



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**ETANOLLÜ TÜRK PROPOLİS
EKSTRAKTININ t-BHP İLE UYARILMIŞ
OKSİDATİF HASARA KARŞI KORUYUCU
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Pınar AYGÜN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Orhan DEĞER

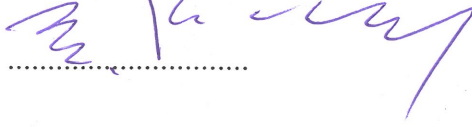
TRABZON – 2018

ONAY

Bu Tez Yüksek Lisans Tezi Standartlarına Uygun Bulunmuştur

Prof. Dr. Süleyman Caner KARAHAN

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı



Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Pınar AYGÜN' ün hazırladığı “**Etanollü Türk Propolis Ekstraktının t-BHP ile Uyarılmış Oksidatif Hasara Karşı Koruyucu Etkisinin İncelenmesi**” başlıklı tez KTÜ Lisansüstü Eğitim -Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

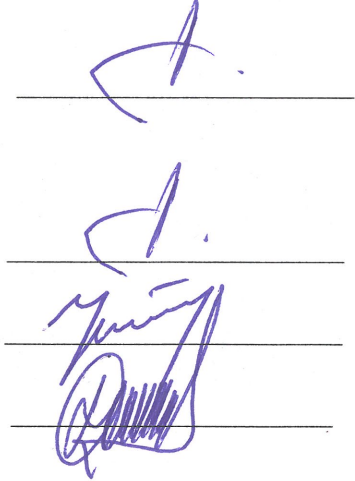
Danışman Prof. Dr. Orhan DEĞER

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Orhan DEĞER

Prof. Dr. Yüksel ALİYAZICIOĞLU

Doç. Dr. Hüseyin Avni UYDU



Tarih:/....../201...

Bu tez KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/....../.... tarih ve ... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....

Prof. Dr. Ersan KALAY

BEYAN

Bu tez çalışmasının Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzu standartlarına uygun olarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

07/06/2018

Pınar AYGÜN

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresinde bilimsel, akademik ve insani yönden daima örnek aldığım, tez çalışmamın gerçekleşmesinde bilgi ve tecrübeleriyle bana her zaman yardımcı olan danışman hocam sayın Prof. Dr. Orhan DEĞER'e

Yüksek lisans eğitim hayatı boyunca gelişimimde çok büyük katkı ve emekleri olan değerli hocalarım; Prof. Dr. Asım ÖREM, Prof. Dr. Süleyman Caner KARAHAN, Prof. Dr. Yüksel ALİYAZICIOĞLU, Prof. Dr. Ahmet ALVER, Prof. Dr. Birgül VANİZOR KURAL, Doç. Dr. Ahmet MENTEŞE ve Yrd. Doç. Dr. Fulya BALABAN YÜCESAN'a

Yüksek lisans eğitimimde manevi desteği ve tecrübelerini esirgemeyen ve bana yardımcı olan Prof. Dr. E. Edip KEHA'a

Tez çalışmamda bana bilimsel ve akademik tecrübelerini esirgemeyen ve yardımcı olan K.T.Ü Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Selim DEMİR'e

Çalışmamı gerçekleştirirken bana yardımcı olan Arş. Gör. Kübra AKBULUT ÇAKIROĞLU, Arş. Gör. Serap ÖZER YAMAN, Dr. Akın BODUR, Ali ASGHARİ, Dr. İmran İNCE başta olmak üzere tüm lisansüstü arkadaşlarıma

Çok saygı duyduğum ve sevdiğim, her zaman her konuda beni doğru yönlendiren, sevgisini ve desteğini benden hiçbir zaman eksik etmeyen, manevi olarak kendime güvenmemi ve huzurlu hissetmemi sağlayan değerli dayım Av. Alişan TİRYAKİ'e ve her konuda bana yardımcı olan ve desteğini esirgemeyen K.T.Ü Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Celal TEKİNBAŞ'a

Her zaman yanımda olan ve beni destekleyen her anlamda her daim hayata karşı beni cesaretlendiren başta aileme ve tüm sevdiğim yanımda olan değerli insanlara sonsuz teşekkür ederim.

Pınar AYGÜN

Bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'nin 6804 nolu projesi tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ONAY

BEYAN

TEŞEKKÜR

TABLolar DİZİNİ

vi

ŞEKİLLER DİZİNİ

vii

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

viii

1. ÖZET

1

2. SUMMARY

2

3. GİRİŞ ve AMAÇ

3

4. GENEL BİLGİLER

5

4.1. Propolis

5

4.1.1. Propolisin Fiziksel Özellikleri

5

4.1.2. Propolisin Kimyasal Özellikleri ve İçeriği

6

4.1.2.1. Flavonoidler

7

4.1.2.2. Arı Mumu ve Yağ Asitleri

9

4.1.2.3. Esansiyel Yağlar

9

4.1.2.4. Mineral Elementler

10

4.1.3. Propolisin Biyolojik Özellikleri

10

4.2. Serbest Radikaller ve Antioksidan Sistem

10

4.2.1. Serbest Radikallerin Genel Reaksiyonları

11

4.2.2. Serbest Radikallerin Oluşum Nedenleri

12

4.2.3. Serbest Radikal Türleri

13

4.2.3.1. Süperoksit Radikali

13

4.2.3.2. Hidrojen Peroksit

13

4.2.3.3. Hidroksil Radikali

13

4.2.3.4. Tersiyer Bütil Hidroperoksit (t-BHP)

14

4.2.4. Serbest Radikallerin Etkileri

15

4.3. Oksidatif Stres

15

4.3.1. Antioksidan Savunma Sistemi

16

4.3.2. Enzimatik Antioksidanlar

17

4.3.2.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

17

4.3.2.2 Katalaz (CAT)	18
4.3.2.3. Glutasyon Peroksidaz	18
5. GEREÇ ve YÖNTEM	20
5.1. Gereç	20
5.1.1. Kullanılan Cihazlar, Alet ve Malzemeler	20
5.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler	20
5.2. Yöntem	21
5.2.1. Etanollü Propolis Ekstraktının Hazırlanması	21
5.2.2. Eritrosit Hücre İzolasyonu	22
5.2.3. Tersiyer Butil Hidroperoksit (t-BHP) Hazırlanması	22
5.2.4. Kuersetin Hazırlanması	22
5.2.5. Eritrosit Hücresi İçin Uygun t-BHP Konsantrasyonunun Belirlenmesi	22
5.2.6. t-BHP Kaynaklı Eritrosit Hücre Hasarını Önleyecek Propolis Konsantrasyonunun Belirlenmesi	23
5.2.7. Deneyde Kullanılacak Kuersetin Konsantrasyonunun Belirlenmesi	23
5.2.8. Deney Grupları	23
5.2.9. Eritrosit Süperoksit Dismutaz Aktivitesi Tayini	24
5.2.10. Eritrosit Katalaz Aktivitesi Tayini	26
5.2.11. Eritrosit MDA Seviyesinin Belirlenmesi	27
5.2.12. Eritrosit TOK Seviyesinin Belirlenmesi	28
5.2.13. Eritrosit TAK Seviyesinin Belirlenmesi	29
5.3. İstatiksel Yöntem	29
6. BULGULAR	30
6.1. Eritrosit MDA Seviyeleri	30
6.2. Eritrosit Toplam Oksidan Kapasite (TOK) Seviyesi	30
6.3. Eritrosit Toplam Antioksidan Kapasite (TAK) Seviyesi	31
6.4. Eritrosit Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi	32
6.4. Eritrosit Katalaz (CAT) Aktivitesi	33
7. TARTIŞMA	35
8. KAYNAKLAR	43
9. EKLER	52
10. ETİK KURUL ONAYI	54
11. ÖZGEÇMİŞ	55

TABLÖLAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 1. Propoliste Bulunan Başlıca Bileşenler	7
Tablo 2. Biyolojik Önemi Olan Reaktif Oksijen Türleri	12
Tablo 3. Ana Antioksidanların Sınıflandırılması	17
Tablo 4. Çalışmada Kullanılan Cihazların ve Laboratuvar Malzemelerinin Özellikleri	20
Tablo 5. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler	21
Tablo 6. Deney Grupları	23
Tablo 7. SOD Aktivitesi Ölçümü	25
Tablo 8. Katalaz Aktivitesi Ölçümü ve Yapılan İşlemler	27
Tablo 9. Eritrosit MDA Ölçümü ve Yapılan İşlemler	28
Tablo 10. Eritrosit MDA Sonuçları	30
Tablo 11. Eritrosit TOK Seviyeleri	31
Tablo 12. Eritrosit TAK Seviyeleri	31
Tablo 13. Eritrosit SOD Aktivitesi	32
Tablo 14. CAT Enzim Aktivitesi	33

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1. Topak Haline Getirilmiş Propolis Örnekleri	6
Şekil 2. Flavonoidlerin Genel Yapısı	7
Şekil 3. Propoliste Bulunan Bazı Önemli Kimyasalların Sınıflandırılması	9
Şekil 4. t-BHP'nin açık kimyasal formülü	15
Şekil 5. Standart SOD Aktivitesi ve % İnhibisyon Grafiği	25
Şekil 6. Log (Standart SOD Aktivitesi) ve % İnhibisyon Grafiği	26
Şekil 7. MDA Standart Absorbans Grafiği	28
Şekil 8. Eritrosit MDA sonuçları	30
Şekil 9. Eritrosit TOK seviyeleri	31
Şekil 10. Eritrosit TAK Seviyeleri	32
Şekil 11. Eritrosit SOD aktiviteleri	33
Şekil 12. Eritrosit CAT Aktiviteleri	34

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

ATP	Adenozintrifosfat
AAPH	2,2'-azobis (2-aminopropan)
BC	Meme Kanseri
CAT	Katalaz
CPF	Klorpirifos
DMSO	Dimetil Sülfoksit
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
ETS	Elektron Transport Zinciri
GPx	Glutasyon Peroksidaz
GSH	Glutasyon
GSSG	Okside Glutasyon
Hb	Hemoglobin
Hct	Hematokrit
MDA	Malondialdehit
NBT	Nitroblue Tetrazolium
PBS	Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltilisi
PCB	Poliklorlu Bifenil
RNA	Ribonükleik Asit
RNS	Reaktif Nitrojen Türleri
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksit Dismutaz
STZ	Streptozotosin
TAA	Tiyoasetamid
TAK	Toplam Antioksidan Kapasite
TBA	Tiyobarbitürük Asit
TBARS	Tiyobarbitürük Asit ve Reaktif Maddeler
t-BHP	Tersiyer Bütil Hidroperoksit
TCA	Trikloro Asetikasit
TOK	Toplam Oksidan Kapasite

Simgeler

α	Alfa
μ	Mikro
g	RCF (Rölatif Santrifüj Gücü)

Formüller

CuCl_2	Bakır (II) Klorür
COOH	Karboksil
H_2O_2	Hidrojen Peroksit
KH_2PO_4	Potasyum Dihidrojen Fosfat
Na_2CO_3	Sodyum Karbonat
Na_2HPO_4	Disodyum Hidrojen Fosfat
NaHCO_3	Sodyum Bikarbonat
NaOH	Sodyum Hidroksit

1. ÖZET

Etanollü Türk Propolis Ekstraktının t-BHP ile Uyarılmış Oksidatif Hasara Karşı Koruyucu Etkisinin İncelenmesi

Propolis bal arıları tarafından değişik bitkilerden toplanarak üretilen yapışkan reçinemsî bir maddedir. Propolisin etkisi arıların bitkilerden topladığı antioksidan etkili bileşenlerine bağlıdır. Propolis içeriğinin önemli bir bölümünü flavonoidler, fenolik bileşikler ve esansiyel yağlar oluşturmaktadır. Fenolik bileşikler antioksidan özellikler göstermektedir. Polifenoller indirgeyici ajan olma, metal şelatlama ve serbest radikal süpürücü özellik gösterir. Araştırmalar sonucu eritrosit membranlarının dış yüzeyinde bulunan proteinler serbest radikaller için kolay hedefdir. Ayrıca eritrosit eldesinin kolay olması ve çalışmalarda hücre model olarak kullanılmasından dolayı oksidatif hasar vermek için etkin bir modeldir. Organik bir hidroperoksit olan t-BHP, oksidatif hücre hasarı mekanizmalarını kapsayan çalışmalarda sıklıkla kullanılan bir bileşiktir. Bu çalışmadaki amaç etanollü propolis ekstraktının hasarlanmış eritrosit hücre modellerini kullanarak koruma kapasitesini araştırmaktır. Sağlıklı bireylerden etik kurul onayı ile alınan kanlardan eritrosit hücreleri izole edildi. Elde edilen eritrosit paketi kontrol, etanollü Türk propolis ekstraktı, pozitif kontrol (kuersetin) ve negatif kontrol (t-BHP) olarak dört gruba ayrıldı. Eritrosit paketlerine öncelikle ekstrakt muamelesi ve ardından t-BHP muamelesi uygulandı. Daha sonra negatif kontrolde oluşacak hasara karşı etanollü Türk propolisinin koruyucu etkilerini görmek için malondialdehit (MDA), toplam antioksidan kapasite (TAK), toplam oksidan kapasite (TOK), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) enzim aktiviteleri çalışıldı. Etanollü Türk propolis grubunda MDA ve SOD değerleri negatif kontrole göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Etanollü Türk propolis grubunda TAK ölçümleri, negatif kontrole göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Bu çalışmada ilk olarak etanollü Türk propolis ekstraktının t-BHP tarafından indüklenen eritrosit hücrelerinde in vitro koşullarda oluşan oksidatif hasara karşı koruyucu etkisinin olduğunu gözlemledik. Bu çalışmanın gelecekte yapılacak in vitro ve in vivo deneylerde yol gösterici olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, Eritrosit, Oksidatif Stres, Propolis, t-BHP

2. SUMMARY

Investigation of Protective Effects of Ethanolic Extract of Turkish Propolis Against Oxidative Damage Induced by t-BHP

Propolis is an adhesive resinous matter produced by bees picking from various plants. Major parts of propolis contain flavonoids, phenolic compounds and essential oils. Phenolic compounds exhibit antioxidant properties. Polyphenols have reductive agent property, metal chelating and free radical scavenging properties. The proteins on the outer surface of the resultant erythrocyte membranes are easy to target by free radicals. It is also an efficient model for the oxidative damage due to the ease of erythrocyte elution and its use as a cell model in studies. Tertiary butylated hydroperoxide (t-BHP) is a substance used in studies on mechanism of oxidative cell damage. The aim of this study is to investigate the protective capacity of ethanolic propolis extract using damaged erythrocyte cell models. Erythrocyte cells were isolated from blood taken by healthy ethics committee approval. The obtained erythrocyte package was divided into four groups as control, ethanol extracted Turkish propolis extract, positive control (quercetin) and negative control (t-BHP). Erythrocyte packages were first treated with extract and then with t-BHP treatment. Malondialdehyde (MDA), total antioxidant capacity (TAC), total oxidant capacity (TOC), superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) enzyme activities were evaluated to determine the protective effects of the ethanolic Turkish propolis against the negative control. MDA and SOD values were significantly lower in the ethanolic Turkish propolis extract group than the negative control group ($p<0.05$). In the ethanol extracted Turkish propolis group, TAC measurements were significantly higher than the negative control ($p<0.05$). In this study, we first observed that the ethanolic Turkish propolis extract was protective against oxidative damage caused by in vitro conditions in t-BHP-induced erythrocyte cells. It is thought that this work will guide future in vitro and in vivo experiments.

Key Words: Antioxidants, Erythrocyte, Oxidative Stress, Propolis, t-BHP

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Çağlar boyunca insanlar hastalıklarının tedavisi için ilaçlara değil doğaya güvenmişlerdir. Farklı kültürlerde sağlık bakımında bitki tabanlı sistemlerin önemli rol oynadığı belgelendirilmiştir (1).

Eski zamanlardan beri geleneksel alternatif tıpta bal arıları veya arı ürünleri (örneğin; arı zehiri ve propolis) ağrıyı hafifletmek veya iltihabı tedavi etmek için kullanılmıştır. Geçmişte bazı hastalıkların iyileştirilmesi için propolisi ilaç olarak eski Mısırlılar, Romalılar ve Yunanlılar kullanmıştır. Propolis bal mumu benzeri reçineli bir maddedir. Bal arıları tarafından çimento olarak kovanın açık ve çatlak yerlerini kapatmada kullanılır. Yüksek sıcaklıklarda yumuşak esnek ve çok yapışkan soğutulduğunda ise sert ve kırılğan hale gelir (2).

Propolisin antibakteriyel, antifungal, antiviral, anti-inflamatuvar, antioksidan, anti tümör, antiprotektif çok yönlü farmakolojik faaliyetleri kanıtlanmıştır. Propoliste yaklaşık 300 bileşik tespit edilmiştir. Bu bileşikler arasında fenolik asitler, flavonoidler, terpenler, balmumu, amino asitler ve şekerler gibi temel grupları içerir (3, 4).

Hayatımızı devam ettirmek için oksijen vazgeçilmez temel bir elementtir. Hücreler oksijen kullanarak mitokondriden ATP elde ederler ve bunun sonucunda serbest radikaller oluşabilir. Serbest radikaller, atomik veya moleküler orbitaller de bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içeren moleküller veya moleküler fragmanlar olarak bilinir. Serbest radikaller eşleşmemiş elektronlar bulundurdıklarından dolayı diğer moleküllerle reaksiyon verebilmektedir. Serbest radikallerin biyolojik sistemde oluşma süreci oksijene dayalı olmaktadır. Ortamda hasarlı ve yaşlı hücrelerin fazlalığı serbest radikal üretimini artırır. Oluşan serbest radikallere, hücresel redoks işleminden kaynaklanarak oluşan reaktif oksijen türleri (ROS) örnek verilebilir (5-8).

ROS etki mekanizmalarına bakıldığında hücrelerin protein, DNA, karbohidratlar, lipidler, enzimler ve diğer molekül grupları ile etkileşime girerek metabolizmalarını etkilemektedir. Organizmada oluşan serbest radikaller endojen ve eksojen kaynaklar tarafından oluşturulmaktadır. Prokaryotik ve ökaryotik hücrelerde oluşan serbest radikaller hücresel ve doku hasarlanmasına neden olabilirler. Oluşan serbest radikaller enzimatik ve non-enzimatik olarak savunma sistemi oluşturur. Enzimatik savunma

sistemine örnek olarak süperoksid dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) verilebilir. Non-enzimatik savunma sistemine ise başlıca glutatyon, tiyoller, vitamin C ve vitamin E örnek verilebilir (7, 9, 10).

Oksidatif hücre hasarı oluşturmak için organik bir hidroperoksit olan tersiyer bütıl hidroperoksit (t-BHP) yaygın olarak çalışmalarda kullanılmaktadır. t-BHP, serbest radikal ara ürünlerine metabolize edilebilen organik bir hidroperoksitandır. t-BHP hücresel moleküllerle kovalent bağlar oluşturabilen, hücre bütünlüğünü etkileyen aynı zamanda lipid peroksidasyonunu başlatabilen bir bileşiktir (11, 12).

Eritrositlerde oluşan ROS'un zararlarını durdurmak veya azaltmak için enzimatik ve enzimatik olmayan etkin bir antioksidan sisteme sahiptir. Bu enzimatik sistem oluşan serbest radikalleri temizleyemediğinde oluşan aşırı ROS/RNS proteinleri, lipidleri ve nükleik asitleri tahrip eder. Eritrosit membranlarının dışı fosfatidler proteinleri açısından zengindir. Serbest radikaller sonucu oluşan MDA için dış membrandaki başlıca proteinler kolay bir hedeftir. Artan MDA seviyesi, hücre zarı polaritesinde değişiklikler, lipid fazı yüzeyinde yük paylaşımı ve oligomer oluşumuyla sonuçlanır. Eritrosit içerisindeki enzimatik sistem ve oksidatif stres arasındaki değişim birçok özel patolojik durumlarla ilişkilidir. Bundan dolayı kolay elde edilebilme ve çalışmamıza uygun olması sebebiyle eritrositler çalışmamızda kullanılmıştır (13).

Yapılan literatür araştırmalarında 2,2'-azobis (2-aminopropan) hidroklorür (AAPH) tarafından indüklenen insan eritrositlerinde oksidatif hasar sonucu etanolü propolis ekstraktı kullanarak in vitro etkinliğini değerlendiren tek çalışma Bonamigo arkadaşları tarafından çalışılmıştır (14).

Aynı zamanda in vitro koşullarda Valente ve arkadaşları metanolü propolis ekstraktı kullanarak insan eritrositlerinde lipid peroksidasyonuna karşı vermiş olduğu etkileri incelemiştir (15).

Bu çalışmadaki ana amaç etanolü Türk propolis ekstraktının eritrosit hücreleri üzerinde oluşan oksidatif hasara karşı koruma kapasitesinin değerlendirilmesidir.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Propolis

Günümüzde kullanılan sentetik ilaçların yan etkilerinin ortaya çıkması ve hastalık etmenlerinin bu ilaçlara direnç geliştirmesi insanları doğal ilaç olarak bilinen ürünlerin tüketimine yöneltmiştir. En yaygın olarak kullanılan doğal ürünler arasında arı ürünleri yer almaktadır. Arı ürünleri birçok hastalıkta, hastalığın ilerlemesinin önüne geçmek, ağrıların azaltılması ve hastalığın ilerlemesinin önüne geçmek, ağrıların azaltılması ve hastalığın tedavisi gibi birçok amaçla kullanılmaktadır. Apiterapide tedavi amacıyla arı ürünleri kullanılmaktadır (16).

Propolis, bal, balmumu ve bitki reçineleri gibi mum ve botanik malzemelerin karıştırılması sonucunda bal arıları tarafından üretilir. Arılar için propolis koruyucu bir role sahiptir. Kovanda bulunan küçük delikleri ve çatlakları kapatır ve bu da mikroorganizmaların, böceklerin ve olumsuz hava koşullarının kovana zarar vermesini engeller (17).

Propolis farklı çeşitli ağaçların yaprak tomurcuklarından üretilen kimyasalların bir karışımı olarak düşünülebilir. Propolisin bileşenleri toplanma zamanına ve bitki materyallerinin bileşenlerine bağlıdır. Genellikle flavonoid ve fenolik asitlerden oluşan reçineler (% 50), mumlar (% 30'dan fazla), esanslar (% 10), polen (% 5) ve çeşitli bileşenler (% 5) bulunmaktadır. Çeşitli bileşenlere örnek olarak; Fe, Zn, benzoik asit, yağ asitleri, ketonlar, laktonlar, kinonlar şekerler, doğal pigmentler (klorofil ve karotenoidler) ve yanı sıra vitaminleri (B1, B2, B3 ve B6) içermektedir (18, 19).

Propolisin antiseptik, antimikotik, antiprotozan, antiviral, antiinflamatuvar spazmolitik ve immün sistemi uyarıcı aktiviteler gibi birçok tıbbi özelliğe sahip olduğu bulunmuştur (20).

Propolisin içeriğini oluşturan bitkiler at kestanesi (*Aesculus hippocastanum*), kavak (*Populus spp.*), huş (*Betula alba*), kestane (*Castanea sativa*), kayın (*Fagus sylvatica*), akçaağaç (*Alnus glutinosa*) ve çeşitli bitkilerdir (21).

4.1.1. Propolisin Fiziksel Özellikleri

Propolis sert ve kırılgan bir yapıya sahip olmasına rağmen ısıtıldığında yumuşak, esnek ve yapışkan bir hal alır. Genel olarak propolis maddesi 60-70 derecede sıvı hale

gelmektedir ancak bazı propolis numuneleri için bu rakam 100 dereceye ulaşabilmektedir (2, 22).

Propolis su ve hidrokarbon çözücülerde düşük, alkollerde ise yüksek oranda çözünürlük gösterir. Kovandan toplanarak toprak haline getirilmiş propolis örnekleri Şekil 1’de gösterilmiştir (23, 24).



Şekil 1. Toprak Haline Getirilmiş Propolis Örnekleri (Turan’dan, 24)

4.1.2. Propolisin Kimyasal Özellikleri ve İçeriği

Propolis farklı renklere sahiptir. Örneğin sarı yeşilimsiden koyu kırmızı ve kahverengi gibi renklerde olabilmektedir. Propolisin sahip olduğu renk ve fiziksel özellikler propolisin toplandığı kaynağa bağlıdır. İklim, su durumu, çevresel faktörler, bölgeden bölgeye farklılık gösteren farklı bitkisel kaynaklardan elde edilen reçine ve bitki eksudaları buna sebep olmaktadır. Ham propolisin bileşimi kaynağına göre değişmekle birlikte, genellikle % 50 reçine, % 30 mum, % 10 esansiyel ve aromatik yağlar, % 5 polen ve % 5 diğer organik maddelerden oluşmaktadır (25- 27).

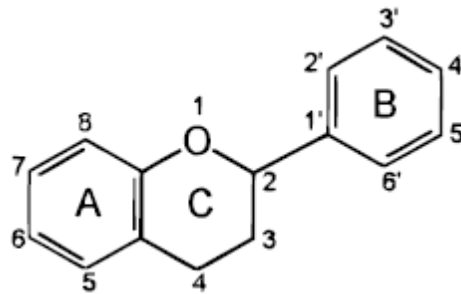
Propolis içerisinde birçok element, yağ asidi, enzim ve vitamin içermektedir. B1, B2, B6, C ve E vitaminlerini içermektedir aynı zamanda içerisinde süksinat dehidrogenaz, glukoz-6-fosfataz, asit fosfataz ve adenosin trifosfataz enzimleri içermektedir. İçerisinde bulunan elementler ise; Magnezyum (Mg), kalsiyum (Ca), iyot (I), sodyum (Na), potasyum (K), bakır (Cu), çinko (Zn) mangan (Mn) ve demir (Fe)'dir (28).

Tablo 1. Propoliste Bulunan Başlıca Bileşenler (Demir'den, 16)

Bileşenler	Ana Maddeler	Miktar
Reçine	Flavonoidler	% 45-55
	Terpenler	
	Fenolik asitler ve esterler	
Mum ve yağ asitleri	Arılardan veya bitkilerden mum,	% 25-35
	Bitkilerden çoklu doymamış yağ asitleri	
Esansiyel yağlar	Uçucu bileşenler	% 10
Polen	Eser elementler	%5
	Serbest aminoasitler	
Diğer maddeler	Laktonlar	% 5
	Steroidler	
	Şekerler	
	Kinonlar	

4.1.2.1. Flavonoidler

Flavonoidler; meyvelerde, sebzelerde, çay, şarap, meyve suyu gibi içeceklerde doğal olarak bulunan polifenolik bileşiklerdir. Bitkilerde flavonoidler aromatik aminoasitler, fenilalanin, tirozin ve malonattan içeren bitkilerde bulunur (29, 30). Flavonoidlerin genel yapısı Şekil 2'de gösterilmiştir.



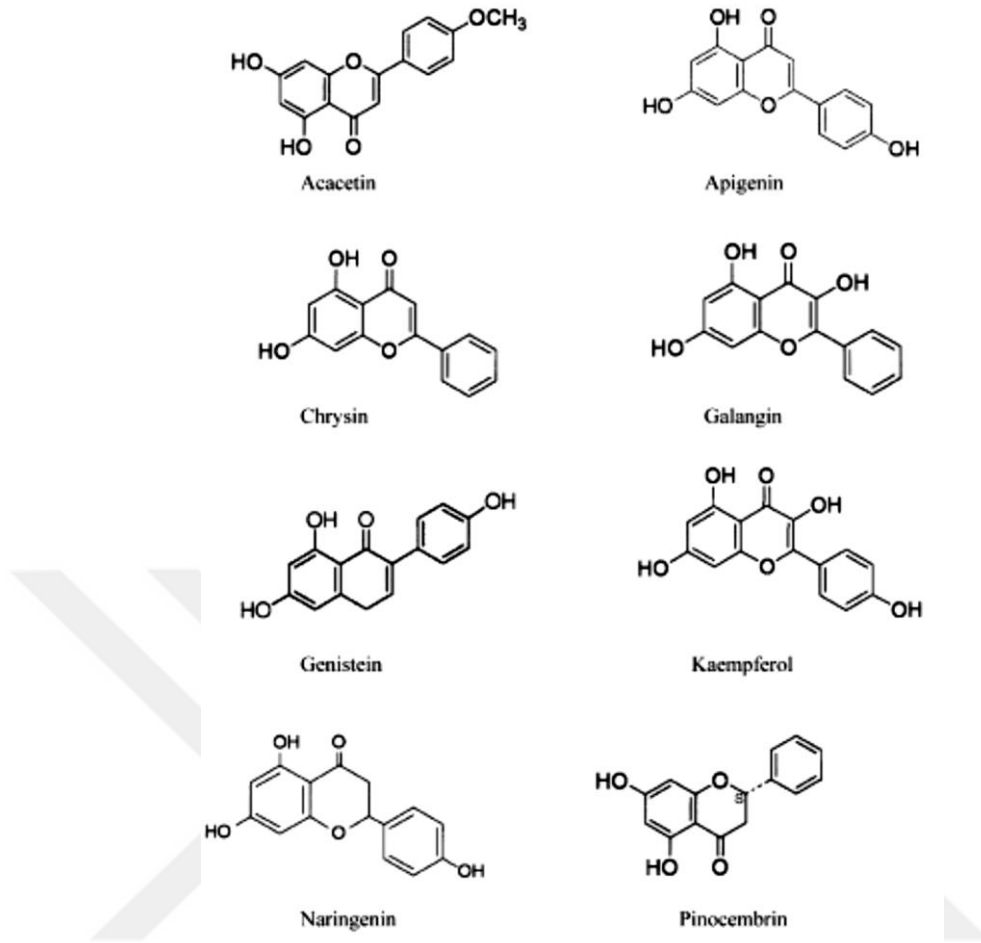
Şekil 2. Flavonoidlerin Genel Yapısı (Pietta'dan, 30)

Flavonoidler biyosentetik olarak fenilalaninden türetilen ve bitkilerde yaygın olarak bulunan pigmentlerdir. Bitkilerde 4000'den fazla flavonoid tespit edilmiştir ve sayıları gitgide artmaktadır (31).

Flavonoidler merkezindeki piran halkasının oksidasyon durumuna bağlı olarak flavonoller, flavonlar, flavanonlar, izoflavonlar, antosiyanidinler ve flavanoller (kateşinler ve proantosiyanidinler) olarak 6 alt sınıfa ayrılırlar (32).

Propolis örneklerinden izole edilen en büyük bileşik grubunu flavonoidler temsil etmektedir. Günümüze kadar propolisten 38'den fazla flavonoid izole edilmiştir. Bunlara örnek olarak galangin, kaempferol, kuersetin, pinosembrin, pinostobin ve pinobanksin gösterilebilir. İçerdiği bazı fenolik gruplara örnek olarak sinnamil alkol, sinnamik asit, vanilin, benzil alkol, benzoik asit, kafeik asit ve ferulik asitleri içerir (33, 34).

Propoliste bulunan bazı önemli flavonoidlerin kimyasal yapısı Şekil 3'te gösterilmiştir (35).



Şekil 3. Propoliste Bulunan Bazı Önemli Kimyasalların Sınıflandırılması (Valpi'den, 35)

Flavonoidler antiproliferatif, antikarsinojenik, antibakteriyel, antiinflamatuvar, antialerjik, antiviral, metal şelatlama ve antioksidan aktiviteye sahiptir (31).

4.1.2.2. Arı Mumu ve Yağ Asitleri

Propoliste bulunan arı mumu ve yağ asitleri propolisin yaklaşık % 30'unu oluşturur. Arı mumu başlıca mono esterler, diesterler, uzun zincirli hidrokarbonlar, hidroksiesterler, poliestерler, uzun zincirli yağ asitleri, triesterler ve asit esterlerinden oluşur (36).

4.1.2.3. Esansiyel Yağlar

Propolisteki uçucu bileşenler propolisin yaklaşık % 10'nunu oluşturmaktadır. Ancak Schmidh ve arkadaşlarına göre propoliste bulunan uçucu yağlar, terpenler ve arı

mumu propolisin etkisini ve kimyasal özelliklerini anlamlı bir şekilde etkilememektedir (36).

4.1.2.4. Mineral Elementler

Propolis mineral elementleri üzerine yapılan çalışmalarda, Makedonya örneklerinde; Ca, Mg, K, Na, Fe ve Zn; Küba örneklerinde ise Fe, Mn, Zn, Cu elementleri belirlenmiştir (37).

4.1.3. Propolisin Biyolojik Özellikleri

Propolis, antimikrobiyal, antifungal, antioksidan, antiinflamatuvar, antitümör, radyoprotektif ve antiülser ve yara iyileştirici özelliklere sahiptir. Propolis ayrıca bağışıklık sistemini düzenleyici özellikler göstermektedir. Antikor üretimini uyararak makrofaj ve monosit gibi doğuştan gelen bağışıklıkta bulunan hücrelere ve doğal öldürücü hücrelere etki ederler (38, 39).

Propolis, geleneksel olarak insanlar tarafından tedavi amacıyla kullanılan doğal bir üründür. Propolis arı çeşitleri, toplanma bölgeleri, iklim ve bitki kaynağının farklı olması sebebiyle farklı bir kimyasal içeriğe sahiptir. Bu sebeple propolis içeriğini kimyasal bileşiğe göre standardize etmek zordur (40).

Geleneksel bir ilaç olan propolis, binlerce yıldır antiinflamatuvar ve antioksidan bir ilaç olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (41).

4.2. Serbest Radikaller ve Antioksidan Sistem

Serbest radikaller, atomik veya moleküler orbitallerde bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron içeren moleküller veya moleküler fragmanlar olarak tanımlanabilir. Eşleşmeyen bu elektron ve elektronlar, genellikle serbest radikal için önemli miktarda reaktivite verir. Oksijenden türetilen radikaller, canlı sistemlerde üretilen radikal türlerin en önemli sınıfını temsil eder (6).

Serbest radikaller (çoğunlukla oksijene bağlı radikaller), canlı organizmada yaygın olarak bulunurlar ve homeostazı sağladığı bilinmektedir. Serbest radikaller normalde hücre metabolizmasında pozitif roller oynamaktadır. Serbest radikaller aşırı üretildiğinde DNA, protein ve lipidlerle reaksiyona girerek hücre bozulmasına neden olmaktadır (42).

Oksijen aerobik organizmalar için önemli ve gereklidir. Ancak oksijen bazı durumlarda hücreleri oksidatif hasara uğratar. Bu hasarlar, nörodejeneratif, kardiyovasküler, kanser gibi sayısız rahatsızlığa yol açar (43).

Normal metabolik süreçlerin bir parçası olarak ROS üretilir. Metabolizma sırasında üretilen ROS, hidrojen peroksit, süperoksit anyon, singlet oksijen ve hidroksil radikalleridir. Oksidatif stres, vücuttaki serbest radikaller ile antioksidanlar arasındaki dengesizlik sonucudur. Bu dengesizlik uzun süre oluşursa, hücrelere, makromoleküllere, dokulara, organlara ve vücuda bir bütün olarak zarar verir (44).

Oksidanlardan, hücrelerden veya organizmalardan kaynaklanan hasarlara karşı savunma sistemi olarak antioksidanlar kullanılır. Antioksidan, elektron veya hidrojen atomları vererek oksidanların neden olduğu oksidatif hasarı bloke edebilen veya geciktiren ve böylece zincir reaksiyonlarını durdurabilen herhangi bir bileşiğe verilen isimdir. Endojen olarak, serbest radikal oluşumu önlenabilir ve ayrıca hücrelerde bulunan glutatyon peroksidaz, katalaz ve süperoksit dismutaz enzimleri gibi antioksidan enzimler tarafından nötralize edilebilir (45).

4.2.1. Serbest Radikallerin Genel Reaksiyonları

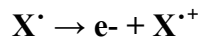
Serbest radikaller, diğer moleküllerle çeşitli yollarla reaksiyona girerler.

1. İki serbest radikal karşılaştıklarında, her ikisinin de ortaklanmamış elektronları bir kovalent bağ oluşturacak şekilde birleşirler ve radikal özelliklerini kaybederler (46).

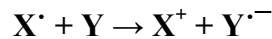


2. Bir serbest radikal, radikal olmayan bir bileşikle reaksiyona girdiğinde yeni bir radikal oluşur:

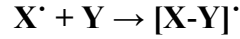
► Radikal, ortaklanmamış elektronunu eşlemek üzere radikal olmayan başka bir bileşikten elektron alabilir (okside edici radikal).



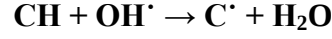
► Radikal, ortaklanmamış elektronunu radikal olmayan bir bileşiğe verebilir (redükte edici radikal).



- Radikal, radikal olmayan bir bileşiğe katılabilir.



- Radikal, C-H bağından bir hidrojen atomu koparabilir.



Bu reaksiyonların sonunda, radikal olmayan bileşik radikal hale gelir. Bu nedenle serbest radikallerin radikal olmayan bileşiklerle reaksiyonları birbirini izleyen zincir reaksiyonları şeklinde olur.

Bu özellikleri ile reaktif oksijen türleri; Tablo 3'te verildiği gibi radikaller ve radikal olmayanlar olarak iki ana başlık altında incelenmektedir (47).

Tablo 2. Biyolojik Önemi Olan Reaktif Oksijen Türleri (Özden'den, 47)

Radikaller	Nonradikaller
Süperoksit, $O_2^{\cdot-}$	Hidrojen peroksit, H_2O_2
Hidroksil, $OH^{\cdot}$	Hipokloröz asit, $HOCl$
Peroksil, $ROO^{\cdot}$	Hipobromöz asit, $HOBr$
Alkoksil, $RO^{\cdot}$	Singlet oksijen, $O^{\cdot}$
Peroksinitrit, $ONOO^{\cdot}$	Ozon, O_3
Hidroperoksil, $HO_2^{\cdot}$	Peroksinitrit, $ONOO^{\cdot}$
Nitrik oksit, $NO^{\cdot}$	Hidroperoksit, $L(R)OOH$

4.2.2. Serbest Radikallerin Oluşum Nedenleri

ROS üretiminin büyük bir kısmı hücrelerdeki mitokondride bulunan elektron taşıma zincirinin (ETS) üretmiş olduğu ROS'dir. Hücrel redoks işleminden reaktif oksijen türleri oluşmaktadır. Oluşan ROS yapmış olduğu etki bakımından toksik veya yararlı etki gösterebilmektedir. Bu iki karşıt etkinin arasında bulunan denge yaşam için önemli bir yer tutmaktadır.

ROS farklı kaynaklardan da üretilirler. Çoğu hücre türü belirli koşullar altında ROS üretebilir. Özellikle fagositik hücreler (makrofajlar, kupffer hücreleri, polimorf nükleer nötrofiller, endotel hücreleri) ve çeşitli epitel hücreleri (enterosit, hepatosit, alveolar epitel hücreleri ve renal tübüler epitel hücreleri) örnek gösterilebilir. Ayrıca bazı enzimlerin (oksidazlar, siklooksijenaz, lipoksijenazlar, dehidrogenazlar ve peroksidazlar) aktivitesi sonucunda serbest radikal oluşmaktadır. Sitokrom P450 metabolizması, lizozomlar, peroksizomlar ve inflamatuvar hücre aktivasyonu, ROS'un

diğer endojen kaynaklarıdır. Buna ek olarak, demir, bakır, krom, kurşun, cıva, nikel ve vanadyum gibi metaller ROS üretebilir (48- 52).

4.2.3. Serbest Radikal Türleri

4.2.3.1. Süperoksit Radikali

Süperoksit radikali moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. Biyolojik sistemlerde reaksiyona girdiği molekülün potansiyeline bağlı olarak indirgen veya yükseltgen olarak bulunabilir. Süperoksit radikali biyolojik sistemde birçok diğer ROS oluşumunda öncü rol oynamaktadır. Örneğin hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($OH^\cdot$) ve peroksinitrit ($OONO^\cdot$).

4.2.3.2. Hidrojen Peroksit

Hidrojen peroksit kendiliğinden veya süperoksidin dismutasyonu sonucu oluşabilir. Süperoksit dismutaz enzimi tarafından bu dismutasyon reaksiyonu katalizlenmektedir. Süperoksit radikalının aksine hidrojen peroksit fizyolojik koşullar altında karardır. Hidrojen peroksit yağda çözünür olduğundan membranlara kolayca yayılabilir ve bu nedenle olduğu organellerden başka yerlere kolaylıkla geçebilmekte ve hücrelerde reaksiyon verebilmektedir.

Bu bağlamda, H_2O_2 , diğer eylemlerin yanı sıra vazodilatasyonu artırma, gen transkripsiyonunu aktive etme, fosfataz aktivitesini değiştirme ve diğer ROS kaynaklarını aktive etme sinyali veren bir molekül olarak dahil edilmiştir. Antioksidan savunma mekanizmalarından olan CAT ve GPx enzimi oluşan H_2O_2 su (H_2O) molekülüne indirgeyebilmektedir. Miyeloperoksidaz, yüksek reaktiviteye sahip kuvvetli bir oksidan olan hipokloröz asit ($HOCl$) üretmek için H_2O_2 'nin klorür iyonu ile reaksiyona girmesini katalize eder (53).

4.2.3.3. Hidroksil Radikali

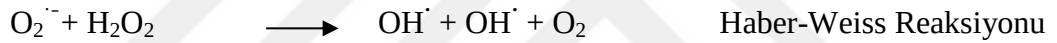
Hidroksil radikali, biyolojik sistemlerde bulunan en güçlü serbest radikaldir. Yarı ömrü yaklaşık 10^{-9} s olan oldukça güçlü bir oksidandır. Bilinen en toksik radikal olmakla birlikte lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi hemen hemen bütün makromolekülleri okside edebilmektedir.

Redoks metal iyonları hidroksil radikalini oluşturmak için hidrojen peroksit ile birlikte reaksiyona girerler. Ayrıca süperoksit radikali Haber-Weiss reaksiyonu ile hidroksil radikaline dönüşür.

Stres koşulları altında süperoksit radikali Fe^{+2} 'yi kullanılabilir duruma getirerek hidroksil radikali oluşumuna destek olur (6).

Oluşan hidrojen peroksit Fe^{+2}/Cu^{+2} varlığında veya diğer geçiş metalleri (Zn, Mn, Cr, Co, Ni, Mo) ortamda bulunduğunda indirgenerek hidroksil radikaline dönüşür. Bu reaksiyon Fenton reaksiyonu olarak bilinmektedir. Süperoksit radikali varlığında ise hidrojen peroksit Haber-Weiss reaksiyonu ile hidroksil radikallerine dönüşür (7).

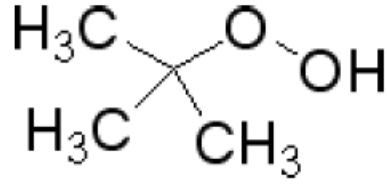
Haber-Weiss ve Fenton Reaksiyonu



4.2.3.4. Tersiyer Bütil Hidroperoksit (t-BHP)

Oksidatif hücre hasarı mekanizmalarını kapsayan çalışmalarda sıklıkla kullanılan organik bir hidroperoksit olan t-BHP organik hidroperoksitlerin alkil radikallerine bir oksijen eklenmesi veya peroksil radikallerinden bir hidrojen atomunun çıkarılması sonucunda meydana gelmektedir. t-BHP metal iyonları ve onların kompleksleri vasıtasıyla diğer alkoksil ya da peroksil radikallerine ayrışabilir ve bunun sonucunda lipid peroksidasyon zincir reaksiyonları hızlandırılabilir.

t-BHP kaynaklı toksisitenin nedenleri için önerilen etki mekanizmaları şöyledir; intraselüler kalsiyum dengesindeki değişiklikler, glutatyon ve protein tiyol düzeyindeki azalma, DNA tek zincir kırıklarının oluşumu, lipid peroksidasyonunun başlaması, tersiyer bütoksil radikallerinin oluşması ve t-BHP kaynaklı genotoksisitedir. Bir geçiş metali aracılıklı reaksiyon ile H_2O_2 gibi değişik tipteki ROS'ların üretimiyle sonuçlanan bir süreçtir (11).



Şekil 4. t-BHP'nin açık kimyasal formülü (Lima'dan, 11)

4.2.4. Serbest Radikallerin Etkileri

ROS ve reaktif azot türleri (RNS) normal hücrel metabolizma ürünüdür. ROS ve RNS canlı sistemler için zararları ve yararları mevcuttur. Reaktif oksijen türleri ortamda düşük yoğunlukta bulunduklarında birçok hücrel yanıtı karşı O_2^- ve H_2O_2 ürettiği çeşitli çalışmalarla bulunmuştur. Reaktif oksijen türlerinin birçok fizyolojik fonksiyonda yararlı etkileri vardır. Bunlar arasında; fagositoz aracılığıyla enfeksiyonlara karşı savunma, sitotoksik lenfositler ve makrofajlar tarafından kanser hücrelerini öldürme, sitokrom p450 tarafından ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu, mitokondride ATP üretimi, hücre büyümesi ve düşük konsantrasyonlarda mitojenik yanıtlara neden olma sayılabilir (6, 7).

Potansiyel biyolojik hasara neden olan serbest radikallerin zararlı etkisi, oksidatif stres ve nitrosatif stres olarak adlandırılır. Aşırı derecede üretilen ROS hücrel lipitlere, proteinlere ve DNA'ya normal işlevlerini engelleyecek şekilde hasar verebilir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, serbest radikallerin miyokard enfarktüsü, iskemi, ateroskleroz, nörolojik ve kas hastalıkları, astım, diyabet, katarakt, yaşlanma ve kanser gibi birçok hastalıkla ilişkili olduğu görülmektedir. Serbest radikallerin faydalı ve zararlı etkileri arasındaki hassas denge, canlı organizmaların çok önemli bir unsurudur ve "redoks düzenlemesi" adı verilen mekanizmalarla başılır (6, 54).

4.3. Oksidatif Stres

Oksidatif stres terimi serbest radikallerin DNA, lipit ve proteinler üzerindeki zararlı etkilerini yok etmek için hücrelerin bu etkiyi ortadan kaldıracak detoksifikasyon yeteneği arasındaki dengesizliği ifade etmek için kullanılır.

Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, amiyotrofik lateral skleroz, kardiyovasküler hastalık, alerjiler, bağışıklılık sistemi işlev bozukluğu, şeker hastalığı ve kanser oksidatif stres ile ilgili hastalıklardır (55).

Oksidatif strese yol açan reaksiyonların reaksiyonların oluşmasını tetikleyen iki molekül sınıfı vardır. Serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri bu iki sınıfı oluşturmaktadır. Oluşan serbest radikaller daha çok lipidler üzerine etki etmektedir. Biyomoleküller arasındaki doymamış yağ asitlerinde bulunan C=C bağları serbest radikal hasarına karşı oldukça hassaslardır. Lipit peroksidasyonu çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı sonucu meydana gelmektedir. Serbest radikallerin veya radikalik yapıdaki oksidan moleküllerin özellikle C=C çift bağı içeren örneğin çoklu doymamış yağ asitleri gibi lipitlere saldırması ile başlatılan bir reaksiyon zinciri sonucunda lipid peroksil radikalleri ve hidroperoksitleri oluşturur. Lipidlerin oksidatif olarak yıkımının ve oluşan doku hasarının belirtici olarak MDA miktarı gösterilmektedir. MDA iki veya daha fazla çift bağ içeren doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu oluşan aldehit yapıları bir yan üründür. Elektrofilik yapısından dolayı oldukça reaktif bir moleküldür ve proteinlerle ve serbest aminoasitlerle Schiff bazı oluşturabilir. Oluşan lipit peroksidasyonu sonucunda hücre membran akışkanlığı artmaktadır ve hücre membranlarının bütünlüğüne zarar verebilir (56, 57, 58).

4.3.1. Antioksidan Savunma Sistemi

Bir antioksidan serbest radikallere elektron bağışlayıp nötralize edebilecek kadar kararlı bir moleküldür. Oksidatif stres serbest radikaller tarafından oluşturulduğunda bu etkiyi detoksifiye ederek ortadan kaldıracak antioksidanlar, serbest radikalleri temizleyebilen ve oluşan hücre hasarını engelleyen ve geciktirici süpürücülerdir.

Bu antioksidanlar düşük molekül ağırlığına sahiptir ve serbest radikallerin oluşturduğu zincir reaksiyonlarını güvenli bir şekilde etkileşim kurarak sonlandırabilir ve hayati moleküllerin zarar görmesini engelleyebilir. Antioksidanlar radikal süpürücü, hidrojen verici, elektron verici, peroksit dekompozeri, singlet oksijen söndürücü, enzim inhibitörü, sinerjist ve metal şelatlayıcı olarak görev yaparlar.

Doğal antioksidan sistemler enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar ROS'u ortadan kaldırmak için hücre içi ve hücre dışı ortamlarda bulunur. Enzimatik grup, katalaz, glutatyon tiyaredoksin sisteminin enzimleri ve süperoksit dismutaz gibi

bir dizi enzimi içerir. Enzimatik olmayan grup, doğrudan oksidatif maddeler üzerinde etkili olan ve beslenme kaynaklarından edinilen bir takım antioksidanları içerir. Bu grup, C vitamini (askorbat), E vitamini (tokoferol), karotenoidler, flavonoidler ve polifenoller gibi bileşikler içerir (55, 59, 60).

Tablo 3. Ana Antioksidanların Sınıflandırılması (Çaylak'dan, 61)

Antioksidan Enzimler ve Vitaminler	Rolü	Özellikleri
Süperoksit dismutaz (SOD)	$O_2^{\cdot-}$ - H_2O_2 'ye dönüştürür.	Manganez içerir (Mn-SOD) Bakır ve çinko içerir (CuZn – SOD) Mn ve Fe içerir (Fe-SOD) Ni içerir (Ni-SOD) Bakır içerir (Cu-SOD)
Katalaz (CAT)	H_2O_2 'yi H_2O 'ya çevirir.	Peroksizomlarda yer alan tetramerik bir proteindir. Selenoprotein (Se^{2+} içerir), daha çok sitozolde, az olarak mitokondride bulunur ve GSH kullanır.
Glutasyon peroksidaz (GPx)	H_2O_2 ve lipit peroksitlerini etkisizleştirir.	
Alfa tokoferol	Lipid peroksidasyonunu kırar. Lipit peroksitlerini $O_2^{\cdot-}$ ve $OH^{\cdot}$ temizler. Peroksi radikalleri ile $O_2^{\cdot-}$ ve $OH^{\cdot}$ temizler.	Yağda çözünür.
Beta karoten	Vitamin A'nın oksidasyonunu önler. Geçiş metallerini bağlar.	Yağda çözünür.
Askorbik asit	Direk olarak $O_2^{\cdot-}$, $OH^{\cdot}$ ve H_2O_2 'yi temizler. Detoksifikasyon metabolizması esnasında meydana gelen serbest radikalleri ve ROS'ları etkisiz hale getirir. Vitamin E'nin rejenerasyonunu sağlar.	Suda çözünür.

4.3.2. Enzimatik Antioksidanlar

4.3.2.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Bu, en etkili hücre içi enzimatik antioksidanlardan biridir ve süperoksit anyonlarının dioksijene ve hidrojen peroksit'e dönüşümünü katalize eder. SOD enziminin insan vücudunda başlıca üç tane ana formu vardır. Bu izoformlardan CuZn-

SOD sitozolde, Mn-SOD mitokondri ve ekstrasellüler –SOD olarak bulunmaktadır. CuZn-SOD molekül ağırlığı 32 kDa olan iki özdeş alt birime sahiptir ve alt birimlerin her biri aktif bölge olarak bakır ve çinko iyonlarından oluşan dinükleer metal kümesi içerir. Mitokondriyal Mn-SOD dört alt grup içerir. Ekstrasellüler -SOD bakır ve çinko içerir ve glikozaminoglikanlar için yüksek bir afiniteye sahip sekrete bir glikoproteindir. Ancak bu SOD enzimi oksidatif strese yanıt olarak değil II esas olarak sitokinler tarafından koordine edilerek meydana getirilir (62).

4.3.2.2. Katalaz (CAT)

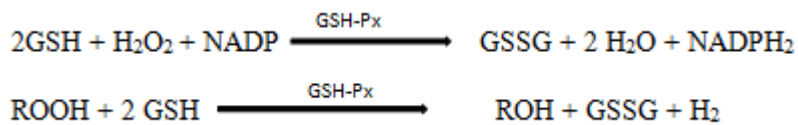
Katalaz peroksizomlarda lokalize olan ve (hidrojen peroksit oksidoredüktaz; CAT, E.C 1.11.1.6) ferroporfirin proteinidir. Dört tane monomere sahiptir ve hidrojen peroksitin bozunmasını katalize etmektedir. Her katalaz alt birimi stabilize olmak için bir NADPH molekülünü bağlar. Bu reaksiyon sonucunda hidrojen peroksit molekülü su ve oksijene dönüştürülür. Hidrojen peroksit O_2^- 'ye bir elektron ilavesiyle ya da O_2 'ye iki elektron eklenmesiyle doğrudan meydana gelir.



Katalaz çoğunlukla in vivo koşullarda peroksidaz aktivitesi gösterir. Memelilerde çoğunlukla karaciğer, eritrosit ve böbreklerde bulunur. Katalaz hepatik hücrelerde ve kanda oksijen dehidrojenazların etkisiyle üretilen hidrojen peroksiti giderdiği düşünülmektedir (7, 63).

4.3.2.3. Glutasyon Peroksidaz

GPx-1 (glutasyon: hidrojen peroksit oksidoredüktaz, EC 1.11.1.9) eritrositik bir enzimdir ve hemoglobini oksidatif hasara karşı koruduğu 1957 yılında bulunmuştur. Mitokondri ve sitozol arasında bölünmüş glutasyon peroksidaz-1 (GPx-1) selenyum bağımlı hidrojen peroksit toplayıcısıdır. Serbest hidrojen peroksidi suya veya lipid hidroperoksitleri karşılık gelen alkollere indirgeyerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur (64, 65, 66).



GSH-Px enzimi H_2O_2 'nin indirgenmesi reaksiyonunda GSH'ı elektron vericisi olarak kullanır ve oluşan okside glutatyon (GSSG), NADPH bağımlı glutatyon redüktaz enzimi tarafından yenilenir. Glutatyon (γ -glutamil sisteinil glisin, GSH); serbest sülfidril grubu içeren bir tripeptiddir. Eritrositlerde GSH-Px hemoglobinin methemohlobine oksidasyonunu azaltarak eritrositin ömrünü uzatır (67).



5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1. Gereç

5.1.1. Kullanılan Cihazlar, Alet ve Malzemeler

Bu tez çalışmasında kullanılan cihazlar, laboratuvar gereçleri ve malzemeler Tablo 4’de verilmiştir.

Tablo 4. Çalışmada Kullanılan Cihazların ve Laboratuvar Malzemelerinin Özellikleri

Kullanılan Cihaz, Alet ve Malzeme	Marka
Çalkalayıcı	Nüve, SL 350
Dondurucu	Arçelik, Altus (-20 °C), ThermoElectron Corporation (-80 °C)
Etüv	Gallenkamp
Hassas Terazî	Mettler Toledo, AB204-S
İnkübatör	Shel Lab Shaking Incubator, Heraeus
Karıştırıcı	Ika Vortex Genius 3
Manyetik Karıştırıcı	Ikamag RH
Mikropleyt Okuyucu	Molecular Devices
Otomatik Pipet 0.5-10 µL	Eppendorf
Otomatik Pipet 100-1000 µL	Socorex
Otomatik Pipet 10-100 µL	Socorex
Otomatik Pipet 1-5 mL	Eppendorf
Otomatik Pipet 20-200 µL	Eppendorf
pH –metre	Hanna Instruments HI 2211
Santrifüj	Eppendorf, 5810
Soğutmalı santrifüj	Beckman Coulter Allegra 64R

5.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler

Bu tez çalışmasında kullanılan kimyasal maddeler ve çözeltiler Tablo 5’de verilmiştir.

Tablo 5. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler

Kullanılan Kimyasal Madde/Çözelti	Marka
Amonyum sülfat	Merck
Bakır (II) klorür (CuCl ₂)	Sigma
Bovine serum albumin (BSA)	Sigma
Disodyum hidrojen fosfat (Na ₂ HPO ₄)	Merck
Dimetil sülfoksit	Sigma
Etanol	Sigma
Etilendiamin tetra asetik asit (EDTA)	Merck
Gliserol	Sigma
Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)	Sigma
Kloroform	Merck
Ksantin	Sigma
Ksantin oksidaz	Sigma
Kuersetin	Sigma
Potasyum dihidrojen fosfat (KH ₂ PO ₄)	Merck
Sodyum bikarbonat (NaHCO ₃)	Merck
Sodyum dihidrojen fosfat (NaH ₂ PO ₄)	Merck
Sodyum hidroksit (NaOH)	Sigma
Sodyum karbonat (Na ₂ CO ₃)	Merck
Sodyum klorür (NaCl)	Merck
Sodyum meta-arsenit	Merck
Süperoksit dismutaz (SOD) standartı	Sigma
Tersiyer-bütıl hidroperoksit (t-BHP)	Sigma
Tiyobarbitürik asit (TBA)	Sigma
Trikloro asetik asit (TCA)	Sigma

5.2. Yöntem

5.2.1. Etanollü Propolis Ekstraktının Hazırlanması

Türkiye'nin çeşitli yörelerinden toplanan propolis örnekleri toz haline getirilip karıştırıldı ve Türk propolisi toz karışımı elde edildi. 5 g toz propolis 100 mL % 70'lik etanol ile çözüldü. İyiçe vortekslelendikten sonra 60 °C'de sürekli çalkalanarak en az 24 saat inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda çalkalayıcı inkübatörden çıkarılan ekstrakt, süzgeç kağıdından süzüldü ve ardından 0,22 µm'lik steril filtrelerden geçirilerek deneyde kullanıma hazır hale getirildi. Bu şekilde hazırlanan 50 mg/mL'lik konsantrasyondaki stok propolis ekstraktından seyreltme yoluyla çeşitli konsantrasyonlarda çalışma çözeltileri hazırlandı.

5.2.2. Eritrosit Hücre İzolasyonu

Etik kurul onayı alındıktan sonra, KTÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya laboratuvarında çalışan 15 gönüllüden (sigara, alkol, ilaç kullanmayan, kronik rahatsızlığı olmayan, ağır egzersiz yapmayan) onam formu esliğinde 3'er adet EDTA'lı tüpe (eritrosit eldesi için) kan örneği alındı. Alınan kanlar 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilip plazmaları ayrıldı. Plazmaları ayrılan EDTA'lı tüpteki kanlara hacimlerinin 3 katına kadar izotonik tuz çözeltisi ilave edildi, tüp birkaç defa hafifçe ters-düz edilip santrifüj edildi. Ara yüzeyde beyaz bir tabaka şeklinde duran lökositler ve üst kısım uzaklaştırıldı. Bu yıkama işlemi üst kısım berraklaşana kadar devam ettirilerek eritrosit paketleri hazırlandı. Hazırlanan eritrosit paketlerinden havuz oluşturuldu. KTÜ Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvar'ında Hematokrit (Hct) ve hemoglobin değerleri ölçüldü. Hematokrit oranı deneylerde % 10 olacak şekilde % 0,9'luk NaCl ile seyreltilti. Hazırlanan eritrosit paketi 4 °C'de saklandı.

Kullanılan Çözeltiler

%0.9'luk NaCl: 9 g NaCl tartılıp bir miktar saf su ile çözülüp hacmi 1 L'ye tamamlandı.

5.2.3. Tersiyer Butil Hidroperoksit (t-BHP) Hazırlanması

1987,5 µL PBS steril 15 mL'lik falkon tüpe alındı. Üzerine stok t-BHP şişesinden (7.989 M) 12,5 µL konuldu. İyice vortekslenerek tamamen çözülmesi sağlandı. Böylece 50000 µM konsantrasyonda ara stok oluşturulmuş oldu.

5.2.4. Kuersetin Hazırlanması

1 mg kuersetin tartıldı ve 1 mL DMSO ilavesiyle iyice vortekslenip çözülerek 1000 µg/mL'lik çalışma stoğu hazırlandı. Daha sonra bu stoktan çeşitli konsantrasyonlarda ara stoklar hazırlandı.

5.2.5. Eritrosit Hücresi İçin Uygun t-BHP Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Deneyde kullanılacak olan t-BHP konsantrasyonunun bulunması için farklı dozlarda t-BHP eritrosit paketleri üzerine t-BHP eklenip, 1 saat 37 °C de inkübasyona bırakıldı. Daha sonra eritrosit paketlerinde MDA ölçümü gerçekleştirilerek kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek ($p<0.05$) hasar oluşturan 750 µM t-BHP konsantrasyonu seçildi.

5.2.6. t-BHP Kaynaklı Eritrosit Hücre Hasarını Önleyecek Propolis Konsantrasyonunun Belirlenmesi

50 mg/mL'lik etanollü Türk propolis ekstraktından çeşitli konsantrasyonlarda ara stoklar hazırlandı. Eritrosit paketlerine önce 50 ile 500 µg/mL arasında değişen konsantrasyonlarda etanollü Türk propolis ekstraktı eklendi ve 37 °C'de 2 saat inkübe edildi ve daha sonra eritrosit paketlerine belirlenen t-BHP konsantrasyonu eklenip 1 saat 37 °C inkübasyonda bırakıldı ve MDA ölçümü gerçekleştirildi. Kontrol grubuna yakın olan propolis konsantrasyonu deneylerde kullanmak üzere seçildi (Sonuçlar Ek 1'de verilmiştir).

5.2.7. Deneyde Kullanılacak Kuersetin Konsantrasyonunun Belirlenmesi

1 mg/mL'lik kuersetin ekstraktından çeşitli konsantrasyonlarda ara stoklar hazırlandı. Eritrosit paketlerinin üzerine çeşitli konsantrasyonlarda (1-10 µg/mL) kuersetin eklenip, 2 saat 37 °C'de inkübasyona bırakıldı. Daha sonra 750 µM t-BHP eklenerek 1 saat daha 37 °C'de inkübe edilip, MDA ölçümü gerçekleştirildi. Eklenen t-BHP hasarını en fazla indirgeyen ve negatif kontrole göre anlamlı derecede düşük ($p<0.05$) konsantrasyon olan 2 µg/mL seçildi.

5.2.8. Deney Grupları

Deney grupları Tablo 6'da oluşturuldu. Pipetlemeler µL olarak yapıldı.

Tablo 6. Deney Grupları

Hacim (µL)	Kontrol Grubu	Etanollü Türk Propolis Grubu	Kuersetin (Pozitif Kontrol)	t-BHP (Negatif Kontrol)
Eritrosit Paketi (Hct: % 10)	2000	1965.6	1965.6	1969.6
Etanollü Türk Propolisi (100 µg/mL)	-	4	-	-
Kuersetin (2 µg/mL)	-	-	4	-
37 °C'de 2 saat karanlıkta inkübasyona bırakıldı.				
t-BHP (750 µM)	-	30.4	30.4	30.4
37 °C'de 1 saat karanlıkta inkübasyona bırakıldı.				

5.2.9. Eritrosit Süperoksit Dismutaz Aktivitesi Tayini

SOD aktivitesi, Sun ve Oberley (68) metoduna göre yapıldı. Bu metod, ksantin-ksantin oksidaz sisteminin oluşturduğu süperoksit radikallerinin nitro blue tetrazoliumu (NBT) indirgeyerek oluşturduğu mavi-mor rengin 560 nm’de verdiği absorbansın spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır. Eritrositlerdeki SOD’un ortamdaki süperoksit radikallerini uzaklaştırması sonucu optik dansitede meydana gelen azalmadan yararlanılarak SOD tarafından katalizlenen reaksiyonun % inhibisyonu hesaplandı.

Kullanılan Çözeltiler

Etanol:Kloroform Karışımı (5:3): 50 mL etanol 30 mL kloroformla karıştırıldı.

0.3 mmol/L Ksantin Çözeltisi: 3.65 mg ksantin 80 mL deiyonize suda çözüldü.

0.6 mmol/L EDTA Çözeltisi: 8.93 mg EDTA 40 mL deiyonize suda çözüldü.

150 µL NBT Çözeltisi: 4.9 mg NBT 40 mL deiyonize suda çözüldü. NBT günlük taze hazırlandı.

400 mM Na₂CO₃ Çözeltisi: 1.01 g Na₂CO₃ 24 mL deiyonize suda çözüldü.

1 g/L BSA: 12 mL deiyonize suda 12 mg BSA çözüldü.

167 U/L Ksantin Oksidaz Çözeltisi: 3.3 U/mL’lik orijinal şişeden 101 µL alınıp 2 mL’ye amonyum sülfatla tamamlandı. Ksantin oksidaz günlük hazırlandı.

0.8 mmol/L CuCl₂ Çözeltisi: 5.37 mg CuCl₂ 50 mL deiyonize suda çözüldü. Günlük taze hazırlandı.

2 mol/L Amonyum Sülfat: 2.64 g amonyum sülfat 10 mL deiyonize suda çözüldü.

SOD Standartları: 20, 16, 0,5, 0,313, 0,125 U/mL’lik SOD standartları ve kör hazırlandı.

Reaksiyon karışımı: 80 mL 0,3 mM ksantin çözeltisi, 40 mL 0,6 mM EDTA çözeltisi, 40 mL 150 µM NBT çözeltisi, 24 mL 400 mM Na₂CO₃ çözeltisi, 12 mL 1g/L BSA karıştırıldı. Reaksiyon karışımı hazırlanırken hacimler hesaplanıp bütün maddeler aynı kapta karıştırıldı. Yukarıda ifade edilen konsantrasyon ifadeleri son konsantrasyonlardır.

Deneyin yapılışı

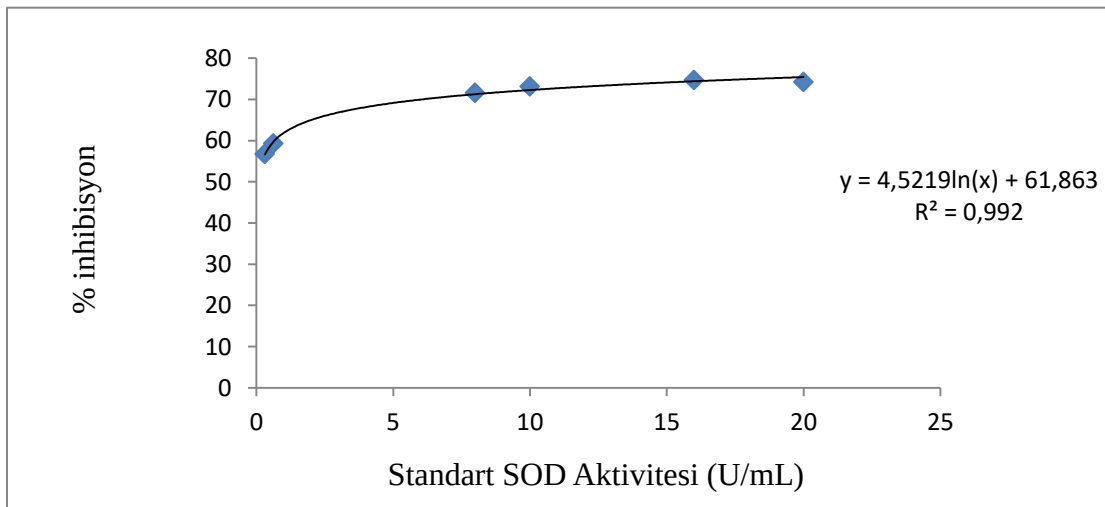
100 µL eritrosit paketi 900 µL soğuk saf su ile karıştırılıp hemoliz edildi. Elde edilen hemolizata 800 µL etanol: kloroform (5:3) karışımı eklenip vortekslendi. 18 000 x g'de 4 °C'de bir saat santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant SOD aktivitesi ve katalaz aktivitesinin ölçümünde kullanıldı.

Tablo 7. SOD Aktivitesi Ölçümü

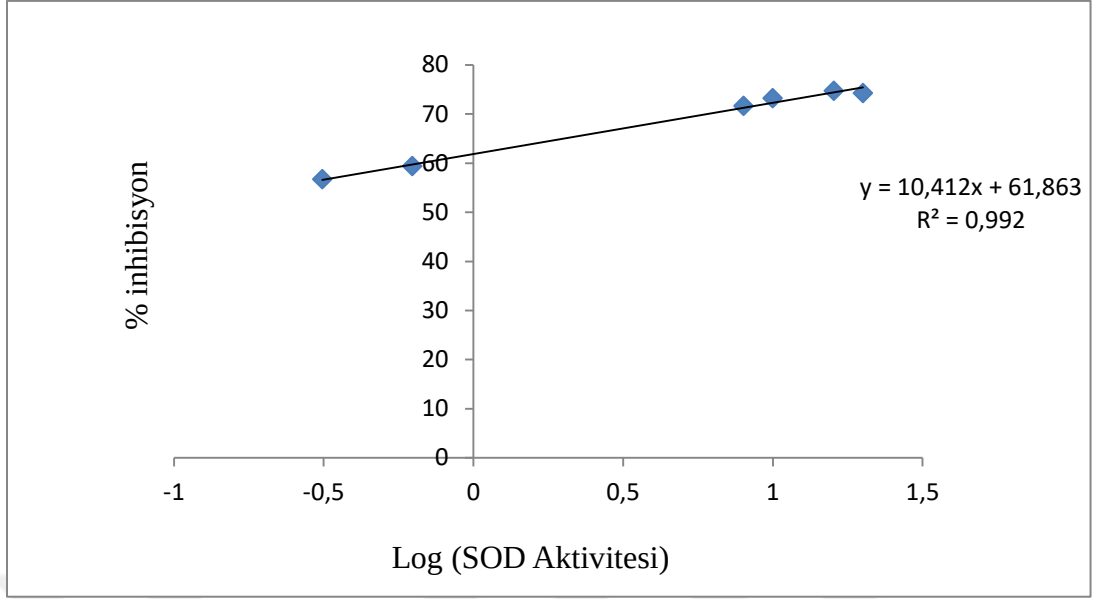
Çözeltiler	Hacim (mL)
Reaksiyon karışımı	1.225
Süpernatant	0.25
Ksantin oksidaz	0.025
25 °C' da 20 dakika inkübasyona (karanlıkta) bırakıldı.	
Bakır Klorür	0.5
560 nm'de absorbans ölçüldü.	

Tablo 7'da ifade edildiği gibi pipetlemeler ve işlemler yapıldı ve 560 nm'de absorbanslar ölçüldü. Hesaplamalar % inhibisyon olarak hesaplandı. Şekil 5'deki standart grafiği SOD aktivitesinin logaritması alınarak Şekil 6'deki lineer standart grafiğine dönüştürüldü. Bu grafikten yararlanılarak % inhibisyonlar SOD aktivitesine dönüştürüldü. % 50 inhibisyona karşılık gelen SOD aktivitesi bir birim enzim ünitesi olarak alındı. Sonuçlar hemoglobin miktarına bölünerek U/g Hb olarak hesaplandı.

$$\% \text{ inhibisyon} = \frac{(A \text{ kör} - A \text{ numune})}{A \text{ kör}} \times 100$$



Şekil 5. Standart SOD Aktivitesi ve % İnhibisyon Grafiği



Şekil 6. Log (Standart SOD Aktivitesi) ve % İnhibisyon Grafiği

5.2.10. Eritrosit Katalaz Aktivitesi Tayini

Katalaz aktivitesi, temel prensibi amonyum molibdatın hidrojen peroksitle oluşturduğu sarı renkli kompleksin 405 nm’de absorbansının ölçülmesi esasına dayanan Goth (69) metoduna göre belirlendi.

Kullanılan Çözeltiler

60 mM Sodyum Potasyum Fosfat Tamponu (pH 7.0): 5.37 g KH_2PO_4 ve 3.65 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ yaklaşık 750 mL saf suda çözülür, pH 7.0’a ayarlanır ve hacmi 1 L’ye tamamlandı.

32.4 mM Amonyum Molibdat Çözeltisi: 1.89 g amonyum molibdat 50 mL saf suda çözüldü.

65 mM H_2O_2 Çözeltisi: 327 μL % 30’luk H_2O_2 50 mL fosfat tamponunda çözüldü. H_2O_2 çözeltisi taze hazırlandı.

Tablo 8. Katalaz Aktivitesi Ölçümü ve Yapılan İşlemler

Çözeltiler	Numune	Kör 1	Kör 2
Numune	20 µL		
Tampon		20 µL	120 µL
H ₂ O ₂ 'li tampon	100 µL	100 µL	
	37 °C' de 1 dakika bekletildi.		
Amonyum molibdat çözeltisi	100 µL	100 µL	100 µL
	405 nm'de absorbansları okundu.		

Tablo 8’da ifade edilen işlemler yapıldı. Ölçülen absorbans değerleri aşağıdaki denklemde yerine konularak katalaz aktivitesi hesaplandı. Sonuçlar hemoglobin miktarlarına bölünerek U/g Hb olarak ifade edildi.

$$Katalaz\ aktivitesi\ (\frac{U}{mL}) = \frac{(A\ kör2 - A\ numune) \times 271}{(A\ kör2 - A\ kör\ 1)}$$

5.2.11. Eritrosit MDA Seviyesinin Belirlenmesi

Eritrosit MDA seviyesi Stocks ve Dormandy (70) metoduna göre gerçekleştirildi. Bu metod MDA’nın asidik ortamda tiyobarbitürik asit (TBA)’in ısıtılması sonucu oluşan pembe renkli kompleksin 532 nm’de absorbansının ölçülmesi esasına dayanır.

Kullanılan Çözeltiler

Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi (PBS): 1.76 mL 0.5 M KH₂PO₄ çözeltisi ve 6.08 mL 0.5 M K₂HPO₄ çözeltisi % 0.9’luk NaCl çözeltisinde karıştırılıp pH 7.4’e ayarlandı ve çözeltinin hacmi 1 L’ye tamamlandı.

0.4 M Sodyum Azid: 2.6 g NaN₃ 100 mL PBS’de çözülür.

TBA Çözeltisi: 0.1 g TBA 500 µL 1 N NaOH çözeltisinde çözülür bir miktar saf su ilave edilir ısıtılır iyice çözüldükten sonra hacmi 10 mL’ye tamamlanır.

% 28’ lik Trikloro Asetik Asit Çözeltisi: 14 mg TCA 50 mL saf suda çözülür.

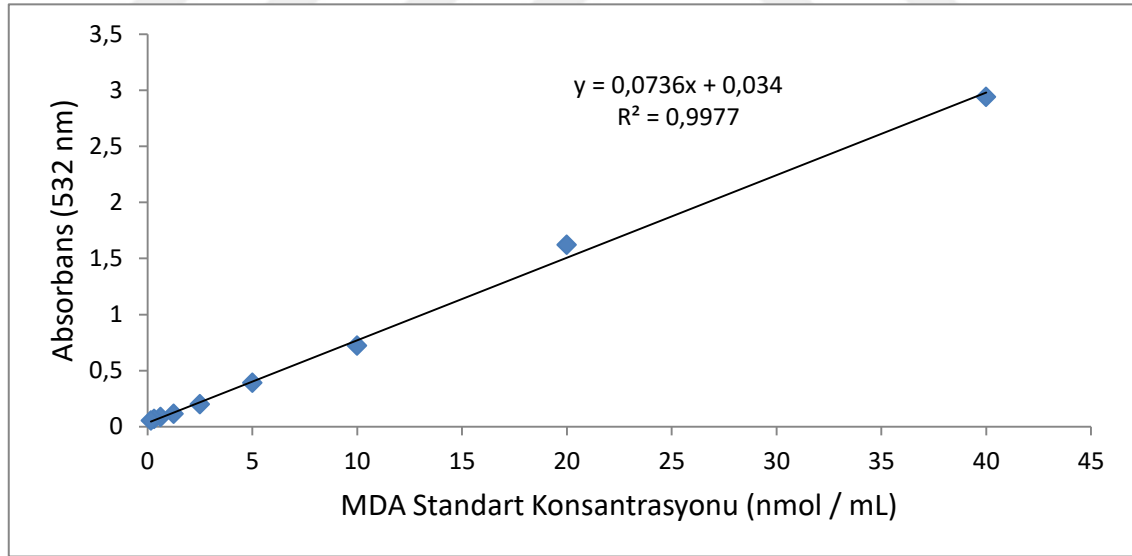
Sodyum Arsenit Çözeltisi: 0.52 g sodyum meta-arsenit 20 mL % 28’lik TCA’da çözülür.

Standartlar Çözeltileri: 40, 20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.313 nmol/mL konsantrasyonlarda MDA standartları hazırlandı.

Tablo 9. Eritrosit MDA Ölçümü ve Yapılan İşlemler

Çözelti	Hacim (µL)
Eritrosit paketi	300
Azitli PBS çözeltisi	2700
37 °C 'de 10 dakika karıştırılır.	
PBS çözeltisi	3000
37 °C'de 2 saat çalkalayıcı üzerinde inkübasyona bırakıldı. Hücre süspansiyonu oluşturuldu.	
Süspansiyon	900
TCA – Arsenit	600
3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant alındı.	
Süpernatant ve Standartlar	300
TCA	100
TBA	100
15 dakika kaynar su banyosunda bekletildi.	
Soğutulduktan sonra mikropleyte aktarıldı ve 532 nm'de absorbanları okundu.	

Tablo 9'da ifade edildiği gibi işlemler gerçekleştirildi. Şekil 7'daki MDA standart grafiğinden yararlanarak örneklerdeki MDA konsantrasyonu hesaplandı. Belirlenen MDA düzeyleri hemoglobin değerlerine bölünerek ifade edildi.



Şekil 7. MDA Standart Absorbans Grafiği

5.2.12. Eritrosit TOK Seviyesinin Belirlenmesi

Örneklerin toplam oksidan kapasitesi (TOK), Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçüldü. Ölçüm, testin çalışma prensibinde ifade edildiği üzere örneklerin

içerdiği oksidan moleküllerin ferroz iyonu ferrik iyona kümülatif olarak oksitlemesine dayanan, kolorimetrik yöntem kullanıldı. Tablo 6’da oluşturulan deney gruplarındaki eritrosit paketinde çalışıldı. Sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eşdeğeri/L olarak ifade edildi (70).

5.2.13. Eritrosit TAK Seviyesinin Belirlenmesi

Örneklerin total antioksidan kapasitesi (TAK), Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçüldü. Ölçüm yöntemi örnekteki tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS* katyonik radikalini redüklemesi sonucu renkli radikalın antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonlarıyla orantılı olarak dekolorize olması esasına dayanır. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan trolox kullanılır. Sonuçlar mmol trolox eşdeğeri/L olarak ifade edildi (71). Tablo 6’da oluşturulan deney gruplarındaki eritrosit paketinde çalışıldı.

5.3. İstatiksel Yöntem

Veriler SPSS22 (Statistical Package for the Social Sciences) bilgisayar paket programına aktararak, istatistiksel olarak değerlendirildi. Normal dağılıma uygunlukları Shapiro-wilk Testi ile kontrol edildi. Tüm gruplardaki parametrelerin hepsi normal dağılıma uygun olduğu bulundu. İki den fazla bağımsız grupların değerlendirmesinde ANOVA ve Post-hoc Tukey testi uygulandı. Elde edilen değerler aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma ($\bar{x} \pm \text{S.D}$) olarak ifade edildi. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Tüm deneyler en az üç kez ($n=3$) tekrarlandı.

6. BULGULAR

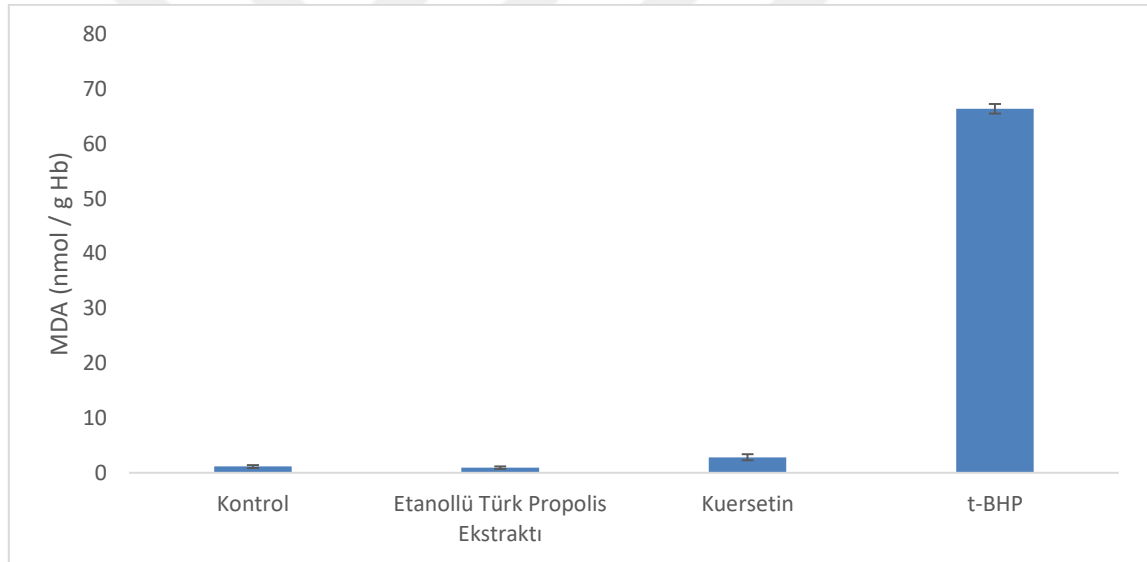
6.1. Eritrosit MDA Seviyeleri

Grupların MDA seviyeleri Tablo 10 ve Şekil 8’de gösterilmiştir.

Tablo 10. Eritrosit MDA Sonuçları

Grup	Eritrosit MDA (nmol/g Hb)	ANOVA, p
Kontrol	1.15±0.27 ^a	0.0001
Etanollü Türk Propolis Ekstrakt	0.94±0.26 ^b	
Kuersetin (Pozitif Kontrol)	2.82±0.55 ^c	
t-BHP (Negatif Kontrol)	66.4±0.88 ^d	

a-c, a-d, b-c, b-d, d-c Post Hoc Tukey testine göre anlamlı derecede farklı bulunmuştur. (p< 0.05).



Şekil 8. Eritrosit MDA sonuçları

Çalışmamızda elde edilen bulgulara göre; eritrosit paketlerinde etanollü Türk propolis ekstrakt grubunun MDA seviyesi, negatif kontrole göre anlamlı derecede (p<0,05) düşük bulundu. Kontrol ve propolis grubu arasında anlamlı bir fark yoktur.

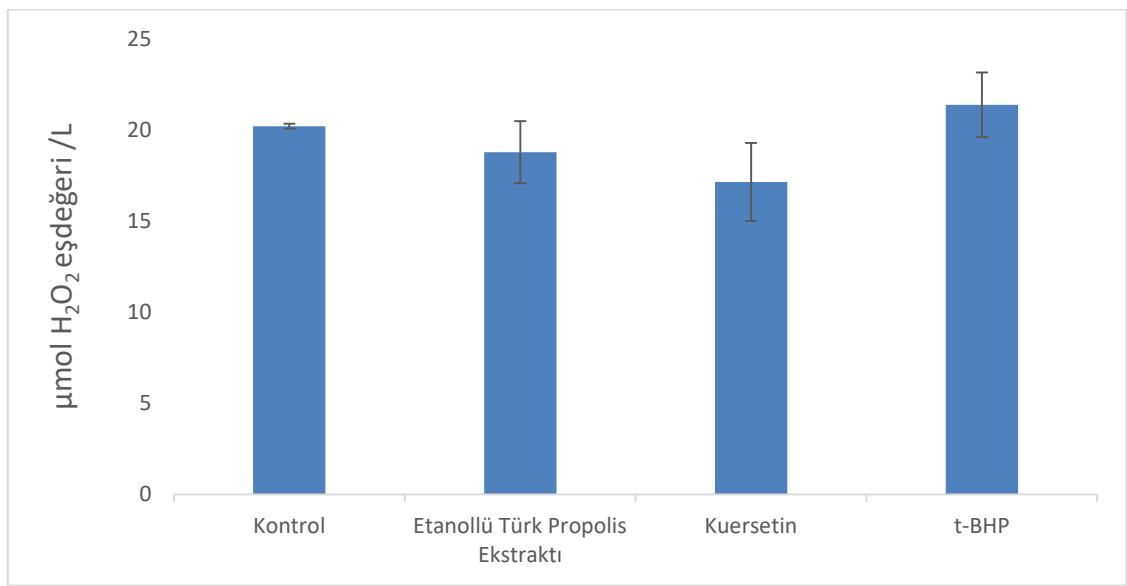
6.2. Eritrosit Toplam Oksidan Kapasite (TOK) Seviyesi

Grupların toplam oksidan kapasitesi (TOK) seviyeleri, Tablo 11 ve Şekil 9’da verildi.

Tablo 11. Eritrosit TOK Seviyeleri

Grup	Eritrosit TOK (μ mol H ₂ O ₂ eşdeğeri/L)	ANOVA, p
Kontrol	20.21±0.123	0.059
Etanollü Türk Propolis Ekstrakt	18.77±1.70	
Kuersetin (Pozitif Kontrol)	17.14±2.145	
t-BHP (Negatif Kontrol)	21.38 ±1.77	

Anova ve Post Hoc Tukey testine göre gruplar arasında anlamlı bir fark görülmedi. ($p>0.05$).

**Şekil 9.** Eritrosit TOK seviyeleri

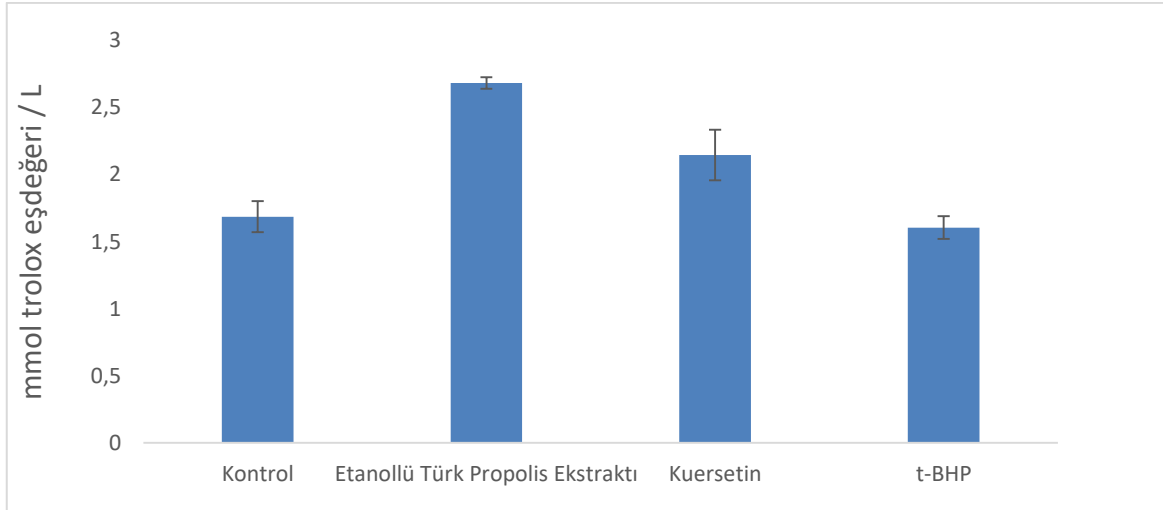
6.3. Eritrosit Toplam Antioksidan Kapasite (TAK) Seviyesi

Grupların toplam antioksidan kapasitesi (TAK) seviyeleri, Tablo 12 ve Şekil 10'da gösterildi.

Tablo 12. Eritrosit TAK Seviyeleri

Grup	Eritrosit TAK (mmol trolox eşdeğeri/ L)	ANOVA, p
Kontrol	1.69 ± 0.12 ^a	0.0001
Etanollü Türk Propolis Ekstrakt	2.68 ± 0.04 ^b	
Kuersetin (Pozitif Kontrol)	2.15±0.19 ^c	
t-BHP (Negatif Kontrol)	1.61 ± 0.08 ^d	

a-b, a-c, b-c, b-d, c-d Post Hoc Tukey testine göre anlamlı bulunmuştur. ($p< 0.05$).



Şekil 10. Eritrosit TAK Seviyeleri

Çalışmamızda elde edilen bulgulara göre; etanollü propolis ekstrakt grubunda negatif kontrol grubuna göre toplam antioksidan kapasite anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Etanollü propolis grubunda TAK seviyesi diğer tüm gruplardan anlamlı derecede yüksektir.

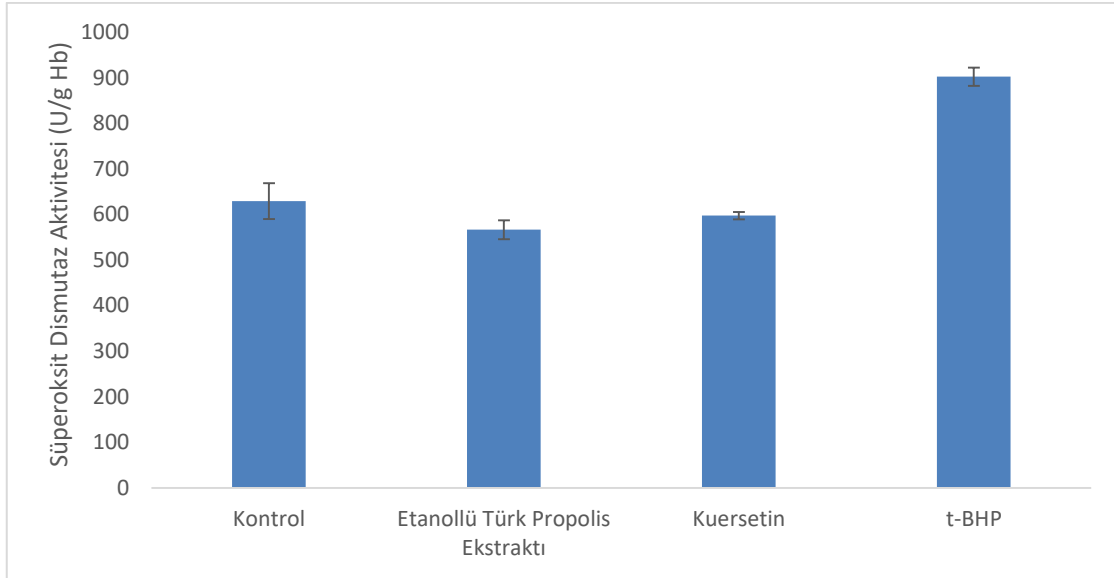
6.4. Eritrosit Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi

Elde edilen aktivite değerleri hemoglobine başına verildi, Tablo 13 ve Şekil 11’de gösterilmiştir.

Tablo 13. Eritrosit SOD Aktivitesi

Grup	Eritrosit SOD Aktivitesi (U/g Hb)	ANOVA, p
Kontrol	629.7 ± 39.40 ^a	0.0001
Etanollü Türk Propolis Ekstrakt	566.8 ± 20.59 ^b	
Kuersetin (Pozitif Kontrol)	597.8 ± 8.15 ^c	
t-BHP (Negatif Kontrol)	902.5 ± 20.29 ^d	

Post Hoc Tukey testine göre a-d, b-d, c-d anlamlı derecede farklı bulunmuştur. (p< 0.05)



Şekil 11. Eritrosit SOD aktiviteleri

Elde edilen bulgulara göre negatif kontrol grubu (t-BHP) diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

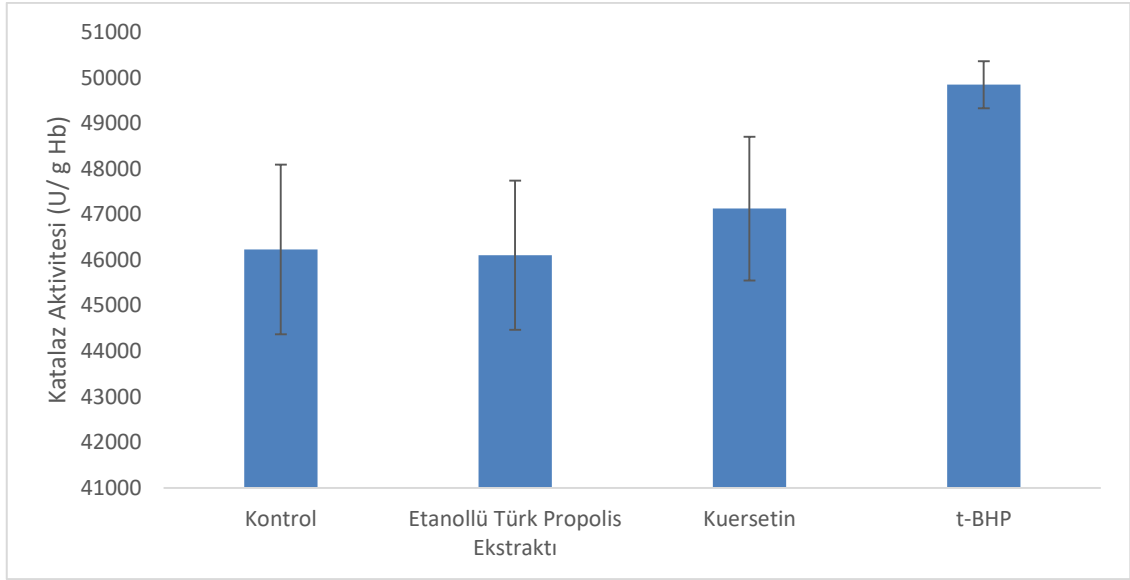
6.4. Eritrosit Katalaz (CAT) Aktivitesi

Grupların katalaz seviyeleri, Tablo 14 ve Şekil 12’de verilmiştir.

Tablo 14. CAT Enzim Aktivitesi

Grup	Eritrosit CAT Aktivitesi (U/g Hb)	ANOVA, p
Kontrol	46237 ± 1861	0.05
Etanollü Türk Propolis Ekstrakt	46109 ± 1638	
Kuersetin (Pozitif Kontrol)	47130 ± 1575	
t-BHP (Negatif Kontrol)	49850 ± 515	

Anova testine göre gruplar arasında anlamlı fark bulunamamıştır.



Şekil 12. Eritrosit CAT Aktiviteleri

7. TARTIŞMA

Propolis çoğunlukla reçine (% 50), mum (% 30), uçucu yağlar (% 10), polen (% 5) ve diğer organik bileşiklerden (% 5) oluşur. Propoliste bulunan önemli organik bileşikler; fenolik bileşikler, esterler, flavonoidler, terpenler, beta-steroidler, aromatik aldehytler ve alkollerden oluşmaktadır (73).

Propolis etanolik ekstraktının antibakteriyel, antifungal, antiinflamatuvar, antibiyotik, antiviral, anestezik, immünostümölan ve sitotoksik etki olmak üzere birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğundan dolayı araştırmacıların ilgisini çekmiştir. (74).

Oksidatif stres, ROS üretimi ve biyolojik sistemin detoksifikasyonda yetersiz kalması sonucu oluşan dengesizlikten kaynaklanmaktadır. t-BHP tarafından oksidatif stres oluşturduğu bilinmektedir.

Kan, oksijeni ve besin maddelerini tüm vücut bölümlerine taşımaya yardımcı olan akışkan bir bağ dokusudur. Lenfatik sistemle birlikte farklı hücre tiplerinden oluşan kan, yabancı cisimlere veya antijenlere karşı büyük bir savunma hattı oluşturur. Hücreler veya dokular t-BHP gibi dış toksinlere maruz kaldığında membran geçirgenliği oluşur aynı zamanda su gözenekleri oluşur ve membran hiperpolarize olur.

Bulunan sonuçlara göre t-BHP'nin membrana bağlı enzimleri seçici olarak inhibe ettiği ve methemoglobin oluşumunu artırdığı aynı zamanda bazı membran proteinlerinin yüksek molekül ağırlıklı polimerlerin oluşmasına neden olduğu ileri sürülmüştür. t-BHP ve hemoglobin reaksiyona girdiğinde t-butoksil radikalleri oluşur ve mebran lipitleri ile reaksiyona girer. Oluşan hidroperoksitler zincir reaksiyonlarını başlatmaktadır ve bunun sonucunda alkenaller, aldehytler, ketonlar ve hidrokarbon gazları oluşmaktadır (75).

Propolis bal arıları tarafından çeşitli bitki kaynaklarından toplanan reçineli bir kovan ürünüdür. Geleneksel tıpta M.Ö 3000'li yıllarından itibaren kullanılmakta olan propolis birçok biyolojik fonksiyona ve antioksidan aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir (76).

Vücut hücre ve organların oluşan ROS'lara karşı oldukça karmaşık bir savunma sistemine sahiptir. Oluşan serbest radikalleri nötralize etmek ve söndürmek için etkileşimli ve sinerjistik olarak görev yapan çeşitli endojen ve eksojen bileşenleri içermektedir. Bunlar arasında serbest radikalleri söndüren antioksidan enzimler,

oksidatif reaksiyonları katalizleyebilen serbest demir, bakır iyonlarını sınırlayan metal bağlama proteinleri ve diyet ile alınan ve türetilen düşük molekül ağırlıklı (askorbik asit, vitamin E, karotenoidler, polifenoller, α -lipoik asit) bulunmaktadır (77).

Çalışmamızda bulunan sonuçlara göre; eritrosit paketlerinde 100 $\mu\text{g/mL}$ etanollü propolis konsantrasyonu kullanılmıştır. t-BHP ile hasar verilen grubun MDA seviyeleri diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. t-BHP uygulamasından önce 100 $\mu\text{g/mL}$ etanollü propolis ile muamele edilen grubundan lipid peroksidasyonunu anlamlı derecede azalttığını tespit ettik. Bulunan bu sonuçlara göre t-BHP kaynaklı oluşan serbest radikalleri süpürme etkisi ve lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu etki gösterdiği bulunmuştur. Yapılan diğer çalışmalarla sonuçlarımız uyumlu bulunmuştur.

Lee ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada propolisin önemli bir bileşeni olan kafeik asit fenetil esterinin (CAPE) kültürlenmiş bir HepG2 hücre hattında ve sıçanlarda t-BHP ile indüklenen karaciğerde hepatotoksisite üzerine koruyucu etkileri araştırılmıştır. CAPE'nin hücre canlılığı ve membran doymamış yağ asitlerinin başlıca oksidatif bozunma ürünü olan MDA oluşumu açısından HepG2 hücrelerini t-BHP'den etkili bir şekilde koruduğu bulunmuştur. Sıçan karaciğerinde t-BHP'nin uygulamasından önce CAPE ile ön tedavinin doz bağımlı olarak lipid peroksidasyonunu ve karaciğer enzim belirteçlerinin (alanin aminotransferaz ve aspartat aminotransferaz) serum seviyelerinde önemli ölçüde azalttığı bulunmuştur. Birlikte ele alındığında, bu sonuçlar, CAPE'nin t-BHP kaynaklı hepatotoksisiteye karşı koruyucu etkilerinin, en azından kısmen, ROS'u süpürme ve DNA'yı oksidatif stres kaynaklı hasardan koruma kabiliyetine bağlı olabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, bu çalışma, CAPE'nin, hücreleri DNA hasarından korumak için hidroksil radikalleriyle reaksiyona girdiğini ve süperoksit radikallerini temizlediğini ilk kez göstermiştir (78).

Al Ghamdi ve arkadaşları streptozotosin (STZ) ile indüklenen tip 1 diyabetik fare modelinde propolisin etanol-çözünür türevi ile tedavisinde lipid peroksidasyonunu ve kan, karaciğer ve lenfoid organlarda serbest ROS seviyesini düşürerek oksidatif stresi önemli ölçüde engellediği bulunmuştur. Propolisin oksidatif stresin iyileştirilmesi ve diyabetik komplikasyonlarının ortaya çıkmasının geciktirilmesi için güçlü bir anti-oksidan olduğu düşünülmüştür (79).

Bonamigo ve arkadaşlarının yapmış olduğu in vitro çalışmada Brezilya'da bulunan iğnesiz arılardan (*Scaptotrigona depilis* ve *Melipona quadrifasciata*) elde edilen propolisin etanollü ekstraktlarının 2,2'-azobis (2-aminopropan) hidroklorür (AAPH) tarafından indüklenen insan eritrositlerindeki lipid peroksidasyonuna karşı etkileri incelenmiştir. Hazırlanan % 2.5'luk eritrosit süspansiyonu öncelikle farklı konsantrasyonlardaki propolis ekstraktlarıyla 30 dk inkübe edilmiştir. Daha sonra AAPH tarafından indüklenen eritrositlerdeki lipid peroksidasyonunu en aza indirgeyen konsantrasyon 125 µg/mL bulunmuştur (14). Biz kendi çalışmamızda oksidatif hasar oluşturmak için literatür araştırmaları sonucu t-BHP kullandık. Kendi çalışmamızda indüklenen eritrositlerdeki lipid peroksidasyonunu temizleyen konsantrasyon olarak 100 µg/mL konsantrasyonu bulunmuştur. Bonamigo arkadaşları gibi bizde kendi çalışmamızda etanollü propolis ekstraktı kullanılarak lipid peroksidasyonunun engellendiği ve MDA seviyelerinin düştüğünü gözlemledik.

Valente ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada 50 mM AAPH tarafından indüklenen insan eritrositlerin de Bornes ve Fundao propolisinin metanollü ekstraktları kullanılarak lipid peroksidasyonu inhibe etme etkinlikleri gözlemlenmiştir. Lipid peroksidasyon derecesi karbonil ürünü olan MDA oluşumuyla orantılı olduğu bilinmektedir. Bornes propolis ekstraktı (5-20 µg/mL) ve Fundao propolisi (10-40 µg/mL) konsantrasyonlarında hazırlanarak % 5.2'lik eritrosit süspansiyonu üzerine uygulanmıştır. AAPH tarafından indüklenen eritrositlerde konsantrasyona bağımlı bir şekilde lipid peroksidasyonunun düştüğü gözlemlenmiştir. Lipid peroksidasyonunu maksimum indigeyen her iki propolisinde en yüksek konsantrasyonlarında (Bornes propolisi; 20 µg/mL ve Fundao propolisi; 40 µg/mL) gözlemlenmiştir. İnkübasyon ortamında bulunan propolisin polifenolik bir bileşik olmasından dolayı oluşan serbest radikallerin eritrosit zarının biyomoleküllerine saldırmadan önce sulu fazdaki peroksil radikallerini söndürdüğü düşünülmüştür (15).

Orsolice ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada propolisin suda çözünür ve etanolik ekstraktları kullanılarak diyabetik hayvanlarda alloksan kaynaklı toksisiteyi hafifletmiş ve hayatta kalma sürelerini uzatmıştır. Aynı zamanda diyabetik farelerde alloksan kaynaklı oksidatif stresi azaltarak oluşan hepatotoksisite ve nefropatiyi azaltmıştır. Bu çalışmada propolisin nefropati ve hepatotoksisite de oluşturduğu etki

diyabetik hepatorenal hasarın azaltılması propolisin preparatlarının anti-oksidatif etkisi ile olduğu düşünülmüştür (80).

Ebeid ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışma, radyoterapi uygulanan meme kanseri (BC) hastalarında propolis takviyesinin radyo-koruyucu etkisini değerlendirmek için yapılmıştır. 45 kişiden oluşturulan 3 grup; grup I (kontrol grubu yaş ve menopoz durumları benzer 45 sağlıklı kadın), grup II (kemoterapi alan 45 göğüs kanseri hastaları ardından radyoterapi almıştır), grup III (kemoterapi alan 45 göğüs kanseri hastası ardından radyasyon tedavisi ve propolis takviyesi aldı) oluşmaktadır. Grup III'de radyoterapi öncesi (400 mg propolis kapsülü, günde 3 kez) ve radyoterapi sonrası 10 gün boyunca propolis verilmiştir. Gruplardan venöz kan örneği alınarak serumlarında MDA ve TAK değerlerine bakılmıştır. Bu çalışmada, propolis uygulaması ile radyoterapinin radyasyona bağlı lipid peroksidasyonunu MDA üretimi açısından önemli ölçüde düşürdüğü ve TAK kapasitesinde anlamlı bir artışa neden olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmaya göre propolis indirgeme gücü ve antioksidan aktivitesinin kıyaslanılabilir olduğu çünkü propolisin besin değeri yüksek ve önemli miktarda polifenol içerdiği bilinmektedir (81).

Çalışmamızda kuersetin pozitif kontrol olarak kullanılmıştır ve propolis içerisinde yüksek oranda bulunduğu bilinmektedir. Bölümümüzde Çakıroğlu tarafından yapılan çalışmada ise yapılan analizde etanollü Türk propolis ekstraktında toplam bulunan flavonoid içeriğine bakılmıştır. Etanollü Türk propolis ekstraktında bulunan kuersetin konsantrasyonu 47.79 mg/g propolis olarak belirlenmiştir. Kuersetin propolis içerisinde yüksek oranda bulunduğundan dolayı çalışmamızda pozitif kontrol olarak kuersetin seçilmiştir. Kuersetin oluşan oksidatif strese karşı kuvvetli bir flavonoid olarak bilinmektedir. Kuersetin fisetin, kateşin ve mirisetine benzer şekilde flavonoid agilikondur ve 3-OH gruplarına sahip olup lipid oksidasyonunun güçlü önleyicilerindendir. Kuersetin zincir reaksiyonunun ilk adımını engelleyerek zincirin çoğalmasını durdurur (82, 83).

Bölümümüzde Yiğit tarafından yapılan çalışmada belirlenen eritrositler üzerindeki lipid peroksidasyonunu en aza indireyen kuersetin konsantrasyonu (2 µg/mL) ve aynı zamanda eritrositler üzerinde maksimum hasar oluşturan t-BHP konsantrasyonu (750 µM) kullanılmıştır (84). Çalışmamızda 2 µg/mL

konsantrasyonunda DMSO içerisinde çözünen kuersetin bileşiği kullanılmıştır. t-BHP ile hasar verilen gruba göre 2 µg/mL kuersetin ile ön muamele yapılan grupta MDA seviyesi anlamlı derece düşük bulunmuştur. Kuersetinin oluşan oksidatif strese karşı etkili bir flavonoid olduğu çalışmamızda da gözlemlenmektedir. Çalışmamızda oksidatif hasar oluşturacak t-BHP için PBS ile 50000 µM'lik ara stok hazırlanarak maksimum hasar elde edilen 750 µM t-BHP eritrositler üzerine oksidatif hasar oluşturmak için uygulanmıştır.

Yiğit tarafından bölümümüzde yapılan çalışmada t-BHP tarafından indüklenen eritrosit hücrelerinde sulu Türk propolis ekstraktının oluşan oksidatif hasara karşı olan etkileri incelenmiştir. Çalışmada yapılan konsantrasyon belirleme çalışmalarında 200 µg/mL konsantrasyondaki sulu propolis ekstraktı maksimum koruma gerçekleştirdiği tespit edilmiştir. Çalışmada MDA, SOD, CAT, TAS veTOS parametrelerine bakılmıştır. Bulunan sonuçlara göre t-BHP uygulanan eritrositlerde oluşan oksidatif stres sonucu meydana gelen serbest radikalleri sulu Türk propolisinin ortamdan süpürdüğü düşünülerek artan lipid peroksidasyonunu indirgediği gözlemlenmiştir. t-BHP ile hasar verilen eritrosit hücrelerinde artan SOD ve CAT değerleri ise ortamda bulunan serbest radikallerin fazla olmasından dolayı SOD ve CAT enzimlerinin bu etkiyi ortamdan kaldırmak için daha aktif olduğu düşünülmüştür. Hasar verildikten sonra eklenen sulu Türk propolis gruplarında enzim aktivitesinin azalması propolis içerisinde bulunan birçok antioksidan sebebiyle enzim aktivitesine katkıda bulunduğu ve bu sebepten ötürü enzim aktivitesinde azalma olduğu düşünülmüştür (84).

Gasmi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada piretroid böcek ilacı olan deltamethrin tarafından 90 gün boyunca (0.32 mg/kg/gün) indüklenen wistar sıçan beyninin (hipokampus ve striatumunda) nevrotoxisiteyi ve kuersetinin (10 mg/kg/gün) koruyucu etkilerini değerlendirmeyi amaçlanmıştır. Deltamethrine maruz kalan beynin iki kısmında da MDA seviyesi yüksek bulunmuştur, SOD aktivitesi aynı şekilde anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Kombine olarak verilen deltametrin ve kuersetin grubunda ise beynin striatum kısmında yükselen sod aktivitesi anlamlı derecede azaldığı görülmüştür. Deltamehrinin sebep olduğuVserbest radikallere karşı kuersetinin iyileştirici etkisi olduğu gözlemlenmiştir (85).

Kasmi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada difenokonazol ile indüklenen sıçanlarda kombinasyon halinde kuersetinin oral uygulanması sıçanların hepatik dokularında artmış olan MDA düzeylerini önemli ölçüde düşürmüştür. Kuersetinin serbest radikal yakalama kabiliyeti sebebiyle lipid peroksidasyonunu bastırabilir ve bu gözlem kuersetinin antiperoksidatif ve antioksidan etkilerini göstermiştir (86)

Çalışmamızda elde edilen bulgulara göre eritrosit lizatında, 100 µg/mL etanollü Türk propolis ekstrakt grubu negatif kontrole (t-BHP ilave edilen grup) göre SOD enzim aktivitesi anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Aynı şekilde 4 µg/mL kuersetin ekstrakt grubu (pozitif kontrol), negatif kontrol (t-BHP) eklenen gruba göre SOD enzim aktivitesi anlamlı derecede düşük bulunmuştur. CAT enzim aktivisinde ise ANOVA testine göre gruplar arasında anlamlı fark gözlemlenmemiştir.

SOD enzim aktivitesinin t-BHP (negatif kontrol) grubunda yüksek bulunması ve etanollü propolis ve kuersetin ile ön muamele edilen ve daha sonradan hasar verilen grupta SOD aktivitesinin azalması propolisin ve kuersetinin ortamda oluşan serbest radikalleri yüksek oranda temizlediği için SOD enziminin aktivitesine ortamda daha az ihtiyaç duyulduğu düşünülmüştür. Çalışmamızda propolis eklenen ve daha sonra hasar verilen grupta MDA seviyesinin kontrol grubundan düşük bulunması, propolisin ortamdaki lipid peroksidasyonunu ortadan kaldırması sebebiyle SOD enzim aktivitesinin antioksidan içeren gruplarda az olması beklenen bir sonuç olduğu kanaatine varılmıştır.

Song JJ ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmanın amacı, CAPE'nin kültürlenmiş insan orta kulak epitel hücreleri üzerindeki anti-inflamatuvar ve antioksidatif etkilerini değerlendirmektir. H₂O₂ ile indüklenen iltihaplanmanın CAPE tarafından doza ve zamana bağlı olarak TNF-α ve COX-2 ekspresyonunu inhibe ettiği bulunmuştur. Kültürlenmiş insan orta kulak epitel hücrelerinde H₂O₂ uyarımı ile oluşan ROS birikimi ve SOD ekspresyonunu CAPE ön mümelesiyle azalttığı görülmüştür. CAPE gibi enzimatik olmayan antioksidanların oksijensiz radikallerle reaksiyona girdiğini ve SOD gibi endojen O₂ temizleyici antioksidanlara olan talebi azalttığı sonucuna varılmıştır (87).

Enis Yonar ve arkadaşları sazanların doku ve kanlarını klorpirifoslar (CPF) tarafından indükleyerek ve aynı zamanda İç Anadolu Kayseri ilinden elle toplanan

kavak propolisinin etanol ekstraktını kullanarak oluşan olumsuz etkilere karşı propolisin rolü araştırılmıştır. Balıklar 10 gün süreyle subfetal CPF konsantrasyonlarına (0.040 ve 0.080 mg/L) ve eş zamanlı olarak kilogram başına 10 mg propolis uygulanmıştır. Kan ve doku numuneleri (karaciğer, böbrek, solungaç) toplanmıştır. Deney sonunda hematolojik parametreler, malondialdehit (MDA) seviyeleri, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitelerine bakıldı. Çalışmada CPF kaynaklı lipid peroksidasyonunda propolis ile eş zamanlı tedavide, balıklardaki farklı dokularındaki MDA seviyelerinin düşürüldüğü görülmüştür. Propolis içerisinde bulunan fenolik bileşikler ve antioksidan özellikleri sebebiyle süperoksit anyon radikal üretimini engelleyeceği düşünülmüştür. Sadece CPF'ye maruz kalan grupların karaciğer, böbrek ve solungaçlarında SOD aktivitesi önemli ölçüde artmıştır. Propolis ile birlikte verildiğinde ise SOD aktivitelerinin belirgin düzeyde normalleştiğini görmüşlerdir. SOD aktivitesindeki bu azalma, propolisin süperoksit radikal oluşumunun inhibisyonuna veya potansiyel serbest radikal süpürme aktivitesine atfedilebileceği düşünülmüştür (88).

Okutan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada streptozotosin (STZ) ile indüklenen diyabetik sıçanların kalplerinde CAPE'nin antioksidan etkisi göz önüne alınarak CAPE'nin antioksidatif etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada diyabetik sıçanlarda oksidatif stresin kalpteki MDA düzeylerinde artış meydana getirdiği ve bunun oluşan oksidatif strese cevap olarak ortaya çıktığı düşünülmüştür. CAPE ile tedavi edilen sıçanların MDA seviyeleri kontrol grubuna indirilmesi CAPE'nin antioksidan özelliğine atfedilmiştir. Diyabetik sıçan grubunun kalp dokularında artmış olması oksidatif stresin bir sebebi olabileceği düşünülmüştür. CAPE serbest oksijen radikallerinin bir toplayıcısı olabileceği ve sıçan kalbindeki oksidatif stresi önleyerek SOD ve CAT enzimlerinin yükselmesine engelleyebileceği düşünülmüştür (89).

De David ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada tiyoasetamid (TAA) ile indüklenen karaciğer toksisitesinde kuersetinin etkilerini araştırmışlardır. TAA uygulanan sıçanlarda hepatik SOD aktivitesinin belirgin bir şekilde arttığı bulunmuştur. Bununla birlikte TAA ve kuersetin alan grupta hepatic SOD aktivitesinin TAA alan gruba göre daha düşük olduğu ve kontrole yakın seviyelere düşürüldüğü gözlemlenmiştir. SOD'un artmış aktivitesi uygulanan TAA'nın öncü hücreler üzerindeki etkisini ortadan

kaldırmak sebebiyle bu aktivasyonu yansıtmakta ve oksidatif stresin büyüklüğüne ve dolayısıyla stres faktörlerinin dozuna bağlı olabileceği düşünülmüştür (90).

Rocha de Oliveria ve arkadaşları yaptığı çalışmada tarımda pestisit olarak kullanılan poliklorlu bifeniller (PCB'ler) kullanılarak sıçandaki karaciğer hasarında kuersetinin etkisi araştırılmıştır. Yapılan çalışmada PCB uygulanan grupta yapılan ölçümde TBARS değerlerindeki artış PCB'lerin membran lipidlerini değiştirebildiğini ve hücrenin normal işlevini bozduğunu düşündürmüştür. PCB ile kuersetin uygulanan grupta azalmış lipoperoksidasyon değerlerinin kuersetinin polifenolik bir bileşik olmasından dolayı serbest radikalleri etkisiz hale getirdiği düşünülmüştür. PCB grubundaki SOD aktivitesinin artmış olması hücreler üzerindeki ksenobiyotik stres oluşturmakta ve süperoksit anyonundaki artışın sebep olduğu etkileri ortadan kaldırabilmek için cevap olarak SOD aktivitesinin "saldırganlık" ve stresör dozuna bağlı olarak artmış olduğu bulunmuştur. SOD artışı, oksidatif stres artışı nedeniyle süperoksit anyonunun dismutasyonundan kaynaklanıyor olabileceği düşünülmüştür (91).

Sonuç olarak bu çalışmada ilk defa etanollü Türk propolis ekstraktının in vitro şartlarda, insan eritrosit hücrelerinde t-BHP ile indüklenmiş oksidatif hasara karşı koruyucu etkinliği ortaya konuldu. Elde edilen bulgular in vitro ve in vivo çalışmaların öncüsü niteliğindedir. Bu çalışmalardan da elde edilecek olumlu verilerle propolisin alternatif, tamamlayıcı doğal bir ürün olarak kullanılabileceğini öngörmektedir.

8. KAYNAKLAR

1. Cragg GM, Newman DJ (2013). Natural products: a continuing source of novel drug leads. *Biochim Biophys Acta* 1830: 3670-3695.
2. Kuropatnicki AK, Szliszka E, Krol W (2013). Historical aspects of propolis research in modern times. *Evid Based Complement Alternat Med* 964149: 11.
3. Bankova V (2005). Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *J Ethnopharmacol* 100: 114-117.
4. Kurek-Gorecka A, Rzepecka-Stojko A, Gorecki M, Stojko J, Sosada M, Swierczek-Zieba G (2013). Structure and antioxidant activity of polyphenols derived from propolis. *Molecules* 19: 78-101.
5. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *Int J Biomed Sci* 4: 89-96.
6. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 39: 44-84.
7. Karabulut H, Gülay MS (2016). Serbest radikaller. *MAKÜ Sag Bil Enst Derg* 4: 50-59.
8. McCord JM (1993). Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem* 26: 351-357.
9. Durmuş AS, Ünsaldı E (2005). Serbest oksijen radikalleri, antioksidanlar ve kırık iyileşmesi. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları* 3: 20-27.
10. Amanvermez R, Kazancı F, Çelik C, Alvur M, Bostancı M (2000). Deneysel korozi özefagus yanığında lipid peroksidasyon, glutatyon ve total tiol düzeyleri. *O.M.Ü. Tıp Dergisi* 17: 236-239.
11. Lima CF, Fernandes-Ferreira M, Pereira-Wilson C (2006). Phenolic compounds protect HepG2 cells from oxidative damage: relevance of glutathione levels. *Life sci* 79: 2056-2068.
12. Smart RC, Hodgson E (2008). *Molecular and biochemical toxicology*. Wiley fourth edition, p. 3423.

13. Maurya PK, Kumar P, Chandra P (2015). Biomarkers of oxidative stress in erythrocytes as a function of human age. *World J Methodol* 5: 216-222.
14. Bonamigo T, Campos JF, Alfredo TM, Balestieri JB, Cardoso CA, Paredes-Gamero EJ, de Picoli Souza K, Dos Santos EL (2017). Antioxidant, cytotoxic, and toxic activities of propolis from two native bees in Brazil: *scaptotrigona depilis* and *melipona quadrifasciata anthidioides*. *Oxid Med Cell Longev*; 1038153: 12
15. Valente MJ, Baltazar AF, Henrique R, Estevinho L, Carvalho M (2011). Biological activities of Portuguese propolis: protection against free radical-induced erythrocyte damage and inhibition of human renal cancer cell growth in vitro. *Food Chem Toxicol* 49: 86-92.
16. Demir S (2010). Propolis ekstraktlarının fibroblast hücre serilerinde H₂O₂ ile uyarılmış DNA hasarı (genotoksisite) üzerine etkisinin comet assay yöntemi ile araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
17. Khalil ML (2006). Biological activity of bee propolis in health and disease. *Asian Pac J Cancer Prev* 7: 22-31.
18. Burdock GA (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food Chem Toxicol* 36: 347-363.
19. Juliano C, Pala CL, Cossu M (2007). Preparation and characterisation of polymeric films containing propolis. *J Drug Del Sci Tech* 17: 177-181.
20. Zheng YZ, Zhou Y, Liang Q, Chen DF, Guo R (2016). A theoretical study on the hydrogen-bonding interactions between flavonoids and ethanol/water. *J Mol Model* 22:95.
21. Silici S, Kutluca S (2005). Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *J Ethnopharmacol* 99: 69-73.
22. Wagh VD (2013). Propolis: a wonder bees product and its pharmacological potentials. *Adv Pharmacol Sci*; 308249: 11.

23. Çolak M (2009). Arı poleni ve propolisin metastatik insan prostat kanseri hücre serilerinde voltaj kapılı sodyum kanalları ekspresyonu üzerine etkisi. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
24. Turan İ (2011). Türk propolis ekstraktlarının fibroblast hücre serilerinde genotoksisite üzerinde etkisinin DNA tamir enzimleri vasıtasıyla incelenmesi. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
25. Şahinler N (2000). Arı ürünleri ve İnsan Sağlığı Açısından Önemi. MKÜ Ziraat Fakültesi Dergisi 5: 139-148.
26. Cheng H, Qin ZH, Guo XF, Hu XS, Wu JH (2013). Geographical origin identification of propolis using GC-MS and electronic nose combined with principal component analysis. Food Research Int 51: 813-822.
27. Sforcin JM (2007). Propolis and the immune system: a review. J Ethnopharmacol 113: 1-14.
28. Yousef MI, Kamel KI, Hassan MS, El-Morsy AM (2010). Protective role of propolis against reproductive toxicity of triphenyltin in male rabbits. Food Chem Toxicol 48: 1846-1852.
29. Lairon D, Amiot MJ (1999). Flavonoids in food and natural antioxidants in wine. Curr Opin Lipidol 10: 23-28.
30. Pietta PG (2000). Flavonoids as antioxidants. J Nat Prod 63: 1035-1042.
31. Merken HM, Beecher GR (2000). Measurement of food flavonoids by high-performance liquid chromatography: A review. J Agric Food Chem. 48: 577-599.
32. D'Archivio M, Filesì C, Benedetto RD, Gargiulo R, Giovannini C, Masella R (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. Ann Super Sanita 43: 348-361.
33. Jasprica I, Mornar A, Debeljak Z, Smolcic-Bubalo A, Medic-Saric M, Mayer L, Romic Z, Bucan K, Balog T, Sobocanec S, Sverko V (2007). In vivo study of propolis supplementation effects on antioxidative status and red blood cells. J Ethnopharmacol 110: 548-554.

34. Kolankaya D, Selmanoğlu G, Sorkun K, Salih B (2002). Protective effects of Turkish propolis on alcohol-induced serum lipid changes and liver injury in male rats. *Food Chem* 78: 213-217.
35. Volpi N, Bergonzini G (2006). Analysis of flavonoids from propolis by on-line HPLC-electrospray mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal* 42: 354-361.
36. Campos MG, Cunha A, Markham KR (1997). Bee products chemical composition and application. New York Plenum Press, pp. 93-100.6725.
37. Duran GG (2007). In vitro koşullarda propolisin antibakteriyel, antifungal ve leyiş-manyasidal etkilerinin araştırılması. Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Hatay.
38. El Menyiy N, Al Waili N, Bakour M, Al-Waili H, Lyoussi B (2016) Protective effect of propolis in proteinuria, crystaluria, nephrotoxicity and hepatotoxicity induced by ethylene glycol ingestion. *Arch Med Res* 47: 526-534.
39. Cardoso EO, Conti BJ, Santiago KB, Conte FL, Oliveira LP, Hernandez RT, Golim MA, Sforcin JM (2017). Phenolic compounds alone or in combination may be involved in propolis effects on human monocytes. *J Pharm Pharmacol* 69: 99-108.
40. Tartik M, Darendelioglu E, Aykutoglu G, Baydas G (2016). Turkish propolis suppresses MCF-7 cell death induced by homocysteine. *Biomed Pharmacother* 82: 704-712.
41. Sun GW, Qiu ZD, Wang WN, Sui X, Sui DJ (2016). Flavonoids Extraction from Propolis Attenuates Pathological Cardiac Hypertrophy through PI3K/AKT Signaling Pathway. *Evid Based Complement Alternat Med* 6281376: 11.
42. Wang XQ, Gao F, Zhang XZ (2017). Initiator loaded gold nanocages as light-induced free radical generator for cancer therapy. *Angew Chem Int Ed Engl* 56: 9029-9033.
43. Wojtunik-Kulesza KA , Oniszczyk A , Oniszczyk T , Waksmundzka-Hajnos M (2016). The influence of common free radicals and antioxidants on development of Alzheimer's Disease. *Biomed Pharmacother* 78: 39-49.

44. Kumar RS, Narasingappa RB, Joshi CG, Girish TK, Prasada Rao UJ, Danagoudar A (2017). Evaluation of *Cassia tora* Linn. against Oxidative Stress-induced DNA and Cell Membrane Damage. *J Pharm Bioallied Sci* 9: 33-43.
45. Tan LT, Chan KG, Khan TM, Bukhari SI, Saokaew S, Duangjai A, Pusparajah P, Lee LH, Goh BH (2017). *Streptomyces* sp. MUM212 as a source of antioxidants with radical scavenging and metal chelating properties. *Front Pharmacol* 8:276.
46. Halliwell B (1994). Free Radicals and antioxidants: A personal view. *Nutr Rev* 52: 253-265.
47. Özden S (2006). Bazı pestisidlerin oksidatif stres oluşturma potansiyellerinin ve antioksidan sistemler üzerine etkilerinin sıçanlarda araştırılması. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
48. Poprac P, Jomova K, Simunkova M, Kollar V, Rhodes CJ, Valko M (2017). Targeting free radicals in oxidative stress-related human diseases. *Trends Pharmacol Sci* 38: 592-607.
49. Gupta RK, Patel AK, Shah N, Chaudhary AK, Jha UK, Yadav UC, Gupta PK, Pakuwal U (2014). Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: a review. *Asian Pac J Cancer Prev* 15: 4405-4409.
50. Patlevic P, Vaskova J, Svorc P Jr, Vasko L, Svorc P (2016). Reactive oxygen species and antioxidant defense in human gastrointestinal diseases. *Integr Med Res* 5: 250-258.
51. Amir Aslani B, Ghobadi S (2016). Studies on oxidants and antioxidants with a brief glance at their relevance to the immune system. *Life Sci* 146: 163-173.
52. Arulselvan P, Fard MT, Tan WS, Gothai S, Fakurazi S, Norhaizan ME, Kumar SS (2016). Role of Antioxidants and natural products in inflammation. *Oxid Med Cell Longev*; 5276130.
53. Loperena R, Harrison DG (2017). Oxidative stress and hypertensive diseases. *Med Clin North Am* 101: 169-193.

54. Cai Y, Luo Q, Sun M, Corke H (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci* 74: 2157-2184.
55. Ahmadinejad F, Geir Moller S, Hashemzadeh-Chaleshtori M, Bidkhor G, Jami MS (2017). Molecular mechanisms behind free radical scavengers function against oxidative stress. *Antioxidants (Basel)* pii: E51.
56. Sorg O (2004). Oxidative stress: A theoretical model or a biological reality? *C R Biol* 327: 649-662.
57. Catala A (2009). Lipid peroxidation of membrane phospholipids generates hydroxy-alkenals and oxidized phospholipids active in physiological and/or pathological conditions. *Chem and Phys of Lipids* 157: 1-11.
58. Ayala A, Munoz MF, Arguelles S (2014). Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev* 14: 360-438.
59. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev* 4: 118–126.
60. Bjorklund G, Chirumbolo S (2017). Role of oxidative stress and antioxidants in daily nutrition and human health. *Nutrition* 33: 311-321.
61. Emrah Çaylak (2011). Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi* 9: 73-83.
62. Rahman K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin Interv Aging* 2: 219–236.
63. Kulikowska-Karpinska E, Moniuszko-Jakoniuk J (2004). The antioxidative barrier in the organism. *Pol J Environ Stud* 13: 5-13.
64. Jiao Y, Wang Y, Guo S, Wang G (2017). Glutathione peroxidases as oncotargets. *Oncotarget* 8: 80093-80102.
65. Ekoue DN, He C, Diamond AM, Bonini MG (2017). Manganese superoxide dismutase and glutathione peroxidase-1 contribute to the rise and fall of

- mitochondrial reactive oxygen species which drive oncogenesis. *Biochim Biophys Acta* 1858: 628-632.
66. Xiao BH, Shi M, Chen H, Cui S, Wu Y, Gao XH, Chen HD (2016). Glutathione peroxidase level in patients with vitiligo: A Meta-Analysis. *Biomed Res Int*; 3029810.
 67. Şentürk A (2015). Oksidatif olarak modifiye edilmiş karbonik anhidraza karşı otoantikor oluşumunun ve bu antikorların bazı romatoid hastalıklarla ilişkisinin incelenmesi. Doktora tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
 68. Sun Y, Oberley LW, Li Y (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinic Chem* 34: 497-500.
 69. Goth L (1991). A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clin Chimica Acta* 196: 143-151.
 70. Stocks J, Dormandy TL (1971). The autoxidation of human red cell lipids induced by hydrogen peroxide. *Br J Haematol* 20: 95-111.
 71. Erel O (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 38: 1103-1111.
 72. Erel O (2004). A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem* 37: 277-285.
 73. Pasupuleti VR, Sammugam L, Ramesh N, Gan SH (2017). Honey, propolis, and royal jelly: a comprehensive review of their biological actions and health benefits. *Oxid Med Cell Longev* 1259510.
 74. Yonar SM, Ural MŞ, Silici S, Yonar ME (2014). Malathion-induced changes in the haematological profile, the immune response, and the oxidative/antioxidant status of *Cyprinus carpio carpio*: protective role of propolis. *Exotoxicol Environ Saf* 102: 202-209.
 75. Roy A, Sil PC (2012). Tertiary butyl hydroperoxide induced oxidative damage in mice erythrocytes: Protection by taurine. *Pathophysiology* 19: 137-148.

76. Abo-Salem OM, El-Edel RH, Harisa GE, El-Halawany N, Ghonaim MM (2009). Experimental diabetic nephropathy can be prevented by propolis: Effect on metabolic disturbances and renal oxidative parameters. *Pak J Pharm Sci* 22: 205-210.
77. Ming M, Guanhua L, Zhanhai Y, Guang C, Xuan Z (2009). Effect of the *Lycium barbarum* polysaccharides administration on blood lipid metabolism and oxidative stress of mice fed high-fat diet in vivo. *Food Chemist* 113: 872-877.
78. Lee KJ, Choi JH, Hwang YP, Chung YC, Jeong HG (2008). Protective effect of caffeic acid phenethyl ester on tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative hepatotoxicity and DNA damage. *Food Chem Toxicol* 46: 2445-2450.
79. Al Ghamdi AA, Badr G, Hozzein WN, Allam A, Al-Waili NS, Al-Wadaan MA, Garraud O (2015). Oral supplementation of diabetic mice with propolis restores the proliferation capacity and chemotaxis of B and T lymphocytes towards CCL21 and CXCL12 by modulating the lipid profile, the pro-inflammatory cytokine levels and oxidative stress. *BMC Immunol* 16: 54.
80. Oršolić N, Sirovina D, Končić MZ, Lacković G, Gregorović G (2012). Effect of Croatian propolis on diabetic nephropathy and liver toxicity in mice. *BMC Complement Altern Med* 12: 117.
81. Ebeid SA, Abd El Moneim NA, El-Benhawy SA, Hussain NG, Hussain MI (2016). Assessment of the radioprotective effect of propolis in breast cancer patients undergoing radiotherapy. New perspective for an old honey bee product. *J Radiation Res Appl Sci* 9: 431-440.
82. Mlcek J, Jurikova T, Skrovankova S, Sochor J (2016). Quercetin and Its Anti-Allergic Immune Response. *Molecules* pii: E623.
83. Çakıroğlu TN (2010). Çeşitli çözücülerde Türk propolisinin çözünürlüğünün incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
84. Yiğit E (2017). Sulu Türk propolis ekstraktının t-BHP ile uyarılmış oksidatif hasara karşı koruyucu etkisinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.

85. Gasmi S, Rouabhi R, Kebieche M, Boussekine S, Salmi A, Toualbia N, Taib C, Bouteraa Z, Chenikher H, Henine S, Djabri B (2017). Effects of Deltamethrin on striatum and hippocampus mitochondrial integrity and the protective role of Quercetin in rats. *Environ Sci Pollut Res Int* 24: 16440-16457.
86. Kasmi S, Bkhairia I, Harrabi B, Mnif H, Marrakchi R, Ghazzi H, Kallel C, Nasri M, Zeghal K, Jamoussi K, Hakim A (2018). Modulatory effects of quercetin on liver histopathological, biochemical, hematological, oxidative stress and DNA alterations in rats exposed to graded doses of score 250. *Toxicol Mech Methods* 28: 12-22.
87. Song JJ, Lim HW, Kim K, Kim KM, Cho S, Chae SW (2012). Effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on H₂O₂ induced oxidative and inflammatory responses in human middle ear epithelial cells. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 76: 675-679.
88. Enis Yonar M, Yonar SM, Ural MS, Silici S, Dusukcan M (2012). Protective role of propolis in chlorpyrifos-induced changes in the haematological parameters and the oxidative/antioxidative status of *Cyprinus carpio carpio*. *Food Chem Toxicol* 50: 2703-2708.
89. Okutan H, Ozcelik N, Yilmaz HR, Uz E (2005). Effects of caffeic acid phenethyl ester on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in diabetic rat heart. *Clin Biochem* 38: 191-196.
90. de David C, Rodrigues G, Bona S, Meurer L, Gonzalez-Gallego J, Tunon MJ, Marroni NP (2011). Role of quercetin in preventing thioacetamide-induced liver injury in rats. *Toxicol Pathology* 39: 949-957.
91. Rocha de Oliveira C, Ceolin J, Rocha de Oliveira R, Goncalves Schemitt E, Raskopf Colares J, De Freitas Bauermann L, Hilda Costabeber I, Morgan-Martins MI, Mauriz JL, Da Silva J, Reyes JM, Possa Marroni N (2014). Effects of quercetin on polychlorinated biphenyls-induced liver injury in rats. *Nutr Hosp* 29: 1141-1148.

9. EKLER

Ek 1. Deneyde kullanılacak Etanollü Türk Propolis Ekstraktının Konsantrasyonunun Belirlenmesi

	Kontrol	50 µg/mL propolis	100 µg/mL propolis	250 µg/mL propolis	350 µg/mL propolis	500 µg/mL propolis	Negatif Kontrol (t-BHP)
MDA (nmol/g Hb)	6 ±0.69	21 ±2.70	6 ± 0.39	7 ± 6.18	210 ± 24	108 ± 9.14	656 ± 24.9

Ek 2. Gönüllü Onam Formu

	ASGARİ BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	
---	---	---

Ben Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesinde yürütülmekte olan “Çeşitli arı ürün ve bitki ekstraktlarının H_2O_2 ve/veya t-BHP ile uyarılmış oksidatif hasara karşı koruyucu etkilerinin incelenmesi” adlı araştırmaya denek olarak katılmayı gönüllülükle kabul ediyorum.

Bana, Arş. Gör. Kübra AKBULUT tarafından doğal antioksidan maddelerin vücuttaki antioksidan sisteme olan katkısı ve önemi anlatıldı. Bu çalışmada geleneksel tedavi amaçlı olarak kullanılan doğal ürünlerin (propolis, polen, arı sütü ve çeşitli bitkilerin) oksidan hasara karşı koruyuculuğunun araştırılacağı ve beklenen sonuçların alınması halinde bu doğal ürünlerin kullanımının oksidatif hasarla ilişkili hastalıkların tedavisinde ve/veya önlenmesinde kullanılabilirliğinin önünün açılacağı vurgulandı.

Yapılacak olan bu çalışma için bir defaya mahsus bir gecelik açlık sonrasında kan vereceğim, farklı olarak herhangi bir işlem uygulanmayacağı ve daha sonra bu kanlarda, konu ile ilgili biyokimyasal analizler yapılacağı anlatıldı.

Kan alma işlemi esnasında gözlenebilecek istenmeyen etkiler arasında bayılma, ağrı ve/veya morarma gibi olası bir soruna karşı gerekli tedbirlerin alınacağı, doktoruma haber vererek araştırmadan çekilme hakkım olduğumu ve kendimle ilgili bir olumsuzluk hissettiğimde Arş. Gör. Kübra AKBULUT’ a (05399877262) nolu telefondan 24 saat ulaşabileceğimi biliyorum.

Araştırmanın 15 kişiyi kapsayan bir çalışma olduğumu biliyorum.

Araştırma sonuçlarının, eğitim ya da bilimsel amaçlarla kullanılması sırasında benim mahremiyetime saygı gösterileceğine inanıyorum. Gönüllü olarak katılmaya karar verdiğim araştırmanın ekonomik sorumluluğunun bana ait olmadığını biliyorum.

Bu açıklamaları anladım ve gönüllülükle bu onamı verdim. Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.

Tanık / Vekil :	Hasta/Denegin :
Adı Soyadı :	Adı Soyadı :
İmzası :	İmzası :
Telefonu :	Adresi :
	Telefon :

Aydınlatılan Hekim Adı Soyadı ve İmzası:

10. ETİK KURUL ONAYI



T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
KTÜ TIP FAKÜLTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL
BAŞKANLIĞI

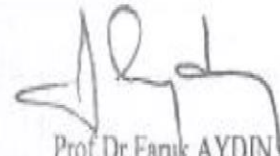
Sayı : 24237859-673
Konu: Etik kurul onay belgesi

01/12/2016

Sayın; Prof.Dr.Orhan DEĞER
Tıbbi Biyokimya ABD.

“Çeşitli Arı Ürün ve Bitki Ekstraktlarının H_2O_2 ve/veya t-BHP ile Uyarılmış Oksidatif Hasara Karşı Koruyucu Etkilerinin İncelenmesi” başlıklı etik kurul 2016/163 no.lu çalışması raporör ve etik kurul görüşleri doğrultusunda; tıbbi etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilginizi ve gereğini rica ederim.


Prof.Dr.Faruk AYDIN
Etik kurul Başkanı

10. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Soyadı, Adı	AYGÜN, Pınar
Uyruğu	T.C. , KKTC
Doğum tarihi ve yeri	26.05.1991

E-Posta	292842@ogr.ktu.edu.tr
---------	-----------------------

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	KTÜ, Tıbbi Biyokimya	2014-2018
Lisans	KTÜ, Kimya	2009-2013

YABANCI DİL	İngilizce
-------------	-----------