Çalışmamızda, deneysel model olarak LPS ile sıçanlarda deneysel inflamasyon oluşturuldu ve tedavi için, çok eski çağlardan bu yana insanlar tarafından ya çeşitli hastalıkların tedavisinde ya da etkilerinin azaltılmasında kullanılmış, günümüzde antibakteriyel, antifungal, antiviral, antioksidan, antiinflamatuvar, sitotoksik, immünomodülatör, antiülser, antihepatotoksik, lokal anestezi, antitümör, antikanser, immünoestimülantör gibi biyolojik aktivitelere sahip, doğal bir arı ürünü olan propolis ekstraktının inflamasyon ve antioksidan sistem üzerine olan etkileri araştırıldı.

Sonuç olarak bu çalışmanın verileri, LPS'nin inflamasyon ve oksidatif strese neden olduğu, doğal bir arı ürünü olan propolisin karaciğer, böbrek, akciğer dokularında ve hemolizatta gösterilen koruyucu etkisinin muhtemel mekanizmasının, reaktif oksijen radikallerinin temizlenmesi sonucu lipid peroksidasyonunun ve/veya antioksidan tüketiminin engellenmesi ile olabileceğini düşündürmektedir. Antioksidan etkinliği gösterilen propolisin, LPS'nin neden olduğu inflamasyon ve oksidatif hasara karşı koruyucu olarak kullanılması çalışmanın verilerinden hareketle önerilebilir. Endojen antioksidan enzim seviyelerinin yükseltilmesinde propolisin faydalı etkilere sahip olduğu düşünülmektedir. Propolisin etki mekanizmalarının daha iyi anlaşılması, doz ve tolerabilite konularının tamamen açıklığa kavuşturulması için prelinik ve klinik çalışmalara gereksinim vardır. Çalışmanın gelecekte yapılacak iyi tasarlanmış araştırmalara ışık tutacağı kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

- 1) Ak, I., Stokkel, M., Pauwels, E., 2000, Positron emission tomography with 2-(F18)fluoro-2-deoxy-D-glukose in oncology. Part II. The clinical value in detecting and staging primary tumours. J Cancer Res Clin Oncol. 126: 560-574 p.
- 2) Akpınar, E., 2003, Ratlarda oluşturulan deneysel inflamasyon modellerinde L-tipi kalsiyum kanal blokörlerinin etkileri, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 84 s. (yayınlanmamış)
- 3) Aktay, G., Deliorman, D., Ergun, E., Ergun, F., Yeşilada, E., Çevik, C., 2000, Hepatoprotective effects of Turkish folk remedies on experimental liver injury, Journal of Ethnopharmacology, 73, 121-129 p.
- 4) Aruoma, O.I., 1998, Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants in Human Health and Disease, Journal of the American Oil Chemists' Society, 75,2 ,199-212 p.
- 5) Baron, S., Lee, C., 2006, General Pathology, Host Response to Injury, Acute Inflammatory Response, Lange Pathology Flash Cards, McGraw-Hill, New York. 70-75 p.
- 6) Bazo, AP, Rodrigues MAM, Sforcin JM. et al.: Protective Action of Propolis on the Rat Colon Carcinogenesis. Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis 22:183–194, 2002.
- 7) Benkovi, V., Orsoli, N., Knezevic, A., et al. 2008, Evaluation of the Radioprotective Effects of Propolis and Flavonoids in Gamma-Irradiated Mice: The Alkaline Comet Assay Study. Biol. Pharm, Bull 31: 167-72 p.
- 8) Bilgin, Ö., 2007, Lipopolisakkarit ile uyarılmış hepatik iskemi-reperfüzyon hasarı oluşturulan deneklerde, melatonin uygulanmasının doku (karaciğer ve böbrek) Nf-Kb ekspresyonu ile kan ve doku lipid peroksidasyonu üzerine etkisi, Uzmanlık Tezi, Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, 102 s. (yayınlanmamış)
- 9) Borelli, F., Maffia, P., Pinto, L., 2002, Phtyochemical compounds involved in the anti-inflammatuary effect of propolis extract, Titoterapis, 73:53-63 p.
- 10) Brady, Z., Taylor, M.L., Haynes, M., et al. 2008, The clinical application of PET/CT: a contemporary review, Australas Phys Eng Sci Med 31:90-109 p.
- 11) Cardile, V., Panico, A., Gentile, B., Borrelli, F., Russo, A., 2003, Effect of propolis on human , Life Sciences, 73:1027-1035.

Kaynaklar (Devam Ediyor)

- 12) Celik, S., Gorur, S., Aslantas, O., Erdogan, S., Ocak, S., Hakverdi, S., 2007, Caffeic acid phenethyl ester suppresses oxidative stress in *Escherichia coli*-induced pyelonephritis in rats, *Molecular and Cellular Biochemistry* 297: 131–138 p.
- 13) Cheville, N.F., 1999, *Acute Inflammation, Introduction to Veterinary Pathology*, Blackwell Publishing Ltd. Oxford UK., 105-119 p.
- 14) Crane, E., 1990, *Bees and beekeeping: science, practice and world resources*, Heinemann Professional Publishing Ltd., Oxford, 614 pp.
- 15) Çam, H., 2007, Sıçanlarda aspirin ile uyarılan gastritin önlenmesinde kafeik asit fenetil esterinin etkinliğinin araştırılması, Doktora tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi.
- 16) Çolak, E., 2011, Yüksek Lisans Tezi, Karbon tetrakloridin (cc14) indüklediği karaciğer hasarı ve oksidatif stres üzerine *Cynara scolymus* L. yaprağı ekstraktının etkileri, ESOGÜ, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 127 s. (yayımlanmamış)
- 17) Deschner, E.E., Ruperto, J., Wonk, G., 1991, Quercetin and rutin as inhibitors of azocy methanol induced colonic neoplasia, *Carcinogenesis*, 12: 771-775 p.
- 18) Doğan, M.D., 2001, *E. coli* 0111:B4 ve 055:B5 serotipi lipopolisakaritlerinin sıçanlarda oluşturduğu termoregülatuar ve davranışsal değişikliklerin farmakolojik karakterizasyonu, Uzmanlık Tezi, Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji Anabilim Dalı, 71 s. (yayımlanmamış)
- 19) Er, A., Yazar, E., Uney, K., Elmas, M., Altan, F., Cetin, G., 2010, Effects of tylosin on serum cytokine levels in healthy and lipopolysaccharide-treated mice, *Acta Vet Hung*, 58, 75-81 p.
- 20) Ersoy, B., 2010, Sığırlarda akut inflamasyonun belirlenmesinde serum demir düzeyinin diyagnostik öneminin araştırılması, Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 90 s. (yayımlanmamış)
- 21) Eser, B., 2009, Ratlarda metotreksatin yol açtığı intestinal mukoza hasarı ve oksidatif stres üzerine propolisin etkisi, Tıpta Uzmanlık Tezi, Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, 81 s. (yayımlanmamış)
- 22) Fahmy, S.R., Hamdi S.A.H., Abdel-Salam, H.A., 2009, Curative effect of dietary freshwater and marine crustacean extracts on carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity, *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3, 3, 2118-2129 p
- 23) Fausto, N., 2000, Liver regeneration, *Journal Of Hepatology*, 32, 19-31 p.
- 24) Gambhir SS, Czermin J, Schwimmer J et al:(2001) A tabulated summary of the FDG PET literature *J Nucl Med* 42:1-93 p.

Kaynaklar (Devam Ediyor)

- 25)Gannong, F.W., 1999, Tıbbi Fizyoloji, 19.baskıdan çeviri, Barış Kitapevi, Ankara, 550-552 s.
- 26)Gençay, Ö., Sorkun K., 2002, Propolisin kullanım alanları, Teknik Arıcılık, 76, 4-11 p.
- 27)Gençay, Ö., Sorkun, K., 2002, Propolis hakkında neler biliyoruz, Teknik Arıcılık, 75, 17-21.
Kumova, U., Korkmaz A., Avcı, B.C., Ceyran, G., 2002, Önemli Bir Arı Ürünü, Propolis, Uludağ Arıcılık Dergisi, 2, 2, 10-24.
- 28)Ghisalberti, E.L., 1979 Propolis a Review, Bee World, 60, 59-84 p.
- 29)Giulia, D.C., Mascolo, N., Angelo A.L., et al., 1999, Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs, Life Sciences 65: 337-53.
- 30)Gutteridge, J.M.C., 1995, Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage, Clinical Chemistry, 41,12, 1819-1828 p.
- 31)Guyton, A.C., Hall, J.E., 1996, Tıbbi Fizyoloji, 9. baskıdan çeviri, Nobel Tıp Kitabevi, Ankara, 439-440 s.
- 32)Halliwell, B., and Gutteridge J.M.C., 1984, Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease, Biochemical Journal, 219, 1-14 p.
- 33)Hamasuk, T., Kumazawa, S., Fujimoto, T., 2004, Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of Japan, Food Sci. Technol. Res., 10:86- 92 p.
- 34)Harish, Z., Rubinstein, A., Golodner, M., Elmaliah, M., Mizrachi, Y., 1997, Suppression of HIV-1 replication by propolis and its immunoregulatory effect. Drugs Exp. Clin. Res., 23:89-96 p.
- 35)Hepşen İF, Tilgen F, Er H. Propolis: Tıbbi Özellikleri ve Oftalmojik Kullanımı. Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi. 3(4): 386-391, 1996.
- 36)Higashi, K., et al. 2001, Comparison of (18F) FDG PET and 201 Tl SPECT in the evaluation of pulmonary nodules. J Nucl Med. 42: 1489-1496 p.
- 37)Higashi, T., et al. 2002, Relationship between retention index in dual-phase 18F-FDG PET, and hexokinase-II and glucose transporter-1 expression in pancreatic cancer. J Nucl Med; 43: 173-180 p.
- 38)Hofseth, L.J., Wargovich M.J., 2007, Inflammation, Cancer, and Targets of Ginseng 1–3.J. Nutr. 137:183-185 p.

Kaynaklar (Devam Ediyor)

- 39)Hoşnüter, M., Gurel, A., Babuccu, O., Armutcu, F., Kargi, E., Isikdemir, A., 2004, The effect of CAPE on lipid peroxidation and nitric oxide levels in the plasma of rats following thermal injury. *Burns* 30:121–5 p.
- 40)Hsiao, G., Lin, Y.H., Lin C.H., Chou D.S., Lin W.C., Sheu J.R., 2001,The Protective Effects of PMC against Chronic Carbon Tetrachloride- Induced Hepatotoxicity in Vivo, *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 24,11, 1271-1276 p.
- 41)Huang MY, Liao MH, Wang YK, Huang YS, Wen HC., 2012, Effect of lavender essential oil on LPS-stimulated inflammation. *Am J Chin Med.* 40(4):845-59.
- 42)Isla, M.I, Nieva Moreno M.I, Sampietro A.R., Vattuone M.A.: Antioxidant activity of Argentine propolis extracts. *Journal of Ethnopharmacology* 76: 165–170, 2001.
- 43)Jin, M., Iwamoto, T., Yamada, K., Satsu, H., Totsuka, M., Shimizu. M., 2011, Effects of chondroitin sulfate and its oligosaccharides on toll-like receptor mediated IL-6 secretion by macrophage-like J774.1 cells, *Biosci Biotechnol Biochem* 75(7): 1-7 p.
- 44)Karacaoğlu M., 1997, Propolisin yapısı ve kullanımı, *Teknik Arıcılık*, 57, 18-25 p.
- 45)Kaya, E.G., Özbilge, H., 2011, Lipopolisakkarit ile uyarılmış makrofajlarda propolis'in sitokin salınımı üzerine etkileri, *Klinik ve Deneysel Araştırmalar Dergisi*, 2 (4): 366-370 s.
- 46)Koksel, O., Ozdulger A., Tamer, L., Cinel L., Ercil, M., Degirmenci,U., Unlu, S., Kanik, A., 2006, Effects of caffeic acid phenethyl ester on lipopolysaccharide-induced lung injury in rats, *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics* 19: 90-95 p.
- 47)Krause BJ, Beyer T, Bockisch A, et al. 2007, FDG-PET/CT in oncology. *Nuklearmedizin* 46:291-301 p.
- 48)Krell, R., 1996, Value-Added Products From Beekeeping, *FAO Agricultural Services Bulletin No. 124* Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome.
- 49)Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., Milosa, M., 2004, Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil, *Food Chemistry*, 85, 4, 633-640 p.
- 50)Kumar, V., Cotran, R.S., Robbins S.L., 1992, *Temel Patoloji, Akut ve kronik inflamasyon*, 5. baskıdan çeviri, Nobel Kitabevi & Yüce Yayınları, İstanbul, 25-38 s. (A)
- 51)Kumar, V., Cotran, R.Z., Robbins, S.L., 2000, *Akut ve Kronik İnflamasyon, “Basic Pathology” U. Çevikbaş (Editör), Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti., Çapa-İstanbul, 25-46 s. (B)*

Kaynaklar (Devam Ediyor)

- 52) Kumazawa, S., Tamasaka, T., Nakayama, T., 2004, Antioxidant activity of propolis of various geographic origins, *Food Chemistry*, 84:329-339 p.
- 53) Kumova, U., Korkmaz A., Avcı, B.C., Ceyran, G., 2002, Önemli bir arı ürünü, propolis, *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 2, 2, 10-24 s.
- 54) Kurt, H., Başaran, A., Aral, E., 2005, Sıçanlarda karbon tetraklorit' in oluşturduğu oksidatif stresin lipoprotein ile önlenmesi, *Türkiye Klinikleri Journal of Medical science*, 25, 167-173 s,
- 55) Kutluca, S., 2003, Propolis üretim yöntemlerinin koloni performansı ve propolisin kimyasal özellikleri üzerine etkileri, *Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.*
- 56) Lodge, J.K., 2005, Vitamin E bioavailability in humans, *Journal of Plant Physiology*, 162, 790-796 p.
- 57) Marcucci, M.C., 1995, Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity, *Apidologie*; 26, 83-99 p.
- 58) Mehmetçik, G., Özdemirler, G., Koçak-Toker N., Çevikbaş, U., Uysal M., 2008, Effect of pretreatment with artichoke extract on carbon tetrachloride- induced liver injury and oxidative stress, *Experimental and Toxicologic Pathology*, 60, 475-480 p.
- 59) Mirzoeva, O.K., Calder, P.C., 1996, The effect of propolis and its components on eicosanoid production during the inflammatory response, *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 55(6): 441-449 p.
- 60) Mohamadin, A.M., Elberry, A.A., Elkablawy, M.A., Gawad, A., Al-Abbasi, F., 2011, Montelukast, a leukotriene receptor antagonist abrogates lipopolysaccharide-induced toxicity and oxidative stress in rat liver, *Pathophysiology* 18: 235–242 p.
- 61) Nakano, H., Yamaguchi, M., Kaneshiro, Y., Yoshida, K., Kigawa, G., Nagasaki, H., Fujiwara, Y., Matsumoto, F., Kitamura, N., Sasaki, J., Kuzume, M., Takeuchi, S., Kumada, K., 1998, S-Adenosyl-L-Methionine attenuates ischemia-reperfusion injury of steatotic livers, *Transplantation Proceedings*, 30, 3735-3736 p.
- 62) Nakbi, A., Wafa, T., Samia, D., Manel I., Grissa, A.K., Nabil A., Mohamed H., 2010, Dietary olive oil effect on antioxidant status and fatty acid profile in the erythrocyte of 2,4-Dexposed rats, *Lipids in Health and Disease*, 9, 89, 1-10 p.
- 63) Natarajkan, K., Singh, S., Burke, T.R., Grunberger, D., Aggarwal, B.B., 1996, Caffeic acid phenethyl ester is a potent and specific inhibitor of activation of nuclear transcription factor NF- κ B, *Proceedings of National Academy of Science of the United State of America*, 93: 9090-9095 p.

Kaynaklar (Devam Ediyor)

- 64)Neyzi, Ö., Ertuğrul, T., 2002, *Pediatric, Yenidoğan İnfeksiyonları*, 3. baskı, Cilt I, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, 431-440 s.
- 65)Nieva, M.I., Isla M.I., Sampietro, A.T., 2000, Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina, *Journal of Ethnopharmacology*, 71:109-114 p.
- 66)Nieva, M.I., Isla, M.I., Sampietro, A.T., 2001, Antioxidant activity of Argentine propolis extracts, *Journal of Ethnopharmacology* 76:165-170 p.
- 67)Orsolich, N., Horvat Knezevic, A. and Basic, I., 2002, Propolis as a new potential immunomodulator in mice: antimetastatic activity of a water-soluble derivative of propolis (WSDP). *Mellifera*, 2(3), 7-14 p.
- 68)Ozkul, Y., Silici, S., Eroğlu, E., 2005, The anticarcinogenic effect of propolis in human lymphocytes culture, *Phytomedicine*, 12:742-747 p.
- 69)Öğütürk, M., Çolakoğlu N., Kuş M.A., Kuş, İ., Sarsılmaz, M., 2009, Karbon tetraklorür ile oluşturulan deneysel akciğer hasarında kafeik asit fenetil esterinin koruyucu etkinliği, *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 23, 2, 57- 61 s.
- 70)Özan, F., 2006, Propolisin kırık iyileşmesi üzerine etkilerinin deneysel olarak incelenmesi, Doktora Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 83 s. (yayımlanmamış)
- 71)Özbaşıoğlu, O., 2009, Endotoksin ile oluşturulan inflamatuvar hiperalejide talidomidin etkilerinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Farmakoloji Anabilim Dalı, 98 s. (yayımlanmamış)
- 72)Öztürk, İ.Ç., Öztürk, F., Gül, M., Ateş, B., Çetin, A., 2009, Protective effects of ascorbic acid on hepatotoxicity and oxidative stress caused by carbon tetrachloride in the liver of Wistar rats, *Cell Biochemistry And Function*, 27, 309-315 p.
- 73)Pasanphan, W., Chirachanchai, S., 2008, Conjugation of gallic acid onto chitosan: An approach for green and water-based antioxidant, *Carbohydrate Polymers*, 72 , 169-177
- 74)Paulino N, Abreu SRL, Uto Y et al: Anti-inflammatory effects of a bioavailable compound, Artepillin C, in Brazilian propolis. *European Journal of Pharmacology* 587 296–301. 2008.
- 75)Ramos, A.F.N., Miranda, J.L., 2007, Propolis: A Review of its Anti-inflammatory and Healing Actions. *J. venom. Anim. Toxins incl. trop. Dis.* 13(4) 697-710 p.
- 76)Reynolds, B.; Stoakley, M.; Houghton, P. J.; Fearnley, J.; Krell, R.; 1998. Beeswax & Propolis for pleasure and profit, *International Bee Research Association*, 18 North Road, Cardiff CFI 3DY, 30 Pp.

Kaynaklar (Devam Ediyor)

- 77)Rikans, L.F., Hornbrook, K.R. and Cai, Y., 1994, Carbon tetrachloride hepatotoxicity as a function of age in female fischer 344 rats, *Mechanisms Of Ageing And Development*, 20,89-99 p.
- 78)Russo, A., Cardile V., Sanchez, F., Troncoso, N., Vanella, A., Garbarino, J.A., 2004, Chilean propolis: antioxidant acitivity and antiproliferative action in human tumor cell lines, *Life Sciences*, 76:545-558 p.
- 79)Russo, R., Longo, A.V., 2002, Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin, *Fitoterapia*, 73 Suppl. 1;21-29 p.
- 80)Sahinler, N., Kurt, Ş., Kaftanoğlu, O., 2003, Propolisin kireç hastalığı üzerine etkileri, *Uludağ Bee Journal* 37-39 s.
- 81)Scheller, S., Wilczok, T., Imielski, S., 1990, Free radical scavenging by ethanolic extract of propolis, *International Journal of Radiation Biology*, 57:461-465 p.
- 82)Sebai, H., Sani, M., Yacoubi, M.T., Aouani, E., Boughanmi., N., Ben-Attia, M., 2010, Resveratrol, a red wine polyphenol, attenuates lipopolysaccharide-induced oxidative stress in rat liver, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73: 1078–1083 p.
- 83)Seven, İ., Aksu, T., Seven, P., 2007, Propolis ve hayvan beslemede kullanımı, *YYÜ Vet. Fak. Derg.*, 18(2): 79-84 s.
- 84)Sforcin, J.M., 2007, Propolis and the immune system: a review, *J Ethnopharmacol*, 113(1): 1-14 p.
- 85)Tanas, S., 2007, Deneysel olarak enflamasyon oluşturulan ratlarda *peltigera rufescens* (weis) humb. isimli likenden elde edilen metanol ekstrelerinin antioksidant enzim aktiviteleri üzerine etkisi, *Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, 97 s. (yayımlanmamış)
- 86)Thomas, M.J., 1995, The role of free radicals and antioxidants: How do we know that they are working, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35,182, 21-39 p.
- 87)Tutkun, E., 2000, *Teknik Arıcılık El Kitabı, Türkiye Kalkınma Vakfı Yayın No, 6, Ankara, Pp, 235.*
- 88)Valle, M.L., 2000, Quantitative Determination of Antibacterial Capacities of Propolis, *Apiacta*, 35, 4, 152-61 p.
- 89)Van den Berg, R., Haenen, G.R., Van den Berg H, Bast, A., 2001, Transcription factor NF-kappaB as a potential biomarker for oxidative stres, *Br J Nutr*, 86, 121-127 p
- 90)Verma, A.K., Johnson, J.A., Gould, M.N., 1998, Inhibition of 7,12-demthylbenz (a) anthracene and N-nitrosomethylvera-induced rat mammary cancer by dietary flavonol quercetin, *Cancer Res.*, 48:5754-5758 p.

Kaynaklar (Devam Ediyor)

- 91) Volpert, R., Elstner, E., 1993, Biochemical activities of propolis extracts, II. Photodynamic Activities, *Z. Natuforsch*, 48c: 858-862 p.
- 92) Wojcicki, J., Amochowiec, L., Kadlubowska, D., Kownacka, A., 1987, Study on the antioxidant properties of pollen extracts. *Arch Immunol Ther. Exp.*, 35:725-729 p.
- 93) Xu, L., Gao, J., Wang, Y., Yu, W., Zhao, X., Yang, X., Zhong, Z., Zhong-Ming, Qian, 2011, Myrica rubra extracts protect the liver from CCl4-induced damage Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2011, 1-9 p.
- 94) Yazar, E., Er, A., Uney, K., Bulbul, A., Avcı, G.E., Elmas, M., Tras, B., 2010, Effects of drugs used in endotoxic shock on oxidative stress and organ damage markers. *Free Radic Res*, 44, 397-402 p.
- 95) Yılmaz, Z., 2006, Öğrenme ve Hafızanın Şekillendiği Beyin Bölgelerinde Alkolün Oluşturduğu Hasarlarda Propolisin Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, T.C İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- 96) Yoshihara, D., Fujiwara, N., Suzuki, K., 2010, Antioxidants: Benefits and risks for long-term health, *Maturitas*, 67, 103-107 p.
- 97) Zerin, M., Karakılçık, A.Z., Nazlıgül, Y., Bitiren, M., Özardalı H.İ. , Musa, D., 2004, Protective role of Nigella sativa oil on experimental liver injury in rats, *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Science*, 24,6, 598-602 p.
- 98) Lowe, V.J., Naunheim, K.S., 1998, Current role of positron emission tomography in thoracic oncology, *Thorax*, 53:703-712 p.

ÖZGEÇMİŞ

BİREYSEL BİLGİLER

ADI SOYADI BERAT YANGI
TC KİMLİK NO 18370041318
DOĞUM TARİHİ 28/03/1986
DOĞUM YERİ Polatlı/ANKARA
MEDENİ HALİ Bekar
YAZIŞMA ADRESİ Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı / Eskişehir
TEL 0312 267 13 10
GSM 0505 538 66 83
E-POSTA beratyangi@hotmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

2010 - Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans
2005 - 2009 Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü
2000 - 2004 Ankara Etimesgut Anadolu Lisesi Fen Bilimleri
1997 - 2000 Ankara Şahin İlköğretim Okulu

BİLİMSEL ETKİNLİKLER

Lisans Bitirme Tezi

Kızılırmak Havzası ve Kirletici Etmenler, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Lisans Bitirme Tezi, Haziran 2009.

Posterler

Effects of *Nigella sativa* L. on NO production and DNA fragmentation in acute inflammation. Özbayer C, Tekin N , Yangi B, Entok E, Akyüz F , Kurt H , Değirmenci İ , Güneş H V , Üstüner M C (Eskişehir, Turkey) **4. Uluslararası Hücre Zarları ve Oksidatif Stres Kongresi: Kalsiyum Sinyali ve TRP Kanalları**

The curative effects of *Olea europaea* L. leaf extract on carbon tetrachloride induced liver injury and the oxidative stress. MC Üstüner, E Çolak, N Tekin, D Üstüner, E Çolak, B Yangi, D Burukoğlu, C Özbayer, F Akyüz, HV Güneş, İ Değirmenci (Eskişehir, Turkey) **4. Uluslararası Hücre Zarları ve Oksidatif Stres Kongresi: Kalsiyum Sinyali ve TRP Kanalları**

Katılınan Kurslar ve Eğitim Programları

Katılım Sertifikası 4. Uluslararası Hücre Zarları ve Oksidatif Stres Kongresi: Kalsiyum Sinyali ve TRP Kanalları, 26-29 Haziran 2012

Katılım Sertifikası Kök Hücre ve Gen Tedavisi Sempozyumu, 27 Şubat 2012

Katılım Sertifikası 12. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi ve Kursu, 26-30 Ekim 2011

Katılım Sertifikası Türkiye Bilimler Akademisi (TÜBA) II. Kök Hücre Kursu ve VI. Kök Hücre Sempozyumu 24-25 Haziran 2011

Katılım Sertifikası Hacettepe Üniversitesi & Ekolojik Araştırma Derneği 07.06.2010 - 10.09.2010 Nesli tehlike altında olan deniz kaplumbağalarını kurtarma ve araştırma projesi.

9. Kuş Gözlem Okulu Kuş Araştırmaları Derneği & Gazi Üniversitesi - 08.03.2009

Katılım Sertifikası Hacettepe Üniversitesi & Ekolojik Araştırma Derneği 15.06.2008 - 15.08.2008 Nesli tehlike altında olan deniz kaplumbağalarını kurtarma ve araştırma projesi.

Doğa Eğitim Sertifikası TÜBİTAK - 27.02.2008 Isparta Korunan Doğal Alanlarında Doğa Eğitimi Projesi

Katılım Sertifikası Hacettepe Üniversitesi & Ekolojik Araştırma Derneği 01.08.2007 - 10.09.2007 Nesli tehlike altında olan deniz kaplumbağalarını kurtarma ve araştırma projesi.

DeneySEL Hayvan Çalışmaları Temel Eğitim Kursu TICAM (TIBBİ-CERRAHİ DENEYSEL ARAŞTIRMA MERKEZİ) Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi - 11.05.2007