

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

RATLARDA OLUŞTURULAN KRONİK OBSTRÜKTİF AKCİĞER HASTALIĞI
(KOAİ) ÜZERİNE FARKLI KEKİK EKSTRAKTARI VE KEKİK BALININ
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Fadime OVALI

DOKTORA TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Hüsamettin VATANSEV

KONYA-2025

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

RATLARDA OLUŞTURULAN KRONİK OBSTRÜKTİF AKCİĞER HASTALIĞI
(KOAİ) ÜZERİNE FARKLI KEKİK EKSTRAKTARI VE KEKİK BALININ
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Fadime OVALI

DOKTORA TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Hüsamettin VATANSEV

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü
tarafından 23212034 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2025

ÖNSÖZ

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Hüsamettin VATANSEV yürütücülüğünde hazırlanmış olup, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne doktora tezi olarak sunulmuştur. YÖK 100/2000 doktora bursu ile de desteklenmiştir.

Hayatımın her anında bana yol gösteren, her konuda destek olan, bana inanan ve güvenen, hakkını asla ödeyemeyeceğim çok sevgili danışmanım, manevi babam, değerli büyüğüm Prof. Dr. Hüsamettin VATANSEV'e teşekkürlerimi sunuyorum.

Ders dönemim ve tez dönemim boyunca desteğini esirgemeyen, her konuda fikrine başvurabileceğim Prof. Dr. Bahadır ÖZTÜRK'e teşekkür ederim.

Ders dönemim boyunca büyük katkıları olan Prof. Dr. Ali ÜNLÜ, Prof. Dr. Abdullah SİVRİKAYA, Prof. Dr. F.Hümeyra YERLİKAYA AYDEMİR, Prof. Dr. Esmâ MENEVŞE, Prof. Dr. Sedat ABUŞOĞLU ve Doç. Dr. Ramazan KOCABAŞ'a teşekkür ederim.

Tez çalışmamın tasarımı, deneysel protokoller ve sonrasında çok büyük desteği olan Doç. Dr. Bayram ÇOLAK'a ve Doç. Dr. İsmail HARMANKAYA'ya teşekkür ederim.

Dostluğuyla hep yanımda olan, her türlü desteği veren çok değerli arkadaşım Dr. Öğrt. Üyesi Fatma ŞENGÜL BAĞ'a teşekkür ederim.

Her konuda yardım isteyebileceğim, desteğini esirgemeyen, yol gösteren Dr. Öğrt. Görevlisi Hakan VATANSEV'e, tez çalışmalarım boyunca hep yardımcı olan destek veren Tuğba KUNDAKÇI, Büşra TOK, Fatma AKAT, Eissa ALMAGHREBİ ve tüm SÜDAM çalışanlarına teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca beni hep destekleyen, bu yolda ilerlememi sağlayan, bana hep güvenen en büyük destekçilerim annem Meliha ERÖZTÜRK ve abim Haceli OVALI'ya, bu yolda bana en büyük motivasyon olan, varlığı ve sevgisiyle beni hep destekleyen müstakbel eşim Bülent ÖZÇAKMAK'a çok teşekkür ederim.

Fadime OVALI

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
ÖZET	x
SUMMARY	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı.....	3
1.1.1. KOAH Epidemiyolojisi	3
1.1.2. KOAH Etiyolojisi	4
1.1.3. KOAH Patolojisi	5
1.1.4. KOAH Patogenezi	7
1.1.5. KOAH Patofizyolojisi.....	8
1.1.6. Sitokinlerin KOAH'taki Önemi	10
1.1.7. MMP-9 ve TIMP-1'in KOAH'taki Rolü	15
1.1.8. HMGB1'in KOAH'taki Rolü.....	16
1.1.9. KOAH'ta T Hücrelerinin Önemi ve İmmun Yanıt.....	20
1.1.10. KOAH'ın Tedavisi	21
1.2. Kekik.....	23
1.3. Origanum onites L.....	24
1.3.1. <i>Origanum onites L.</i> 'nin Kimyasal İçeriği	24
1.3.2. <i>Origanum onites L.</i> 'in Tıbbi Kullanımı	25
1.4. Origanum minutiflorum	26
1.4.1. Origanum minutiflorum'un Kimyasal İçeriği	26
1.4.2. Origanum minutiflorum'un Tıbbi Kullanımı	27
1.5. Bal	28
1.5.1. Kekik Balı	29

2. GEREÇ VE YÖNTEM	31
2.1. Gereçler	31
2.1.1. Sarf Malzemeler	31
2.1.2. Kullanılan Kimyasallar	31
2.1.3. Kullanılan Cihazlar	32
2.2. Yöntem	32
2.2.1. Bitki Ekstraksiyonu	32
2.2.2. <i>Origanum onites L. Ve Origanum minutiflorumun</i> Uçucu Yağ, Fenolik Madde ve Organik Asit İçeriğinin Belirlenmesi	33
2.2.3. DDPH ile Balın Serbest Radikal Temizleme Aktivitesi Tayini..	35
2.2.4. Deney Grupları	36
2.2.5. KOAH Oluşturma Protokolü	37
2.2.6. KOAH Protokolünün Doğrulanması	38
2.2.7. Grupların Tedavisi ve Uygulanan İşlemler	39
2.2.8. Venöz Kan Gazı Analizi	41
2.2.9. Akım Sitometri ile CD3 ⁺ , CD4 ⁺ ve CD8 ⁺ Analizi	42
2.2.10. ELISA ile IL-1 α , IL-33, HMGB1, MMP9 ve TIMP1 Analizi.	43
2.2.11. Histopatolojik İnceleme	47
2.2.12. İstatistiksel Analiz	49
3. BULGULAR	50
3.1. <i>Origanum onites L. Ve Origanum minutiflorumun</i> Uçucu Yağ Analizi Sonuçları	50
3.2. <i>Origanum onites L. Ve Origanum minutiflorumun</i> Fenolik Madde Analizi Sonuçları	51
3.3. <i>Origanum onites L. ve Origanum minutiflorumun</i> Organik Asit Analizi Sonuçları	52
3.4. Balın Serbest Radikal Temizleme Aktivitesi	52

3.5.	KOAH Protokolünün Doğrulanması.....	54
3.5.1.	Kan Gazı Analizi Sonuçları	54
3.5.2.	Histopatolojik İnceleme	55
3.6.	Ratların Deneyde İlk Gün ve Son Gün Ağırlıkları.....	56
3.7.	Akım Sitometri Sonuçları	57
3.8.	Kan Gazı Analizi Sonuçları.....	58
3.10.	ELISA Test Sonuçları.....	61
3.11.	Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları.....	69
4.	TARTIŞMA.....	76
4.1.	Kan Gazları	77
4.2.	T hücreleri (CD3 ⁺ , CD4 ⁺ , CD8 ⁺)	81
4.3.	HMGB1, IL-1 α , IL33 Düzeyleri.....	87
4.4.	MMP-9 ve TIMP-1 Düzeyleri.....	98
4.5.	Histopatolojik Değerlendirme	109
4.6.	Origanum onites L. ve Origanum minutiflorumun Fitokimyasal İçeriği.....	114
4.7.	Origanum Türleri ve Balın KOAH Üzerine Olası Etkileri	119
5.	SONUÇ ve ÖNERİLER.....	127
6.	KAYNAKLAR.....	129
7.	EKLER.....	140
	EK-A: Etik Kurul Kararı	140
	EK-B: İntihal Raporu.....	141
8.	ÖZGEÇMİŞ.....	142

SİMGELER VE KISALTMALAR

α:	Alfa
ARDS:	Akut solunum sıkıntısı sendromu
BALF:	Bronkoalveoler lavaj sıvısı
BHA:	Bütül hidroksianisol
BHT:	Bütül hidroksitoluen
β:	Beta
CD3:	CD3 total T hücresi
CD4:	CD4 yardımcı T hücresi
CD8:	CD8 sitotoksik T hücresi
Cm:	Santimetre
CO₂:	Karbondioksit
CS:	Sigara dumanı
Dex:	Deksmetomidin
Dk:	Dakika
DMAH:	Düşük moleküler ağırlıklı Heparin
ECM:	Ekstraselüler matriks
EDTA:	Etilendiamintetraasetik asit
ELISA:	Enzim bağlantılı immünosorbent testi
EP:	Elastin peptidleri
FEV1:	Birinci saniyedeki zorlu ekspiratuvar volüm

FRC:	Fonksiyonel rezidüel kapasite
FVC:	Zorunlu vital kapasite
GR:	Glukokortikoid reseptör
gr:	Gram
H&E:	Hematoksilen-eozin
H₂CO₃:	Karbonik asit
HCO₃⁻:	Bikarbonat
HMGB1:	Yüksek hareketlilik grubu kutusu 1
ICAM-1:	Hücreler arası yapışma molekülü-1
ICS:	İnhale kortikosteroidler
IL-10:	İnterlökin-10
IL-1β:	İnterlökin-1 β
IL-1α:	İnterlökin-1 α
IL-1RAcP:	İnterlökin-1 reseptör aksesuar proteini
IL-33:	İnterlökin-33
IL-6:	İnterlökin-6
IL-8:	İnterlökin-8
ILC2:	Tip 2 doğal lenfoid hücreler
IRAK:	İnterlökin-1 reseptör ilişkili kinaz
JAK-1:	Janus kinazı 1
JNK:	c-Jun N-terminal Kinaz

Kg:	Kilogram
KOAH:	Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
L:	Litre
LPS:	Lipopolisakkarit
LTB4:	Lökotrien B4
MAPK:	Mitojenle aktifleşen protein kinaz
µL:	Mikrolitre
mL:	Mililitre
MMP:	Matris metalloproteinaz
mRNA:	mesajcı ribonükleik asit
MYD88:	Miyeloid farklılaşma birincil proteini 88
NaCl:	Sodyum klorür
NFκB:	Nükleer faktör kappa B
ng:	Nanogram
NLRP3:	NOD-benzeri reseptör ailesi, pirin domain içeren 3
NO₂:	Nitrojen dioksit
°C:	Santigrat derece
PAF:	Birincil hava yolu fibroblastları
PBS:	Fosfat tamponu
pCO₂:	Parsiyel karbondioksit basıncı
pH:	Potansiyel hidrojen

pO₂:	Parsiyel oksijen basıncı
PEEP:	Pozitif son ekspirasyon basıncı
PPAR-γ:	Peroksisom proliferatörle aktive edilen reseptör gama
PPE:	Domuz pankreatik elastaz
RAGE:	İleri glikasyon son ürünlerinin reseptörü
ROS:	Reaktif oksijen türleri
RT-PCR:	Ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu
sO₂:	Oksijen satürasyonu
ST2:	IL-33 reseptör
Th:	T yardımcı
TIMP:	Matriks metalloproteinaz doku inhibitörleri
TLR4:	Toll benzeri reseptör 4
TNFα:	Tümör nekroz faktör α
TRAF-6:	Tümör nekroz faktörü reseptör ilişkili faktör 6
TÜİK:	Türkiye istatistik kurumu
U:	Unit
UV:	Ultraviyole
VEGF:	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
%:	Yüzde

ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ratlarda Oluşturulan Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAH) Üzerine
Farklı Kekik Ekstraktları ve Kekik Balının Etkilerinin Araştırılması

Fadime OVALI

DOKTORA TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Prof. Dr. Hüsamettin VATANSEV

KONYA-2025

Bu çalışmanın amacı, *Origanum onites L*, *Origanum minutiflorum* ve balın KOAH üzerine etkilerini araştırmaktır. Kontrol (n=6), sham (n=8), Dağ kekiği (n=8), Yayla kekiği (n=8) ve Bal (n=8) olarak gruplar oluşturuldu. 15 günlük Kekik türleri ve bal uygulaması sonrası CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ düzeyleri, kan gazları (pH, pCO₂, pO₂, HCO₃⁻, sO₂), IL-1 α , IL-33, HMGB1, MMP-9, TIMP-1 düzeyleri ve histopatolojik bulgular değerlendirildi. CD3⁺ ($p=0,017$) ve CD8⁺ ($p=0,03$) düzeyleri gruplar arasında anlamlı farklılık gösterirken, CD4⁺ düzeylerinde anlamlı fark bulunamadı ($p=0,33$). Kan gazı ölçümlerinde, sham grubunda pH ($p=0,005$) ve pCO₂ ($p=0,018$) değerleri tedavi sonrasında kötüleşme eğilimi gösterirken, tedavi gruplarında pH düzeldi (Dağ kekiği $p=0,015$; Yayla kekiği $p=0,012$; Bal $p=0,007$) ve pCO₂ azaldı (Dağ kekiği $p=0,048$; Yayla kekiği $p=0,001$). Dağ kekiği ($p=0,012$) ve Bal grubunda ($p=0,013$) pO₂ seviyeleri anlamlı şekilde artarken, Yayla kekiği grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p=0,072$). Bal grubunda sO₂'de önemli artış görüldü ($p=0,024$). Yayla kekiği grubunun IL-1 α düzeylerinde sham ve kontrol grubuna kıyasla anlamlı düşüşü ($p<0,05$), IL-33 düzeylerinde ise Yayla kekiği grubu ve Bal grubunun sham grubundan istatistiksel olarak farklı olduğu ($p<0,05$) gözlemlendi. HMGB1 düzeyleri sham grubunda diğer gruplara göre anlamlı derecede yükseldi ($p<0,05$). MMP-9 sham grubunda en yüksek olup, tedavi gruplarında anlamlı şekilde düşerken ($p<0,05$), TIMP-1 en yüksek Bal grubunda, en düşük sham grubunda bulundu. Sham ve Bal grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$). Histopatolojik incelemede, amfizem derecesi sham grubunda en yüksek, Bal grubunda en düşük bulundu ($p<0,05$). Tüm tedavi gruplarında inflamasyon skorları sham grubuna oranla düşme eğilimindeydi ($p>0,05$). Lenfoid birikim sadece sham grubunda görülürken, fibrozis ve granülom hiçbir grupta tespit edilmedi. Kekik türleri ve bal ile tedavi, deneysel KOAH modelinde inflamasyon, proteaz-antiproteaz dengesi ve gaz değişimi parametrelerini iyileştirmede önemli potansiyel göstermiştir. Özellikle Yayla kekiği grubu, IL-1 α ve MMP-9 düşüşüyle ön plana çıkarken, bal grubu TIMP-1 artışı ve amfizem skorundaki azalmada etkili olmuştur. Bu sonuçlar, doğal ürünlerin KOAH patogenezinde destekleyici veya tamamlayıcı tedavi stratejisi olabileceğine işaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler: KOAH, *origanum onites L*, *origanum minutiflorum*

SUMMARY

REPUBLIC OF TURKIYE

SELCUK UNIVERSITY

HEALTH SCIENCES INSTITUTE

Investigation of the Effects of Different Thyme Extracts and Thyme Honey on
Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) Induced in Rats

Fadime OVALI

PhD THESIS

DEPARTMENT OF MEDICAL BIOCHEMISTRY

Prof. Dr. Hüsamettin VATANSEV

KONYA-2024

The objective of this study is to investigate the effects of *Origanum onites* L., *Origanum minutiflorum*, and honey on chronic obstructive pulmonary disease (COPD). The study groups were classified as follows: Control (n=6), Sham (n=8), *Origanum onites* L. (n=8), *Origanum minutiflorum* (n=8), and Honey (n=8). After a 15-day treatment with origanum species and honey, the levels of CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, blood gas parameters (pH, pCO₂, pO₂, HCO₃⁻, sO₂), IL-1 α , IL-33, HMGB1, MMP-9, and TIMP-1 were evaluated, along with histopathological findings. Significant differences were observed between the groups in CD3⁺ ($p=0.017$) and CD8⁺ ($p=0.03$) levels, whereas no significant difference was found in CD4⁺ levels ($p=0.33$). In blood gas measurements, the sham group exhibited a tendency toward deterioration in pH ($p=0.005$) and pCO₂ ($p=0.018$) values after treatment, whereas in the treatment groups, pH improved (*Origanum onites* L. $p=0.015$; *Origanum minutiflorum* $p=0.012$; Honey $p=0.007$) and pCO₂ decreased (*Origanum onites* L. $p=0.048$; *Origanum minutiflorum* $p=0.001$). A significant increase in pO₂ levels was observed in the *Origanum onites* L. ($p=0.012$) and Honey ($p=0.013$) groups, whereas no statistically significant difference was found in the *Origanum minutiflorum* ($p=0.072$). The Honey group showed a significant increase in sO₂ levels ($p=0.024$). The IL-1 α levels in the *Origanum minutiflorum* showed a significant decrease compared to the sham and control groups ($p<0.05$). IL-33 levels were significantly different between the *Origanum minutiflorum* and Honey groups compared to the sham group ($p<0.05$). HMGB1 levels were significantly higher in the sham group than in other groups ($p<0.05$). MMP-9 levels were highest in the sham group but significantly decreased in the treatment groups ($p<0.05$). TIMP-1 levels were highest in the Honey group and lowest in the sham group, with a statistically significant difference between them ($p<0.05$). Histopathological analysis revealed that the degree of emphysema was highest in the sham group and lowest in the Honey group ($p<0.05$). Inflammation scores showed a decreasing trend in all treatment groups compared to the sham group ($p>0.05$). Lymphoid accumulation was observed only in the sham group, whereas fibrosis and granuloma were not detected in any group. Treatment with origanum species and honey demonstrated significant potential in improving inflammation, the protease-antiprotease balance, and gas exchange parameters in an experimental COPD model. Notably, the *Origanum minutiflorum* group was distinguished by its reduction in IL-1 α and MMP-9 levels, whereas the Honey group was effective in increasing TIMP-1 levels and reducing the emphysema score. These findings suggest that natural products may serve as supportive or complementary therapeutic strategies in the pathogenesis of COPD.

Keywords: COPD, *origanum onites* L, *origanum minutiflorum*

1. GİRİŞ

Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), kalıcı solunum semptomları ve hava akımı kısıtlanması ile karakterize heterojen bir hastalıktır. Hastalığın doğal seyri, günlük yaşam ve fiziksel aktivitelerde azalma, alevlenmelerin sıklığı ve iş ile sosyal yaşam üzerindeki olumsuz etkileri nedeniyle hem hastalar hem de toplum açısından önemli bir yük oluşturmaktadır. Bu süreç, sıklıkla anksiyete ve depresyon gibi psikolojik rahatsızlıkların gelişmesine de yol açmaktadır. KOAH'ın temel semptomları arasında kronik ve ilerleyici dispne, kronik öksürük, balgam üretimi, göğüste sıkışma hissi ve yorgunluk yer almaktadır. Bazı hastalarda balgam üretimi eşlik eden veya etmeyen kronik öksürük aralıklı olarak görülebilir ve hava akımı kısıtlanması henüz gelişmeden, hatta yıllar öncesinde ortaya çıkabilir. Özellikle sigara kullanan genç bireylerde balgamlı öksürüğün varlığı, ilerleyen yıllarda KOAH gelişme riski açısından önemli bir belirteçtir (Sandelowsky ve ark 2021).

KOAH patogenezinde kritik rol oynayan temel etkenlerden biri, bronşiyolit olarak adlandırılan küçük hava yollarındaki kronik inflamasyondur. Hastalığın başlangıç döneminde nötrofilik granüositler, CD8⁺ lenfositler ve makrofajlar en önemli bağışıklık hücreleri olarak tanımlanmış olsa da günümüzde eozinofiller gibi diğer immün hücrelerin de sürece dahil olduğu bilinmektedir (Barnes 2008). Bu bağışıklık hücrelerinin birikimi ve aktivasyonu, inflamatuvar medyatörlerin salınımını tetikleyerek mukus hipersekresyonu, lümenal obstrüksiyon/mukus tıkanıklığı ve doku hasarına yol açmaktadır. İltihaplanma süreci, alveoler duvarların yıkımı ve hava yolu duvarlarının kalınlaşması ile sonuçlanan işlevsiz bir onarım ve yeniden şekillenme mekanizması ile birleşmektedir. Pulmoner vasküler yeniden şekillenme ise pulmoner hipertansiyon ve sağ kalp yetmezliği (cor pulmonale) gelişimine neden olabilmektedir. Ayrıca bronşektazi, hastalığın semptom yükünü artıran ek bir faktör olarak ortaya çıkabilmektedir (Baraldo ve ark 2012, Barnes 2016, Martinez-Garcia ve Miravittles 2017).

KOAH tedavisinde temel hedefler; sigaranın bırakılması veya diğer risk faktörlerine maruziyetin sonlandırılması, semptomların hafifletilmesi (fiziksel kapasitenin artırılması ve dispnenin azaltılması) ve alevlenme ile mortalite riskinin düşürülmesidir. Günümüzde kullanılan tedavi yaklaşımlarının büyük bir bölümü, hava akımını iyileştirmeyi amaçlayan bronkodilatörler ve kortikosteroidler ile roflumilast

gibi antiinflamatuvar ajanlar yoluyla inflamasyonu baskılayan farmakolojik yöntemleri içermektedir. Bu tedavi yaklaşımları, hastaların yaşam kalitesini artırırken semptomları iyileştirmekte, aynı zamanda alevlenme ve mortalite riskini azaltmaktadır (GOLD 2021).

Geleneksel tıp uygulamaları, KOAH tedavisinde tamamlayıcı ve destekleyici bir rol oynayarak semptomların hafifletilmesine ve yaşam kalitesinin artırılmasına katkı sağlayabilmektedir. Fitoterapi, akupunktur, solunum terapileri ve bitkisel tedaviler gibi alternatif yaklaşımlar, özellikle farmakolojik tedavilere ek olarak uygulanmaktadır. Geleneksel bitkisel tedaviler arasında antiinflamatuvar, bronkodilatör ve balgam söktürücü özellikleriyle bilinen çeşitli bitki ekstraktları öne çıkmaktadır (Chen ve ark 2014).

Bu bağlamda, Origanum türleri (kekik), KOAH'ta potansiyel terapötik etkileri açısından dikkat çeken bitkiler arasındadır. Kekik, başlıca fenolik bileşenler (karvakrol, timol) ve flavonoidler içermekte olup antiinflamatuvar, antioksidan, antimikrobiyal ve bronkodilatör etkileri ile bilinmektedir. Kekik ekstresi, solunum yollarında mukus sekresyonunu düzenleyerek bronşiyal temizliği kolaylaştırabilir ve hava yollarındaki inflamasyonu azaltarak KOAH semptomlarının hafifletilmesine katkı sağlayabilir. Ayrıca, kekik balı gibi kekik kaynaklı doğal ürünlerin antiinflamatuvar ve bağışıklık düzenleyici etkileri üzerine yapılan araştırmalar, bu tür ürünlerin KOAH yönetiminde destekleyici olarak değerlendirilebileceğini düşündürmektedir. Sonuç olarak, geleneksel tedavi yaklaşımları, farmakolojik yöntemlere ek olarak KOAH hastalarının semptom kontrolünü iyileştirmek ve yaşam kalitesini artırmak amacıyla destekleyici bir strateji olarak değerlendirilebilir. Özellikle kekik ve türevlerinin antiinflamatuvar ve bronkodilatör etkileri, KOAH'ın patofizyolojisinde yer alan kronik inflamasyon ve hava yolu daralmasına yönelik doğal bir alternatif sunabilir (Nabissi ve ark 2018).

Yaptığımız bu tez çalışmasında amacımız, farklı kekik ekstraktları ve kekik balının KOAH üzerindeki etkilerini araştırmaktır.

1.1.Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı

Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAH), hava yollarındaki (bronşit, bronşiolit) ve/veya alveollerdeki (amfizem) anormallikler sonucu oluşan, kalıcı, sıklıkla ilerleyici hava akımı tıkanıklığına bağlı kronik solunum semptomları (dispne, öksürük, balgam üretimi ve/veya alevlenmeler) ile karakterize heterojen bir akciğer hastalığıdır (Celli ve ark 2022).

1.1.1. KOAH Epidemiyolojisi

KOAH, dünya genelinde artan bir halk sağlığı sorunu olup, önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden biridir. 2020 yılı itibariyle, KOAH, küresel olarak yaklaşık 3,23 milyon ölüme yol açmıştır ve bu ölümlerin büyük bir kısmı düşük ve orta gelirli ülkelerde gerçekleşmiştir (GOLD 2021). Dünya Sağlık Örgütü'nün tahminlerine göre KOAH, 2030 yılına kadar dünya genelinde ölüme yol açan hastalıklar arasında üçüncü sıraya yükselecektir (WHO 2020).

KOAH prevalansı bölgesel farklılıklar göstermektedir ve özellikle sigara içme oranlarının yüksek olduğu ülkelerde daha yaygındır. Sigara tüketimi, KOAH gelişiminde en önemli risk faktörlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Sigara içen bireylerde KOAH gelişme riski içmeyenlere kıyasla yaklaşık 10 kat daha fazladır (Fallahzadeh ve ark 2022).

Diğer bir önemli risk faktörü ise hava kirliliğidir. Havadaki ince partikül maddeler ve nitrojen dioksit (NO₂) gibi kirleticiler, KOAH gelişim riskini artırmakta ve hastalığın seyrini kötüleştirmektedir. Çin'de yapılan bir kohort çalışması, yüksek düzeyde hava kirliliğine maruz kalan bireylerde KOAH riskinin anlamlı şekilde arttığını ortaya koymuştur (Wang et al., 2021). Ayrıca biyokütle yakıtı kullanımı, özellikle gelişmekte olan ülkelerde önemli bir risk faktörü olarak öne çıkmaktadır (Salvi ve ark 2018).

Genetik yatkınlık da KOAH'ın gelişiminde rol oynayan bir diğer faktördür. Alfa-1 antitripsin eksikliği, KOAH için bilinen genetik bir risk faktörüdür ve hastalık gelişimine katkı sağlamaktadır. Bu nedenle, KOAH'ın sadece çevresel faktörlere

değil, aynı zamanda genetik faktörlere de dayandığı vurgulanmaktadır (Silverman 2020).

Son olarak, yaşlanma da KOAH'ın prevalansını artıran önemli bir faktördür. Yaşla birlikte akciğer fonksiyonlarında meydana gelen doğal azalma, KOAH riskini artırmaktadır. Yapılan çalışmalarda, 65 yaş üzeri bireylerde KOAH prevalansının daha yüksek olduğu belirtilmiştir. KOAH'taki morbidite ayrıca sigara içme, yaşlanma ve/veya KOAH ile ilişkili kronik durumlardan (örn. kardiyovasküler hastalık, kas-iskelet sistemi bozukluğu, diabetes mellitus) da etkilenebilir (GOLD 2024).

1.1.2. KOAH Etiyolojisi

KOAH etiyolojisi, hastalığın gelişiminde rol oynayan karmaşık gen-çevre etkileşimlerine dayanmaktadır. En yaygın neden olarak tütün dumanı inhalasyonu öne çıksa da çeşitli inhalasyonel maruziyetler ve moleküler yollar hastalığın farklı fenotiplerine yol açabilmektedir. KOAH gelişiminde sigara dumanı, mesleki maruziyetler, genetik yatkınlık, astım ve hava kirliliği gibi etkenler önemli roller oynamaktadır. Bununla birlikte, küçük hava yolları hastalığı gibi spesifik patolojik süreçlerin KOAH fenotiplerini nasıl şekillendirdiği konusunda önemli ilerlemeler kaydedilmiştir (Corlateanu ve ark 2020, Curtis 2023).

Son dönem araştırmalarında, KOAH'ın etiyolojisi sadece sigara içimine bağlı değildir. GOLD (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease) 2023 raporu, KOAH nedenlerini yeni "etiyo tipler" altında sınıflandırmaktadır. Bu sınıflamalar, genetik faktörlere bağlı KOAH, akciğer gelişimindeki bozukluklara bağlı KOAH, sigara içimine bağlı KOAH, biyokütle ve hava kirliliğine bağlı KOAH, enfeksiyonlara bağlı KOAH ve astımla ilişkili KOAH gibi farklı alt grupları içermektedir (GOLD 2023). Bu çoklu faktörlerin yanı sıra, bazı bireylerde genetik yatkınlık KOAH gelişme riskini artırmaktadır. Özellikle, α 1-antitripsin eksikliği gibi genetik faktörler, sigara içilmes e bile KOAH gelişimine neden olabilir. Ayrıca, biyokütle yakıtlarına ve mesleki tozlara uzun süreli maruziyet de KOAH riskini artıran diğer çevresel faktörler arasında yer almaktadır (Corlateanu ve ark 2020, Curtis 2023). Bu faktörler, KOAH'ın farklı fenotiplerle seyretmesine yol açar. Örneğin, küçük hava yolu hastalığı, KOAH'ın erken evrelerinde görülen bir fenotip olup, hastalığın progresyonunu anlamada ve

kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımlarını geliştirmede önemli bir rol oynamaktadır (Curtis 2023).

Tablo 1. KOAH etiyojisinin özeti.

Faktörler	Açıklama
Sigara Kullanımı	KOAH gelişiminde en önemli risk faktörüdür.
Mesleki Maruziyetler	Toz, kimyasal maddeler gibi zararlı maddelere maruziyet hastalık riskini artırır.
Hava Kirliliği	Havadaki kirleticilerin uzun süreli maruziyeti KOAH'a neden olabilir.
Genetik Faktörler	Genetik yatkınlık hastalığın gelişiminde rol oynayabilir.
Enfeksiyonlar	Tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonları akciğer hasarına yol açabilir.
Düşük Sosyoekonomik Durum	Düşük yaşam standartları ve sağlık hizmetlerine erişimdeki kısıtlılık KOAH riskini artırır.

1.1.3. KOAH Patolojisi

KOAH olan hastalarda hava yolları, akciğer parankiması ve pulmoner damarlarda çeşitli patolojik değişiklikler gözlemlenmektedir. Bu değişiklikler, hava akımı tıkanıklığının şiddetiyle artan inflamatuvar ve yapısal değişiklikleri içermekte olup, sigara bırakıldıktan sonra bile devam edebilir (Barnes 2014, 2016).

KOAH'lı hastaların akciğerlerinde gözlemlenen inflamasyon, genellikle sigara dumanı gibi kronik tahriş edici maddelere karşı normal inflamatuvar yanıtın değişikliğini yansıtmaktadır. Bu artışın mekanizmaları tam olarak anlaşılmamış olmakla birlikte, genetik faktörlerin de rol oynayabileceği düşünülmektedir. Hastalık, periferik hava yollarında, akciğer parankimasında ve pulmoner damarlarda, artan makrofaj sayısı, aktive olmuş nötrofiller ve lenfositlerle karakterizedir. Bu inflamatuvar hücreler, epitel hücreleriyle etkileşime geçerek kemotaktik faktörler ve proinflamatuvar sitokinler gibi bir dizi inflamatuvar madde salarak inflamatuvar süreci güçlendirir ve yapısal değişiklikleri tetikler (Barnes 2014, 2016).

Ayrıca, akciğer iltihabının sigarayı bıraktıktan sonra devam etmesi, henüz net olmayan mekanizmalar aracılığıyla gerçekleşebilir. Otoantijenlerin ve akciğer mikrobiyomundaki bozuklukların bu süreçte rol oynayabileceği öne sürülmektedir. KOAH'lı bireylerde sistemik inflamasyon da gözlemlenebilir ve bu durum, genellikle bu hastalarda görülen komorbid koşullarda önemli bir etken olabilir. Sigara ile ilişkili olmayan KOAH'taki inflamatuvar yanıt ise henüz az karakterize edilmiştir (Lee ve ark 2007, Sze ve ark 2015, Barnes 2016).

KOAH ve astım her ne kadar solunum yollarında kronik iltihap ile ilişkili olsa da bu iki hastalığın inflamatuvar hücreleri ve mediatörleri arasında belirgin farklılıklar bulunmaktadır. Ancak bazı KOAH hastalarında astıma benzer şekilde artan eozinofiller ve ILC2 hücreleri ile ilgili inflamatuvar bir profil gözlemlenebilmektedir.

Bunun yanı sıra, oksidatif stresin de KOAH'ın patofizyolojisine katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Oksidatif stresin biyobelirteçleri, örneğin hidrojen peroksit ve 8-izoprostan, KOAH'lı hastaların ekshalasyonla elde edilen nefes kondensatında, balgamında ve sistemik dolaşımında artış göstermektedir. Oksidatif stresin alevlenmeler sırasında daha da arttığı gözlemlenmektedir. Oksidanlar hem sigara dumanı hem de diğer solunan partiküller tarafından üretilmekte ve makrofajlar ile nötrofiller gibi aktive inflamatuvar hücrelerden salınmaktadır (Menezes ve ark 2007, Malhotra ve ark 2009, GOLD 2024).

KOAH hastalarının akciğerlerinde, inflamatuvar ve epitel hücrelerden salınan proteazlar ile bu enzimlerin etkisini sınırlayan antiproteazlar arasında bir dengesizlik olduğuna dair güçlü kanıtlar mevcuttur. Bu dengesizlik, bağ dokusu bileşenlerinin parçalanmasına yol açar. Özellikle akciğer parankimasında yer alan önemli bir bağ dokusu proteini olan elastinin proteazlar aracılığıyla yıkılması, amfizem gelişiminin temel özelliklerinden biridir. Ancak elastin yıkımının hava yolu değişikliklerine nasıl etki ettiği konusu hala karmaşık ve belirsizdir (STOCKLEY 1999, Johnson 2016).

KOAH hastalarında ve asemptomatik sigara kullananlarda, peribronşiyolar fibrozis ve interstisyel opasiteler sıklıkla rapor edilmiştir. Sigara içen bireylerde ve KOAH'lı hastalarda, aşırı büyüme faktörü üretimi de gözlemlenmiştir. İnflamasyonun, fibrozis oluşumundan önce başlayabileceği veya hava yolu duvarındaki tekrarlayan hasarın, aşırı kas ve lifli doku üretimine neden olabileceği düşünülmektedir. Bu süreç,

küçük hava yollarında tıkanıklık gelişimine katkıda bulunabilir. Ayrıca, akciğer damar yapısı da KOAH hastalarında, hatta hafif semptomları olanlarda bile, belirgin şekilde değişikliğe uğrayabilir (GOLD 2024).

1.1.4. KOAH Patogenezi

KOAH, esas olarak küçük hava yolları ve alveoller üzerinde etkili olan ilerleyici ve kronik bir hava yolu inflamasyon hastalığıdır. Patogenezinde iki temel ve birbirleriyle bağlantılı mekanizma ön plana çıkar: sürekli inflamasyon ve oksidatif stresin neden olduğu oksidan-antioksidan dengesizliği. Astımda görülen inflamasyon, steroidlere duyarlı eozinofil ve mast hücrelerini içerirken, KOAH'ta inflamasyon hücreleri steroid tedavisine karşı direnç gösterir. KOAH'ta inflamasyona katkı sağlayan başlıca hücreler nötrofiller, makrofajlar ve lenfositlerdir. Bu hücreler, sitokinler, kemokinler ve kemoatraktanlar gibi çeşitli inflamasyon medyatörlerini serbest bırakarak kontrolsüz bir inflamasyon zincirine yol açar. Nötrofiller, IL-8 ve LTB4 gibi kemoatraktanlar salarak daha fazla nötrofilin bölgeye çekilmesini sağlar. Nötrofiller tarafından salgılanan elastaz, proteinaz-3, katepsin G, katepsin B ve matris metaloproteinazlar (MMP), akciğerin elastik dokusunda hasara yol açabilir (Stockley 2002).

Makrofajlar, IL-8, IL-6, IL-10, TNF α ve LTB4 gibi çeşitli sitokinler ve kemokinler salgılar. Ayrıca, reaktif oksijen türleri ile MMP-2, MMP-9, MMP-12, MMP-14 gibi yüksek elastolitik aktiviteye sahip proteinazlar ve katepsin K, L, S gibi elastinolitik sistein proteinazlar salgılayarak inflamasyon hücrelerinin çekilmesini ve aktivasyonunu destekler. CD8⁺ lenfositler, alveoler epitel hücrelerinin apoptozunu tetikleyebilen perforin ve granzim B gibi zararlı enzimler salgılayarak, CD4⁺ lenfositler ise akciğer dokusunda otoimmün tepkilere neden olabilir. KOAH ile ilişkili diğer patolojik değişiklikler arasında antiproteazların ve yüzey aktif maddelerin oksidatif inaktivasyonu, mukus aşırı salgılanması, membran lipid peroksidasyonu, alveoler epitel hasarı, ekstraselüler matriksin yeniden şekillenmesi ve apoptoz, elastin ve kollajen sentezinin azalması, bu yapısal proteinlerin parçalanması ve steroidlere karşı direnç gelişmesi yer alır (Brashier ve Kodgule 2012).

1.1.5. KOAH Patofizyolojisi

KOAH'taki iltihaplanmanın patolojik etkileri, hastalığın doğal seyrinde yaşam kalitesi ve hayatta kalım üzerinde olumsuz etkisi olan çeşitli fizyolojik değişikliklere yol açar. İlk olarak, elastin proteolizi akciğerlerdeki elastik geri tepme basıncının azalmasına neden olur. Bronşiyollerdeki hava akışının ve bütünlüğünün büyük ölçüde çevreleyen elastik dokunun sağladığı elastik gerilimle desteklendiği düşünülürse, elastine verilen zarar, bronşiyollerde hava akışının azalması ve hava tutulması ile hava yollarının belirgin şekilde daralmasına yol açar. İkinci olarak, hava yollarının fibrotik yeniden şekillenmesi, bronkodilatör ilaçlarla dahi tam olarak geri döndürülemeyen sabit hava yolu daralmasına ve hava yolu direncinin artmasına neden olur. Üçüncü olarak, amfizem gibi histolojik özellikler ve gaz değişimi ile ventilasyon-perfüzyon dengesizliği gibi fizyolojik değişiklikler sonucu alveollerin yüzey alanının azalması söz konusudur. Amfizem ayrıca akciğer elastik geri tepme basıncını düşürür ve bu da dar ve zayıf destekli hava yollarında ekspiratuvar düşük basınca bağlı olarak hava akımında belirgin bir direnç artışına neden olur (O'donnell ve Laveneziana 2006, Brashier ve Kodgule 2012).

KOAH'a özgü kalıcı hava yolu tıkanıklığı, hastalığın teşhisinde ve hastalık şiddetinin belirlenmesinde önemlidir ve küçük hava yollarında iltihaplanma (mukoza ödemi, fibrotik yeniden şekillenme ve mukus birikimi) ve muhtemelen artmış kolinerjik hava yolu kas tonusu gibi durumları yansıtır. Azalan hava yolu genişliği ve artan hava yolu direnci nedeniyle özellikle ekspirasyon sırasında hava akımı azalır, bu da akciğerlerden havanın atılmasını zorlaştırır. KOAH'ın bu fizyolojik özelliği, genellikle birinci saniyedeki zorlu ekspiratuvar volüm (FEV1) ile zorunlu vital kapasite (FVC) oranının 0,7'nin altına düşmesi ($FEV1/FVC < 0,7$) ile belirlenir. FEV1 değerindeki azalma, hava yolu tıkanıklığının karakteristik bir işaretidir ve KOAH'ta genellikle FEV1'de yıllık 50-60 ml'lik bir düşüş görülür; bu oran sağlıklı bireylerde ise yılda 20-30 ml kadardır (GOLD 2024).

Akciğer hiperinflasyonu veya hava tutulması, KOAH patofizyolojisinin ayırt edici özelliklerinden biridir. Pek çok KOAH hastasında, detaylı fizyolojik inceleme gerektiren ve rutin klinik pratikte genellikle tespit edilemeyen altta yatan hiperinflasyon mevcuttur. Hiperinflasyon, dispne, düşük yaşam kalitesi ve

beklenmedik hastalık seyri gibi KOAH ile ilişkili sorunların ana nedenidir. Elastin hasarı ve hava yollarının daralması, hava hapsinin başlıca nedenleri arasındadır. KOAH'ta görülen fiçı göğüs deformitesi, akciğerlerin hiperinflasyonuna bağlanır. Akciğer elastik geri tepme basınçları, ekspirasyon sırasında havayı küçük hava yolları ve alveollerden dışarı atmaya çalışan başlıca kuvvetlerdir ve bu kuvvetler torasik duvarın dışı doğru geri tepme basınçlarına karşı koyar. Ekspirasyon sonunda bu kuvvetlerin dengelenmesiyle akciğerlerde kalan hava hacmine fonksiyonel rezidüel kapasite (FRC) adı verilir. KOAH'ta elastik dokunun zayıflaması, içe doğru yeterli elastik geri tepme basınçlarının oluşmasını engeller ve bu durum, hiperinflasyona neden olarak daha büyük bir FRC'ye yol açar (Ferguson 2006, Brashier ve Kodgule 2012).

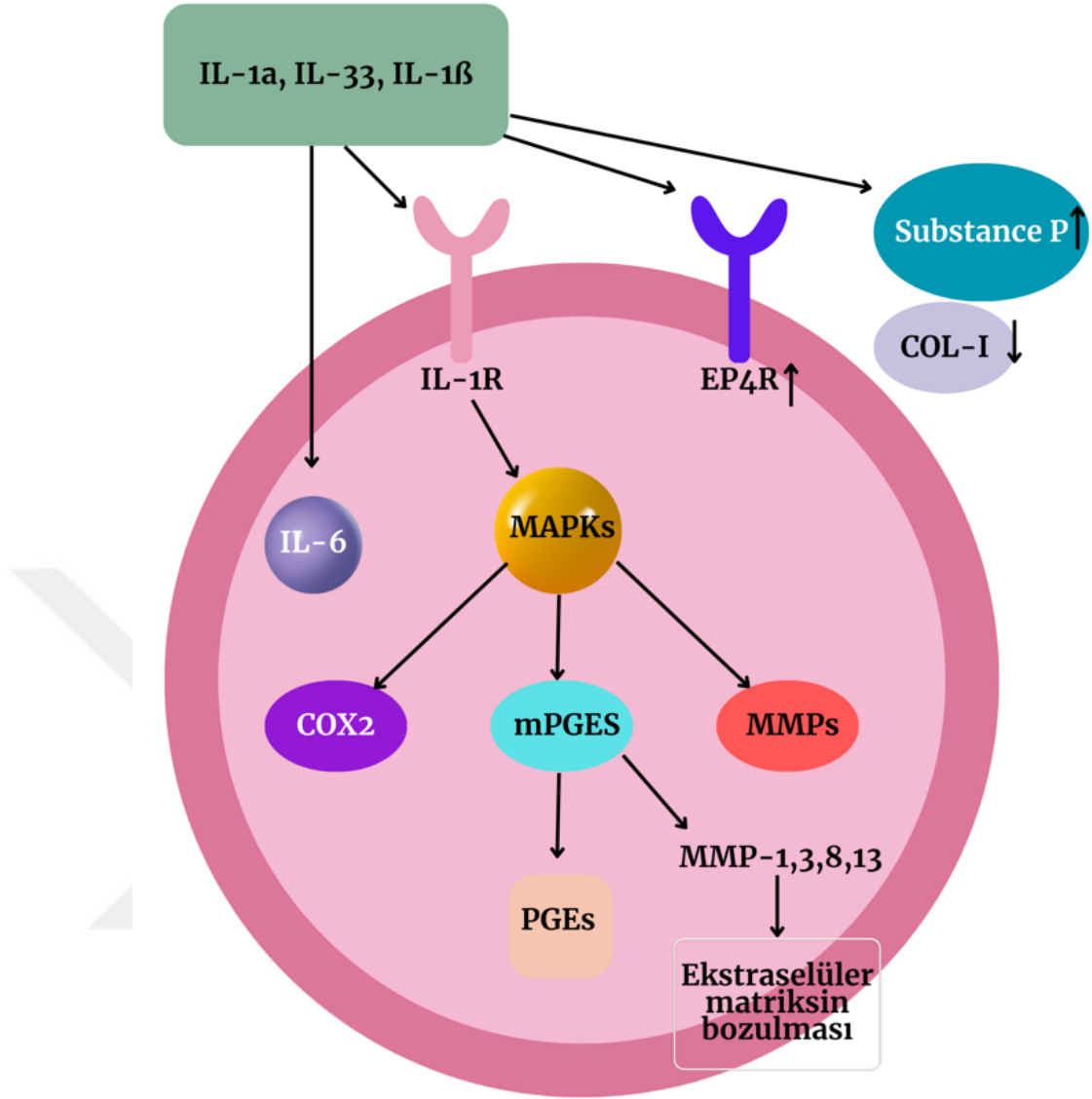
Hiperinflasyon dinamik bir özelliكتedir ve hastalığın her aşamasında görülebilir. Genellikle ekspiratuar akış sınırlamaları, anksiyete, KOAH alevlenmeleri ve oksijen ihtiyacını artıran aktiviteler sırasında belirgin hale gelir. Her nefes sırasında, ekshalasyon tamamlanmadan inhalasyon başlarsa, her nefeste artan hava hapsi meydana gelir. Bu durumda FRC artar ve inspirasyon kapasitesi azalır. Yükselen FRC, inspirasyon rezerv hacimlerini aşarak ilave ventilasyon üretimini zorlaştırır. Ayrıca, FRC, artık göğüs duvarı ve akciğer geri tepmesi arasındaki pasif denge noktasında gerçekleşmez, pozitif son ekspirasyon basıncında (PEEP) meydana gelir.

Bu nöromekanik ayrışma, artan ventilasyon ihtiyacı ve solunum kaslarının etkinliğinin azalmasıyla birleştiğinde, KOAH hastalarında nefes darlığının ana nedenlerinden biridir. Dinamik hiperinflasyon sırasında artan içsel PEEP, diyaframın mekanik olarak dezavantajlı bir pozisyonda kalmasına neden olur, kasın çalışma uzunluğunu kısaltır ve diyaframın farklı kısımları arasındaki mekanik uyumu bozar. Bu durum, diyaframın kasılma gücünü ve oluşan transdiyaframatik basıncı kademeli olarak düşürür. Diyaframın bu değişen işlevi, KOAH alevlenmeleri sırasında hastalarda ciddi sorun ve yaklaşan solunum yetmezliğine yol açabilir. Bu nedenle, KOAH tedavisinde kullanılan fizyoterapi yaklaşımları özellikle diyaframın gücünü ve kasılma kapasitesini artırmaya odaklanmalıdır (O'donnell ve Laveneziana 2006, Brashier ve Kodgule 2012).

1.1.6. Sitokinlerin KOAH'taki Önemi

IL-1'in artan ekspresyonu ve salınımı, KOAH'ı oluşturan çeşitli fenotiplerde, özellikle küçük hava yolu hastalığı ve amfizematöz yıkım gibi durumlarda önemli bir rol oynamaktadır. Özellikle, IL-1 α ve IL-1 β 'nin mRNA ve protein düzeyleri, sigara içme durumundan bağımsız olarak sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında KOAH hastalarının serumunda, akciğer biyopsilerinde ve balgamında belirgin şekilde artış göstermektedir (Osei ve ark 2020).

KOAH'ta IL-1 artışının altında yatan mekanizmaları anlamak amacıyla hem in vitro hem de in vivo modeller kullanılmıştır. Sigara dumanı, partikül madde gibi zararlı bileşenler ve çeşitli enfeksiyöz ajanlara maruziyet sonrasında, hava yolu epiteli ve makrofajlardan IL-1'in in vitro ekspresyonunun ve salınımının arttığı gösterilmiştir. Ayrıca, fareler üzerinde yapılan in vivo çalışmalarda sigara dumanına maruz kalmanın IL-1 α ve IL-1 β salınımını artırdığı bulunmuştur (Suwara ve ark 2014, Uh ve ark 2017, Osei ve ark 2020).

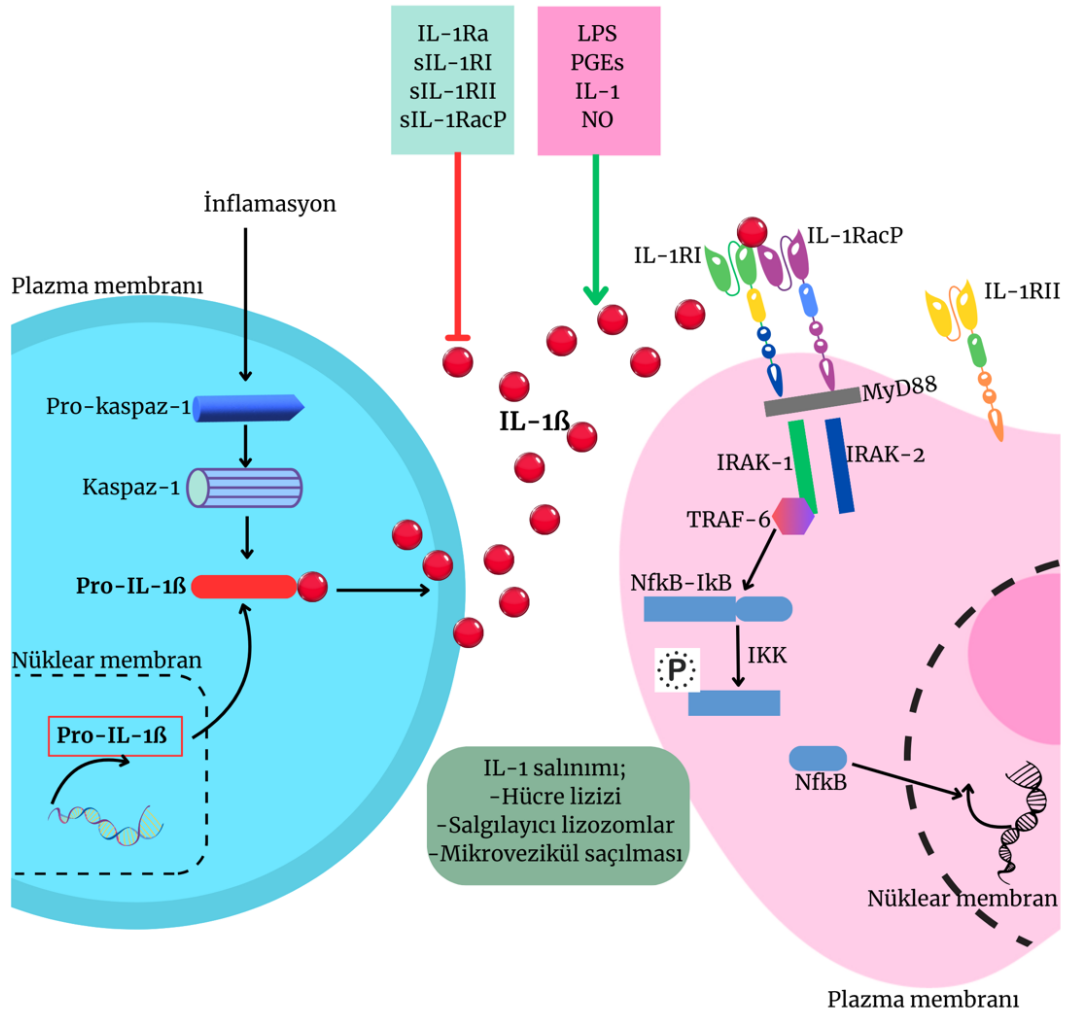


Şekil 1.1 IL-1 ailesi. (D'Addona ve ark. 2017'den modifiye edilip Canva programında çizildi.)

Şekil 1.1'de de görüldüğü gibi IL-1 α , IL-1 β ve IL-33, MAPK'ların aktivasyonu yoluyla birleşik bir sinyal yolu ile, ağrının artmasına ve ekstraselüler matriksin bozulmasına neden olan inflamasyon medyatörlerini uyarır.

Sigara dumanına maruz kalma, TLR4/MyD88'e bağımlı bir mekanizma ile bronkoalveolar boşlukta ve akciğer parankimasında IL-1 α ve pro-IL-1 β seviyelerinin yükselmesine yol açmaktadır. Bunun yanı sıra, sigara dumanının neden olduğu akciğer iltihabının NLRP3 (NOD-benzeri reseptör ailesi, pirin domain içeren 3) inflamazomu

ve kaspaz-1'den bağımsız olduğu gösterilmiştir; bu durum, IL-1 α 'nın bağımlı olduğunu, ancak IL-1 β sinyallemesine bağılı olmadığını ortaya koymaktadır. Başka bir araştırmada, farelerde kaspaz-1'in nakavt edilmesi ve nötralize edici antikor uygulanması, sigara dumanına bağılı akciğer iltihabının ve nötrofil akışının IL-1 α 'ya bağılı, IL-1 β 'ye bağılı olmadığını ortaya koymuştur. IL-1 sinyalizasyonunun in vivo koşullarda KOAH'ta hava yolu yeniden şekillenmesi ve amfizem gelişiminde rol oynadığı bilinmektedir (Doz ve ark 2008, Osei ve ark 2020).

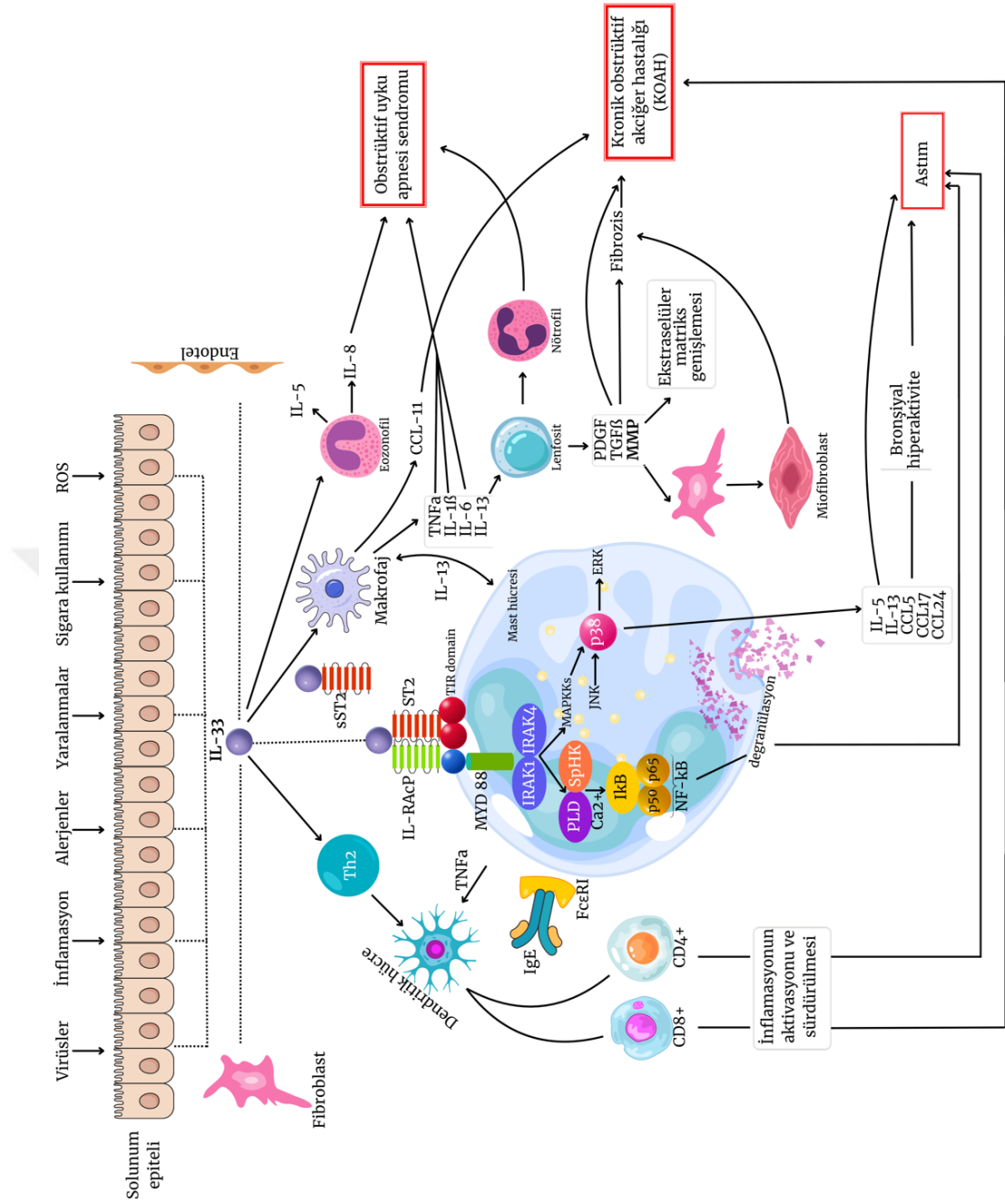


Şekil 1.2 IL-1 β sinyal yolları. (Murray ve ark. 2015'ten modifiye edilip Canva programında çizildi.)

Bir uyarana yanıt olarak IL-1 β kodlayan genin transkripsiyonu başlatılır. IL-1 β , inaktif bir öncü protein (pro-IL-1 β) formunda sentezlenir ve bu öncü form, kaspaz-1 tarafından kesilerek aktif IL-1 β 'ye dönüştürülür. Aktif IL-1 β 'nin salınımı çeşitli

faktörler tarafından uyarılabilir veya inhibe edilebilir. Salındıktan sonra IL-1 β , IL-1 reseptör aksesuar proteini (IL-1RAcP) ile birlikte IL-1 reseptör tip I (IL-1RI) üzerine bağlanarak sinyal iletimini başlatır. Bu süreç, miyeloid farklılaşma birincil yanıt proteini 88 (MyD88), IL-1 reseptör ilişkili kinazlar (IRAK-1 ve IRAK-2) ve tümör nekroz faktörü reseptör ilişkili faktör 6 (TRAF-6)'nın bir araya gelmesiyle devam eder. Bu sinyalizasyon zinciri, nükleer faktör kappa B (NF κ B)'nin I κ B proteini ile oluşturduğu kompleksten serbest bırakılarak aktivasyonunu tetikler. Bunun aksine, IL-1 reseptör tip II (IL-1RII) sinyal iletimini indüklememektedir (Şekil 1.2) (Murray ve ark 2015).

IL-33, tip 2 bağışıklık yanıtlarında ve hastalık patogenezini etkileyebilen bağışıklık hücrelerinin aktivasyonu, göçü ve birikiminde önemli bir rol oynayan bir alarmin ve pleiotropik sitokindir. KOAH hastalarının akciğer biyopsi örneklerinde, epitel ve endotel hücrelerinde, serum veya plazma düzeylerinde ve balgamda IL-33 seviyelerinin arttığı ve bunun da azalmış akciğer fonksiyonu ile ilişkili olduğu görülmektedir. Ayrıca, sigara dumanına maruz kalan KOAH hayvan modellerinde de akciğer IL-33 seviyelerinin yükseldiği tespit edilmiştir. Bu veriler, KOAH'lı hastalarda IL-33'ü hedeflemenin potansiyel olarak faydalı olabileceğini düşündürmektedir (Kim ve ark 2021).



Şekil 1.3 Kronik solunum bozukluklarının indüksiyonu ve sürdürülmesinde IL-33'ün moleküler fonksiyonu. (Gabryelska ve ark. 2019'dan modifiye edilip Canva programında çizildi.)

IL-33 sinyal yolu, sitokinin ST2 reseptörüne bağlanmasıyla başlamaktadır (Şekil 1.3.). Bu reseptörün transmembran formu, sST2 ile aynı mRNA'dan üretilmekte olup, farklı bir promotör ve transkriptin alternatif eklenmesi yoluyla ayırım yapılmaktadır. IL-33'ün ST2'ye bağlanmasının ardından, IL-1 reseptör aksesuar

proteini (IL-1RAcP) devreye girmektedir. Bu süreç, miyeloid farklılaşma birincil yanıt proteini 88 (MYD88), IL-1R ile ilişkili kinaz 1 ve 4 (IRAK1, IRAK4) ve tümör nekroz faktörü (TNF) reseptörü ile ilişkili faktör-6 (TRAF6) içeren bir heterodimerik sinyal kompleksinin oluşumuyla devam etmektedir. Bunun sonucunda nükleer faktör κ B (NF κ B) transkripsiyonu, c-Jun N-terminal kinazlar (JNK) ve p38 gibi mitojenle aktive olan protein kinazların (MAPK) aktivasyonu gerçekleşir. Bu mekanizmalar, sinyal yolunun amplifikasyonu, hücre sağkalımı, sitokin salgılanması (örneğin IL-4, IL-5 ve IL-13) ve amfiregulin (AREG) ekspresyonu gibi biyolojik süreçleri yönlendirmektedir. Sadece ST2+ hücreler IL-33 uyarımına yanıt verebilmektedir. Bu yanıtın türü, uyarılan hücre türüne bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Örneğin, T yardımcı 2 (Th2) hücreleri IL-5 ve IL-13 salgılayarak yanıt verirken, mast hücreleri IL-4, IL-5 ve IL-6 dahil olmak üzere farklı bir sitokin profili salgılamaktadır. Nötrofiller ise IL-33 uyarımı sonrasında kemotaksi yoluyla göç ederken, eozinofiller degranülasyon ve reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi ile yanıt vermektedir. Makrofajlar ise IL-33'e yanıt olarak alternatif olarak aktive edilmiş bir fenotip geliştirmektedir. Ayrıca, IL-33'ün düzenleyici T lenfositlerinde (Treg'ler) NF κ B ve p38'i aktive ettiği ve bu aktivasyonun ST2+ Treg'lerin genişlemesine yol açtığı gösterilmiştir. Ek olarak, IL-33, TGF- β aracılığıyla Treg farklılaşmasını da teşvik etmektedir. Bununla birlikte, Treg'lerin MYD88 aracılığıyla aktivasyonu yalnızca IL-33/ST2'dan bağımsız yollarla gözlenmiştir. Treg'lerin işlevlerinin IL-33/ST2-MYD88'e bağlı yollarla etkilenip etkilenmediği ise henüz netlik kazanmamıştır (Gabryelska ve ark 2019).

IL-33'ün moleküler fonksiyonunun kronik solunum hastalıklarının (astım, KOAH ve OSA) başlatılması ve sürdürülmesindeki temel yönleri Şekil 1.3'te gösterilmektedir.

1.1.7. MMP-9 ve TIMP-1'in KOAH'taki Rolü

KOAH, özellikle sigara dumanı gibi zararlı maddelere maruz kalma sonucu geri döndürülemez şekilde ilerleyen, inflamatuvar bir hava yolu hastalığıdır. Sigara dumanına karşı gelişen bu hava yolu iltihabı, akciğer parankimasının hasar görmesine ve bunun sonucunda amfizemin ortaya çıkmasına yol açabilir. Araştırmalar, KOAH'ta gözlemlenen patolojik süreçlerde proteazların önemli bir rol oynadığını ortaya

koymaktadır. KOAH ve amfizem gelişiminde, matriks metaloproteinazlar (MMP'ler) ile onların inhibitörleri olan doku inhibitörleri (TIMP'ler) arasındaki dengenin bozulması temel bir mekanizma olarak kabul edilir (Zhou ve ark 2017). MMP'ler, metzincin süper ailesine ait çinko içeren endopeptidazlardan oluşan bir metalloproteinaz grubudur. Bu düzenleyici proteazlar, ekstraselüler matris (ECM) proteinlerini parçalamak için farklı substrat özgüllüklerine sahip ECM düzenleyicileri olarak işlev görür. Yaklaşık 20 çeşit MMP tanımlanmış olup, kromozomlardaki gen bölgeleri ve substrat tercihleri bazında sınıflandırılmışlardır. MMP'ler, substrat tercihleri, hücrel lokalizasyonları ve yapısal özelliklerine göre altı ana gruba ayrılır: kolajenazlar, jelatinazlar, stromelizinler, matrilizinler, membran tipi MMP'ler ve diğerleri. TIMP'ler ise aktif MMP'lere bağlanarak onları etkisiz hale getiren endojen antagonistlerdir. MMP'lerin aktivitesi, akciğer parankimasının yıkımı ve amfizem gelişiminde kritik rol oynar. MMP'lerin büyük bir kısmı sigara dumanı ve oksidatif stres gibi faktörler tarafından aktive edilir ve bu enzimler çeşitli stromal hücrelerin yanı sıra KOAH'ta önemli rol oynayan nötrofiller ve alveoler makrofajlar tarafından üretilir. Son çalışmalar, özellikle MMP-9 düzeylerinin, KOAH'lı bireylerin bronkoalveolar lavaj sıvısında sağlıklı kontrollere göre arttığını ve hem MMP-9'un hem de onun inhibitörü olan TIMP-1'in kronik bronşit balgamında yüksek seviyelerde bulunduğunu göstermektedir. Bu durum, akciğer fonksiyonunun azalmasıyla ilişkilendirilmiştir. MMP-9, akciğerin ekstraselüler matriks yapısının yeniden şekillenmesi, doku onarımı ve yaralanmaya yanıt olarak gelişen inflamasyonu düzenlemede önemli bir rol oynayabilir. Bununla birlikte, MMP-9'un kronik obstrüktif akciğer hastalığı gibi çeşitli akciğer hastalıklarının patogeneze de katkıda bulunduğu ortaya koyulmuştur (Mercer ve ark 2005, Esa ve ark 2014, Li ve ark 2016, Zhou ve ark 2017, Dimic-Janjic ve ark 2023).

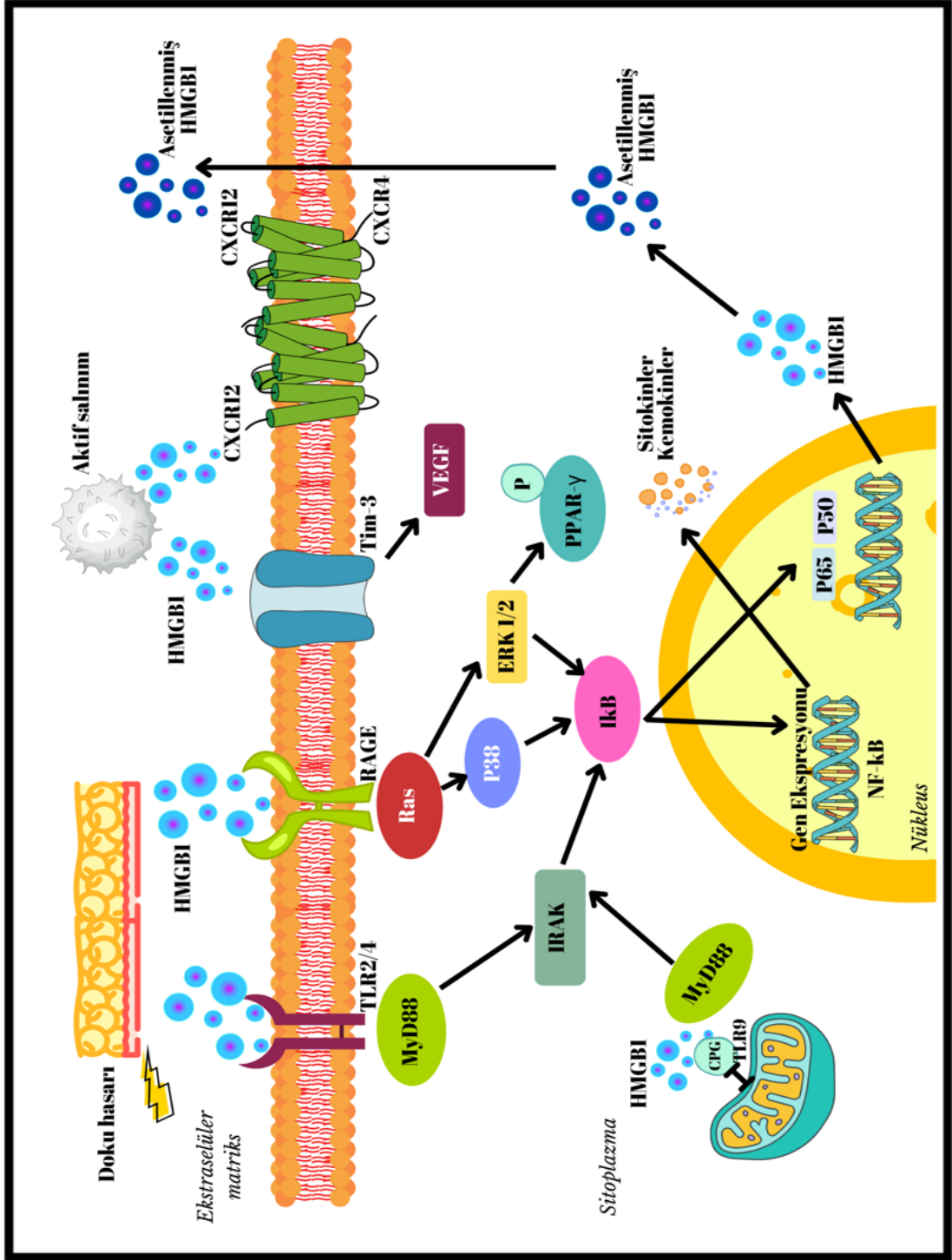
1.1.8. HMGB1'in KOAH'taki Rolü

Hava yolu iltihabı, KOAH'ın başlıca mekanizmalarından biri olup, yüksek hareketlilik grubu kutusu 1 (HMGB1) bu süreçte önemli bir rol oynayan temel bağışıklık ve iltihap faktörlerinden biridir. HMGB1, seri olarak düzenlenmiş üç alandan oluşur: kısa ve esnek bir bağlayıcı, A ve B kutuları ve 30 glutamat veya aspartat kalıntısı içeren bir C-terminal kuyruğu. Bu molekül, çeşitli hücre yüzey reseptörleri aracılığıyla sinyal iletimini sağlar. İleri glikasyon son ürünlerinin reseptörü

(RAGE) ve Toll benzeri reseptör 4 (TLR4) gibi reseptörlerle etkileşime girebilir, özellikle kutu B bölgesi TLR4'e bağlanabilir.

HMGB1'in KOAH'ta patolojik değişikliklere katkıda bulunduğu bilinmektedir, çünkü ana görevi hava yolu iltihabını tetiklemektir. HMGB1, RAGE ve TLR4 ile doğrudan etkileşime geçerek, KOAH'ın hava yolu iltihabının gelişiminde proinflamatuvar ve kemotaktik bir aracı olarak işlev görebilir. Ayrıca, RAGE ve TLR4, bağışıklık hücreleri üzerindeki reseptörler olarak görev yaparak, hava yolu epitelinin bağışıklık ve iltihap yanıtını düzenleyebilir (Lin ve ark 2022).





Şekil 1.4 HMGB1'in salınımı ve sinyal yolları. (Yuan ve ark. 2020'den modifiye edilip Canva programında çizildi.)

Şekil 1.4'te de görüldüğü gibi HMGB1, hücre dışına iki mekanizma ile salınır: pasif salınım (hasarlı veya nekrotik hücrelerden) ve aktif salınım (bağışıklık

hücrelerinden). Enfeksiyon ve yaralanma gibi durumlarda, HMGB1, hücre dışı ortamda inflamatuvar yanıtları başlatır.

HMGB1, reseptörler (RAGE, TLR2, TLR4 ve TLR9) ile etkileşerek NF- κ B yolunu aktive eder. Bu süreçte NF- κ B çekirdeğe taşınır ve DNA ile etkileşime girerek inflamatuvar genlerin ekspresyonunu düzenler. Ayrıca HMGB1, CXCL12/CXCR4 ile bağlanarak kemotaksis ve inflamatuvar hücrelerin birikimini destekler.

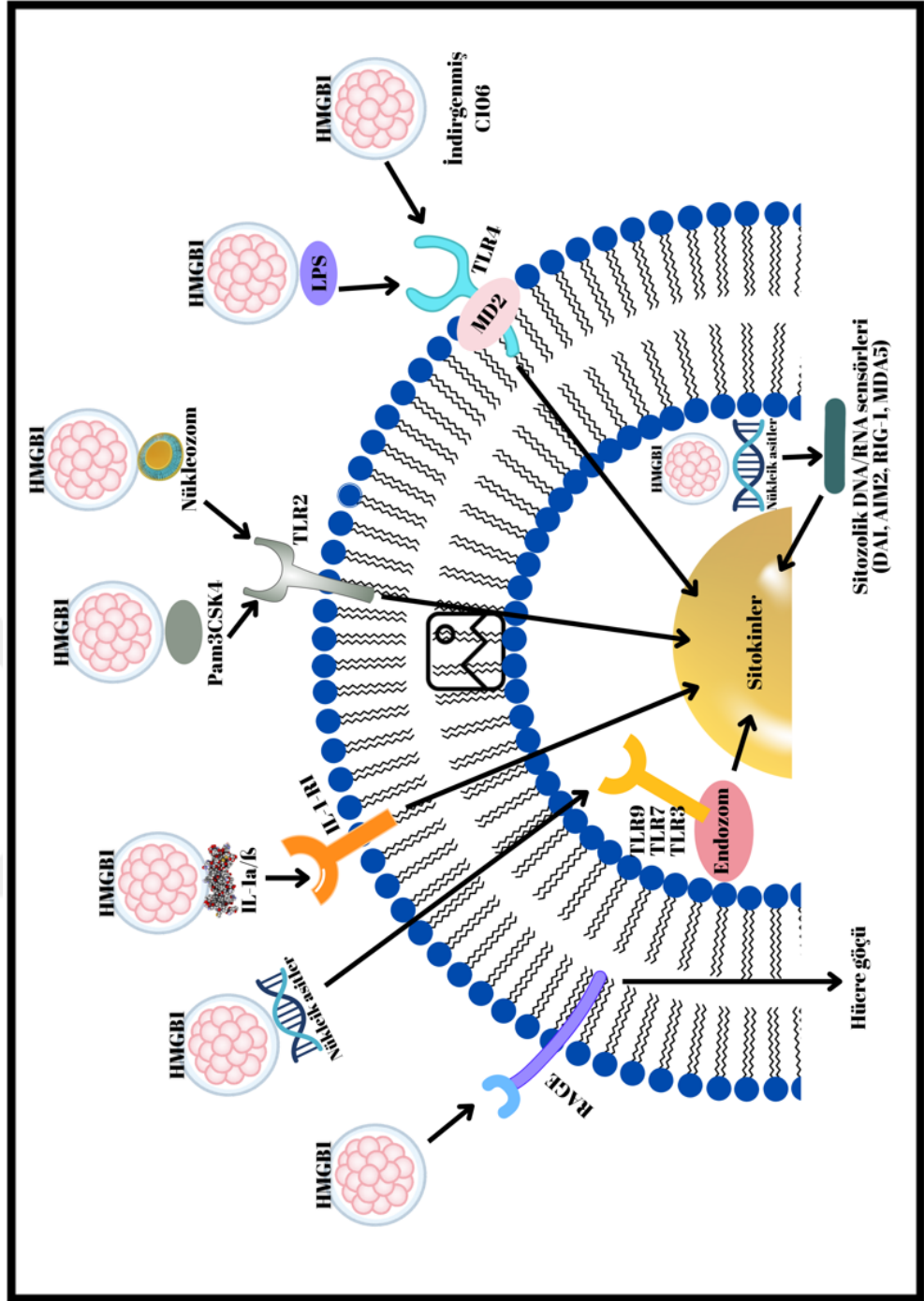
Aktive edilmiş NF- κ B yolu, HMGB1'in nükleer asetilasyonunu ve salınımını artırır. RAGE'ye bağlanan HMGB1, PPAR- γ aktivasyonu ile HMGB1-RAGE aktivitesini baskılayabilir. Öte yandan, HMGB1'in TIM-3 ile etkileşimi, VEGF salgılanmasını artırarak tümör anjiyogenezini destekler.

Bu süreçler, inflamasyon, hücre sel göç ve doku onarımı gibi biyolojik yanıtların düzenlenmesinde kritik rol oynar.

Ekstraselüler HMGB1, çeşitli sinyal yollarını aktive ederek yanıtlar oluşturur. HMGB1, TLR2, TLR4, TLR9 ve RAGE reseptörleriyle etkileşime girerek sitokin üretimini, hücre göçünü, proliferasyonu ve farklılaşmayı indükler. Sitokin üretiminin indüklenmesi, HMGB1'in Cys23 ve Cys45 arasında disülfid bağı ve Cys106'nın indirgenmiş formda olmasını gerektirir. Ancak, HMGB1'in diğer reseptörlerle olan etkileşimlerindeki redoks modifikasyonlarının etkisi henüz bilinmemektedir.

HMGB1, doğrudan reseptör etkileşimlerine ek olarak, seçilmiş ligandlarla kompleksler oluşturabilir ve bağılı ligandın indüklediği yanıtları güçlendirebilir. Bu sinerjinin moleküler mekanizması tam olarak açıklanmamış olsa da ligand reseptörü üzerinden sinyal gereksinimi ve TLR2, TLR4 veya RAGE'in HMGB1 bağlayıcı ortak reseptörler olarak gösterilmiştir (Şekil 1.5).

HMGB1 ayrıca CD24 ve Siglec-10 ile üçlü bir kompleks oluşturarak, inhibitör bir reseptör olan Siglec-10'u aktive edebilir ve böylece aktif reseptörlerden gelen sinyalleri baskılayabilir (Harris ve ark 2012).



Şekil 1.5. Ekstraselüler HMGB1'in çeşitli sinyal yolları. (Harris ve ark. 2012'den modifiye edilip Canva programında çizildi.)

1.1.9. KOAH'ta T Hücrelerinin Önemi ve İmmün Yanıt

KOAH, kronik inflamasyon ve hava yolu daralması ile karakterize bir solunum yolu hastalığıdır. T hücreleri, özellikle CD3⁺, CD4⁺ ve CD8⁺ hücreleri, KOAH'ın

patogenezinde önemli bir rol oynar. Bu hücrelerin rolü ve sayısındaki değişiklikler, hastalığın ilerlemesi ve şiddetiyle ilişkilidir. CD3⁺, T hücrelerinin yüzeyinde bulunan bir işaretleyicidir ve tüm T hücre popülasyonunu tanımlar. KOAH'ta, hava yollarında ve akciğer dokusunda CD3⁺ T hücrelerinin sayısında artış gözlenmiştir. Bu artış, kronik inflamatuvar süreci ve immün hücrelerin hastalıklı dokulara göçünü yansıtır. KOAH hastalarının akciğer dokusunda ve bronkoalveolar lavaj sıvısında (BALF) artan CD3⁺ hücre yoğunluğu, T hücre aracılı immün yanıtın önemini göstermektedir. CD4⁺ T hücreleri, yardımcı T hücreleri olarak bilinir ve diğer immün hücrelerin aktivasyonunda kritik bir rol oynar. KOAH'ta, CD4⁺ T hücrelerinin aktivasyonu ve çoğalması inflamatuvar yanıtın sürdürülmesine katkıda bulunur. Özellikle ileri evre KOAH hastalarında, periferik kan ve akciğer dokusunda CD4⁺ T hücrelerinin sayısında artış olduğu bildirilmektedir. CD4⁺ T hücrelerinin salgıladığı inflamatuvar sitokinler, akciğer dokusunda yapısal değişikliklere ve hastalığın ilerlemesine katkıda bulunabilir. CD8⁺ T hücreleri, sitotoksik T hücreleri olarak bilinir ve enfekte hücrelerin yanı sıra hasar görmüş veya anormal hücrelerin yok edilmesinde rol oynar. KOAH hastalarında, özellikle sigara içen bireylerde, akciğer dokusunda ve hava yollarında CD8⁺ T hücrelerinin sayısında belirgin bir artış gözlenmiştir. CD8⁺ T hücreleri, alveoler hasar ve hava yolu duvarı kalınlaşması gibi yapısal değişikliklerin gelişmesine katkıda bulunabilir. Bu hücrelerin artan aktivitesi ve sayısı, KOAH'ın daha şiddetli formlarında ve hastalığın ilerlemesinde önemli bir role sahiptir. KOAH'taki kronik inflamasyon, T hücre alt gruplarının dengesizliği ve bu hücrelerin fonksiyonel özelliklerindeki değişikliklerle ilişkilidir. CD4⁺/CD8⁺ oranındaki değişiklikler, hastalığın şiddeti ve inflamatuvar yanıtın tipi hakkında bilgi verebilir. Örneğin, ileri evre KOAH hastalarında CD8⁺ T hücrelerinin baskınlığı ve CD4⁺/CD8⁺ oranındaki düşüş sıklıkla gözlenmektedir. Bu durum, hava yolu epitelyumunda ve akciğer parankiminde artan doku hasarı ile ilişkilendirilmektedir (Saetta ve ark 2003, Hogg ve Timens 2009, Barnes 2014).

1.1.10. KOAH'ın Tedavisi

Son yirmi yılda KOAH tedavisinde bazı ilerlemeler kaydedilmesine rağmen, tedavi hala büyük ölçüde bronkodilatörler ve kortikosteroidlerin kullanımına dayanmaktadır. Bronkodilatörler, hava yolu tıkanıklığının tam olarak geri döndürülemediği durumlarda bile, KOAH'ın semptomlarının hafifletilmesinde temel

bir rol oynamaktadır. Yıllar içinde bu ilaçların etkisi, güç, etki süresi ve daha gelişmiş uygulama cihazları ile iyileşmiştir. Bronkodilatörlerin KOAH tedavisindeki önemi göz önüne alındığında, mevcut ilaçların etkisini aşabilecek yeni bronkodilatör hedeflerin belirlenmesi için araştırmalar devam etmektedir. Son dönemde, çoğu hala klinik öncesi geliştirme aşamasında olan yeni ilaç fırsatları incelenmiş, ancak bu ilaçların ne tür ek faydalar sağlayacağı konusunda henüz net bir bilgiye ulaşılmamıştır (Cazzola ve ark 2019).

Kortikosteroidler ise KOAH'ta en yaygın kullanılan antiinflamatuvar ilaçlar arasında yer almaktadır; ancak, uzun süreli ve yüksek dozlarda, hatta inhalasyon yoluyla kullanıldıklarında bile yan etki riski bulunmaktadır. Son zamanlarda bu durum, özellikle inhale kortikosteroidlerin pnömoni riskini artırma olasılığı nedeniyle dikkat çekmiştir. Kortikosteroidlerin yan etkisi olmayan bir tedavi sunabilmek için, bu ilaçların antiinflamatuvar etkilerinden sorumlu olan transrepressyon mekanizması ile yan etkilere neden olan transaktivasyon mekanizmasının birbirinden bağımsız olarak düzenlenmesi üzerine çalışmalar yoğunlaşmıştır. Bu bağlamda, düşük transaktivasyon aktivitesine sahip ve esas olarak transrepressyonu tetikleyen glukokortikoid reseptör agonistleri geliştirilmesi yönündeki araştırmalar artmıştır (Matera ve ark 2015, Matera ve ark 2021).

KOAH tedavisinde mevcut yöntemlerin optimal olmaması, sadece semptomları hafifletmekle kalmayıp aynı zamanda hastalığın ilerlemesini durdurabilen, hatta hastalığı tersine çevirebilen daha etkili ve güvenli tedavi seçeneklerine olan ihtiyacı artırmaktadır. Bu gereksinim, özellikle KOAH'lı hastalarda akciğerlerdeki iltihaplanmanın kortikosteroid tedavisine genellikle zayıf yanıt vermesiyle daha da önem kazanmıştır. Bu nedenle, KOAH'lı hastaları daha etkin bir şekilde tedavi edebilmek için yeni farmakolojik antiinflamatuvar stratejilere ihtiyaç duyulmaktadır. Bugüne kadar yapılan araştırmalar, büyük ölçüde KOAH'lı bireylerin akciğerlerinde biriken makrofajlar, nötrofiller ve T-lenfositler gibi iltihap hücrelerinin aktivasyonunun ve birikiminin engellenmesine odaklanmıştır. Ayrıca, bu iltihap hücrelerinin toplanmasında veya aktivasyonunda önemli rol oynayan ya da bu hücreler tarafından salgılanan iltihap aracılarını hedef alan ilaçların geliştirilmesi için çeşitli girişimlerde bulunulmuştur (Barnes 2015, Matera ve ark 2021).

Fitomedikal, bitki bazlı geleneksel tıbbi yöntemler kullanarak hem hastalıkların önlenmesi hem de tedavisi için çeşitli bitki materyallerini içeren bir uygulama olarak tanımlanır (Clarke ve ark 2015). KOAH tedavisinde bitkisel yaklaşımlar, geleneksel farmakoterapilerin sınırlılıklarının aşılmasına yönelik önemli bir alternatif olarak ortaya çıkmaktadır. Bitkisel tedaviler, antioksidan, antiinflamatuvar ve immünmodülatör özellikler gösteren çeşitli biyoaktif bileşenler içermeleri sayesinde, KOAH'ın patofizyolojik süreçlerinde önemli rol oynayan kronik inflamasyon ve oksidatif stresin yönetilmesinde faydalı olabilir. Ayrıca, bitkisel kaynaklı tedavi seçeneklerinin daha az yan etkiye sahip olması, özellikle kortikosteroidler gibi uzun süreli kullanımında risk oluşturan konvansiyonel ilaçlara göre daha güvenli bir profil sunmaktadır. Bu nedenle, KOAH yönetiminde bitkisel tedaviler hem semptomların hafifletilmesi hem de hastalığın ilerlemesinin önlenmesine katkı sağlama potansiyeline sahiptir ve bu alandaki araştırmaların daha da genişletilmesi gerekmektedir.

1.2. Kekik

Tıbbi ve aromatik bitkiler Anadolu topraklarında çeşitli ve yaygın bir dağılım gösterir. Anadolu'nun farklı iklim ve ekolojik koşulları olan konumu, biyolojik çeşitliliği de arttırmaktadır. Bölge çok sayıda bitki familyası, cins ve tür için merkezi işlev görür. Bu bitkiler arasında kekik dünya çapında en yaygın botanik familyalardan biri olarak öne çıkmaktadır (Kitir Sen ve Duran 2023). Origanum cinsi genel olarak Akdeniz, Avrupa-Sibirya ve İran-Sibirya bölgelerinde dağılım gösterse de çoğunluğu (yaklaşık %75) Doğu Akdeniz alt bölgesinde bulunmaktadır (Kaplan ve ark 2020). Türkiye'de Origanum (Lamiaceae) cinsine ait 23 tür ve 32 takson bulunmaktadır. Kekik olarak adlandırılan Origanum cinsinin üyeleri, baharat, bitki çayı ve uçucu yağ olarak yaygın kullanılır (Canli ve ark 2023). Kekik türlerinin mutfakta kullanılmasının yanı sıra geleneksel tıpta pek çok hastalığın tedavisinde de uzun yıllardır kullanılmaktadır. Oral olarak kekik yağı preparatları doğal bir antispazmodik, analjezik, antimikrobiyal, balgam söktürücü ve gaz giderici, öksürük, sindirim bozuklukları ve adet sorunlarında kullanılır. Kekik yağı, antiseptik ve vazokonstriktör etkileri nedeniyle bölgesel olarak da uygulanır. Oral antiseptik ve gargara olarak da yaygın tüketilir (Tasdemir ve ark 2019).

1.3. *Origanum onites* L.

Origanum onites L. (*O. Onites*) Türkçede arı kekiği, bilya kekik, bilyalı kekik, incir kekiği, İzmir kekiği, kırkbaşı kekik, tokalı kekik, dağ kekiği ve yemiş kekiği gibi isimlerle bilinse de en yaygın ismi Türk kekiğidir. Türk kekiği, yalnızca Doğu Akdeniz bölgesinde yetişen, dar bir dağılıma sahip steno-endemik bir türdür (Canlı ve ark 2023). Bitki, yüksek miktarda karvakrol içeren uçucu yağ ile karakterizedir. *Origanum onites* L'nin toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstraktlar ve uçucu yağ, Türk geleneksel tıbbında oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır (Vanti ve ark 2021). *Origanum onites* L'nin uçucu yağında; 25 monoterpen hidrokarbon, 67 oksijenli monoterpen, 27 seskiterpen hidrokarbon, 15 oksijenli seskiterpen, 6 fenilpropanoid, 10 fenolik, 3 triterpen asit, 4 sterol, 1 kinon, 14 flavonoid ve ilgili bileşikler, 7 hidrokarbon, 5 porfirin, 14 yağ asidi, 4 tokoferol, inorganik bileşikler/mineraller (B, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, N, Na, P ve Zn) ve 26 diğer bileşik karakterize edilmiştir (Tepe ve ark 2016).

1.3.1. *Origanum onites* L.'nin Kimyasal İçeriği

Origanum onites L., Türkiye ve çevresinde yaygın olarak bulunan, çoğunlukla baharat ve ilaç olarak kullanılan bir bitkidir. Bu bitkinin sağlık üzerindeki olumlu etkileri, özellikle uçucu yağlar ve fenolik bileşikler gibi çeşitli biyoaktif bileşenlere atfedilmektedir. Bitkilerin kimyasal içeriği iklim, mevsim, coğrafi ve toprak koşullarına, hasat dönemine ve ekstraksiyon tekniğine bağlıdır.

Uçucu Yağ Bileşenleri

Origanum onites L.'nin uçucu yağları, çeşitli biyoaktif bileşenler içermekte olup, bu bileşenler bitkinin terapötik özelliklerinden sorumludur. Başlıca uçucu yağ bileşenleri şunlardır:

- Karvakrol: çoklu farmakolojik etkilere sahip, oksijenli bir monoterpendir. *Origanum onites* L.'nin uçucu yağının ana bileşenidir ve %50-70 oranında bulunabilir. Güçlü antimikrobiyal, antioksidan, anti-inflamatuar ve anti-kanserojen özelliklere sahiptir. Karvakrol, hücre zarlarını bozarak ve

bakteriyel enzimleri inhibe ederek antimikrobiyal etki gösterir (Can Baser 2008).

- Timol, antioksidan, antiinflamatuvar ve immünomodülatör aktiviteler de dahil olmak üzere çeşitli biyolojik özelliklere sahip fenolik monoterpen bileşigidir (Peng ve ark 2024). Karvakrol ve timolün yapısında bulunan serbest bir hidroksil grubunun ve fenol halkasının varlığı bu bileşiklere antibakteriyel ve antioksidan aktivite sağlar (Peter ve ark 2024).

Flavonoidler ve Diğer Fenolik Bileşikler

Flavonoidler ve diğer fenolik bileşikler, en az bir hidroksil grubu taşıyan aromatik bir halka tutan bitki sekonder metabolitleri olarak yaygın olarak bilinir (Tungmunnithum ve ark 2018).

Flavonoidler, *O. onites*'ten izole edilen ikinci yaygın bileşik sınıfıdır. Flavonlar, flavanonlar, izoflavonlar, flavonoller, flavononoller ve bunların glikosidik türevleri bu bitkiden izole edilmiştir. *Origanum onites L.*'nin kimyasal içeriğinde, kafeik asit ve rosmarinik asit başta olmak üzere gallik asit, ferulik asit de dahil dokuz farklı fenolik asit izole edilmiştir (Tepe ve ark 2016).

Hem flavonoidler hem de diğer birçok fenolik bileşenin etkili antioksidanlar, antikanser, antibakteriyel, kardiyoprotektif ajanlar, anti-inflamasyon, bağışıklık sistemini güçlendirici, cildi UV radyasyonundan koruma ve farmasötik ve tıbbi uygulama için ilginç adaylar olduğu bildirilmiştir (Tungmunnithum ve ark 2018).

1.3.2. *Origanum onites L.*'in Tıbbi Kullanımı

Geleneksel Türk tıbbında önemli bir yere sahip olan *O onites*, birçok biyolojik aktiviteye sahip olup çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. Antimikrobiyal, antikanser ve antiinflamatuvar etkilere sahiptir.

O. onites'in antimikrobiyal aktivitesi, yapısında bulunan fenolik asitler ve terpenoidler gibi bileşiklerle ilişkilendirilmiştir. Bitki ekstraktının, çoklu ilaca dirençli bakteriler de dahil olmak üzere çeşitli mikroorganizma suşlarına karşı önemli antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Antimikrobiyal aktivitesi sayesinde gıda endüstrisinde doğal koruyucu olarak kullanılmıştır (Canli ve ark 2023).

Bitkinin antioksidan özellikleri, serbest radikalleri nötralize etme nedeniyle önemlidir. Serbest radikaller, oksidatif strese ve hücrel hasara neden olabilen moleküllerdir. *O. onites*'in antioksidan özellikleri içeriğinde yüksek seviyede bulunan flavanoidler, fenolik asitler ve terpenoidlerden kaynaklanır. Bu sayede kanser, kalp hastalıkları ve diğer kronik hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Albayrak ve ark 2012, Canli ve ark 2023, Kubiliene ve ark 2023).

Yapılan çalışmalarda *O. Onites*'in biyoaktif bileşenlerinin, kanser hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği ve apoptozu indüklediği bildirilmiştir. Yapılan in vitro çalışmalarda *O onites*'in meme kanseri, kolon kanseri, hepatoselüler karsinom, kolorektal kanser üzerinde antikanser özellik gösterdiği bildirilmiştir (Özkan ve Erdoğan 2011, Baranauskaite ve ark 2017, Spyridopoulou ve ark 2019, Becer ve ark 2022).

O. onites'in diğer tıbbi kullanımları arasında sindirim sistemi sorunları, iltihaplanma ve solunum yolu enfeksiyonları gibi çeşitli hastalıkların tedavisi de yer alır. Ek olarak, antioksidan özelliği nedeniyle bitki, cilt sağlığı için de kullanılmaktadır (Kordali ve ark 2008, Albayrak ve ark 2012).

1.4. Origanum minutiflorum

Origanum minutiflorum (*O. minutiflorum*), Türkçede yaygın olarak “Yayla Kekliği” olarak bilinen tıbbi ve aromatik bitkiler arasında önemli yere sahip endemik bir bitkidir. Bitki özellikle Akdeniz bölgesinde, Toros Dağlarında yüksek rakımlarda yetişir.

O. minutiflorum, geleneksel olarak soğuk algınlığı, bronşit, öksürük, gastrointestinal hastalıklar gibi pek çok sağlık sorununun tedavisinde kullanılmıştır.

Bu bitkinin uçucu yağları, fenolik bileşikler açısından zengindir ve bu bileşikler bitkinin antimikrobiyal, antioksidan ve anti-inflamatuar özelliklerini sağlar (Şarer ve ark 1996, İsmail ve ark 2020).

1.4.1. Origanum minutiflorum'un Kimyasal İçeriği

Origanum minutiflorum'un uçucu yağının temel bileşenleri şunlardır:

- Karvakrol; *O. minutiflorum*'un uçucu yağının ana bileşenidir ve %50-90 oranında bulunur. Origanum türleri içerisinde en fazla karvakrol içeren türdür. Karvakrol güçlü antimikrobiyal ve antioksidan aktivite gösterir (Vardar-Ünlü ve ark 2007, Altundag ve ark 2011, ANLAŞ ve ark 2017, Göze ve ark 2017, Toker ve ark 2017, Kostić ve ark 2022, Veljovic ve ark 2023).
- P-cymen: *O. minutiflorum*'un uçucu yağında %3-8 oranında bulunur (Vardar-Ünlü ve ark 2007, Altundag ve ark 2011, Toker ve ark 2017, Veljovic ve ark 2023). P-cymen çeşitli farmakolojik özellikler göstermiştir. Bunlar arasında antimikrobiyal, antioksidan, antiinflamatuvar, antiparaziter, antidiyabetik, antiviral ve antitümör aktiviteler yer alır. Karvakrol ve timol ile sinerjik etkiye sahip olup, onların antimikrobiyal aktivitesini artırır (Balahbib ve ark 2021).
- γ -terpinen: *O. minutiflorum*'un uçucu yağında % 1-5 oranında bulunur (Vardar-Ünlü ve ark 2007, Toker ve ark 2017, Veljovic ve ark 2023). Antiinflamatuvar ve antioksidan aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Guo ve ark 2021).

Uçucu yağın diğer bileşenleri arasında α -pinen, β -pinen, linalool, terpinen-4-ol ve borneol gibi monoterenler ve seskiterpenler bulunur.

1.4.2. *Origanum minutiflorum*'un Tıbbi Kullanımı

Origanum minutiflorum'un tıbbi kullanımı özellikle antimikrobiyal, antioksidan, anti-inflamatuvar ve antiproliferatif özellikleriyle dikkat çekmektedir. Bu bitkinin tıbbi potansiyeli üzerine yapılan çeşitli çalışmalar, onun farklı hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde kullanılabileceğini göstermektedir.

O. minutiflorum'un uçucu yağı, çeşitli bakteriler ve mantarlara karşı güçlü antimikrobiyal etki gösterir. *Pseudomonas* spp. hariç *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Candida albicans* gibi patojenlere karşı yüksek etkinlik göstermiştir. Ayrıca uçucu yağın güçlü antifungal aktivite gösterdiği de bildirilmiştir. Uçucu yağların antifungal etkisi, antibakteriyel etkiye, oranla daha güçlüdür (Şarer , Altundag ve ark 2011, Göze ve ark 2016, Göze ve ark 2017, Albayrak ve Aksoy 2019).

Yapılan çalışmalarda *O. minutiflorum*'un antioksidan aktivitesi β -karotene/linoleik asid ve DPPH metotlarıyla belirlenmiştir. Hidrojen peroksit kaynaklı oksidatif stresi azaltarak antioksidan aktivite gösterir (Göze ve ark 2016, Albayrak ve Aksoy 2019, Veljovic ve ark 2023).

O. minutiflorum'un antitümör etkileri yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. *O. minutiflorum*'un uçucu yağının nöroblastom hücre hattı olan NB2a hücreleri üzerinde sitotoksik ve apoptotik bir etkiye sahip olduğu ve bu etkilerin bitkinin uçucu yağının indüklenabilir ve endotelial nitrik oksit sentaz düzeylerini artırıcı etkileri ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir.

Başka bir çalışmada *Origanum minutiflorum* sulu ekstresinin streptozotosin ile indüklenmiş sıçanlarda antidiyabetik potansiyeli araştırılmıştır. Vücut ağırlığı değişimi, kan glukoz seviyeleri, biyokimyasal ve histopatolojik değerlendirmeler sonucunda *O. minutiflorum*'un antidiyabetik tedaviyi destekleyici olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (Güllü ve ark 2023).

1.5. Bal

Bal, dünya genelinde tanınan, yüksek besin değeri ve sağlık açısından birçok yararlı etkiye sahip doğal bir gıdadır. Kimyasal içeriği ağırlıklı olarak karbonhidratlardan (%60-85) oluşur ve tüketildiğinde hızlı enerji sağlayan glikoz ve fruktoz gibi indirgen şekerleri içerir. Bunun yanı sıra, balda amino asitler, vitaminler, organik asitler, mineraller ve çeşitli fitokimyasallar gibi minör bileşenler de bulunmaktadır.

Balın kimyasal yapısı ve kalitesi, arıların çevresindeki bitki örtüsüne, topladıkları nektarın türü ve miktarına, bölgenin coğrafi konumuna, rakımına, sıcaklık değişimlerine ve kullanılan arı türlerinin genetik saflığı gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterebilir (Pehlivan ve Gül 2016).

Ülke arıcılığına olan katkısı ve bölge dışından gelen koloni hareketliliği göz önünde bulundurulduğunda, Ege Bölgesi'nin arıcılık sektöründeki önemi daha da artmaktadır. TÜİK'in 2020 verilerine göre, Ege Bölgesi'nde en yüksek bal üretimine sahip il Muğla'dır; burada 900.583 koloni ile 6.103 ton bal üretilmiştir. Muğla'yı,

257.738 koloni ve 3.643 ton bal üretimiyle Aydın, 273.949 koloni ve 1.493 ton bal üretimiyle İzmir izlemektedir (Koç ve ark 2023).

Bal, üretildiği botanik kaynağa göre monofloral (tek çiçek) veya polifloral (çok çiçek) olarak sınıflandırılabilir. Monofloral bal, ağırlıklı olarak tek bir bitki türünden elde edilirken, polifloral bal genellikle farklı bitki kaynaklarından üretilir ve halk arasında yabani çiçek balı olarak bilinir. Monofloral ballar, rafine aromaları ve tatları nedeniyle daha yüksek kaliteli olarak değerlendirilir ve tüketiciler tarafından sıklıkla tercih edilir, bu da pazarda daha yüksek bir değere ulaşmalarını sağlar. Balın botanik kökeni genellikle polen analizi ile belirlenir; bu süreçte balda bulunan polen türlerinin göreceli oranları incelenir. Polen yoğunluğu, baskın (> %45), ikincil (%15-45), önemli küçük (%3-15) ve küçük (%1-3) olmak üzere sınıflandırılır. Eğer bir polen türü balın %45'inden fazlasını oluşturuyorsa, bal tek çiçekli olarak kabul edilir (Özkök ve ark 2016).

Geleneksel olarak bal, yara iyileşmesi, gıda koruma ve gastrointestinal hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan doğal bir bileşendir. Son literatür, balın antibakteriyel, antioksidan, anti-inflamatuar ve kardiyoprotektif etkilerinin yanı sıra, obezite karşıtı potansiyeli ve mekânsal hafıza ile ilişkili nöro aktivasyon gibi çeşitli yararlı etkiler sunduğunu ortaya koymuştur (Lafraxo ve ark 2021).

1.5.1. Kekik Balı

Kekik balı, eski çağlardan beri bilinen ve Lamiaceae familyasından gelen, özel aroması ve tadıyla ünlü bir bal türüdür. Genellikle kehribar renginde olan bu balın rengi, arıların nektar topladığı baskın çiçek türlerine bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. Kekik, nane ailesinin en bilinen tamamlayıcı bitkilerinden biridir ve uçucu yağlar açısından zengin bir bitkidir. Timol ve karvakrol gibi uçucu yağlar, kekiğin kendine özgü kokusunu sağlarken, arılar bu bitkiden nektar topladığında kekik balına da karakteristik aromasını kazandırmaktadır.

Kekik balı, fenolik bileşikler ve flavonoidler açısından zengin olup, koyu renkli ballar arasında yüksek antioksidan içeriğe sahip türlerden biridir. Ayrıca, B, A ve E vitaminleri içerir ve sağlık açısından çeşitli faydalar sunar. Bu balın, bağırsak sağlığını desteklediği, nefes darlığı ve astım semptomlarını hafiflettiği, öksürük ve boğaz

ağrısını yatıştırdığı, eklem ağrılarını azalttığı ve beyin-sinir sistemi üzerinde olumlu etkiler gösterdiği bildirilmiştir. Bunun yanı sıra, epilepsi ve konvülsiyonları hafifletebileceği, baş ağrısı ve migreni yatıştırabileceği ve adet sancılarını azaltabileceği öne sürülmektedir.

Diyabet hastaları için önerilen birkaç bal türünden biri olan kekik balı, yapılan çalışmalarda toplamda 14 bileşiğin analiz edilmesiyle bitki belirteci olarak tanımlanmış ve bunların 12'sinin fenolik bileşikler olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, yağ peroksidasyonunu azaltmada önemli bir rol oynayarak güçlü antibakteriyel ve antioksidan özellikler gösterdiği tespit edilmiştir. Bu özellikleriyle kekik balı, sağlık açısından yüksek değere sahip doğal bir fonksiyonel gıda olarak değerlendirilmektedir (Safarian ve ark 2023).

Türkiye'de tek çiçekli kekik balının üretimi ne yazık ki nadirdir, çünkü kekik bitkileri genellikle çiçeklenme döneminden önce ot olarak toplanır. Tarihsel olarak kekik balı, enfekte yaraların tedavisi ve doğal bir antibiyotik olarak kullanılmıştır. Araştırmalar, balın Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler, aerobik ve anaerobik mikroorganizmalar dahil olmak üzere birçok bakteriye karşı geniş spektrumlu bir antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur (Molan 1992).

Yapmış olduğumuz bu tez çalışmasında amacımız, PPE ile KOAH oluşturulan ratlarda, kekik balı ve sulu ekstraktı elde edilen *origanum onites L.* ve *origanum minutiflorum*'un etkilerini araştırmaktır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereçler

2.1.1. Sarf Malzemeler

- Bistüri ucu
- Enjektör (5 mL)
- İnsülin enjektörü
- 50 mL'lik flakon
- Gavaj enjektörü
- Eppendorf (5 mL ve 1,5 mL'lik)
- Heparinli kan gazı enjektörü
- Patoloji numune kabı

2.1.2. Kullanılan Kimyasallar

- Ksilazin (anestezik madde)
- Isoflouran (anestezik madde)
- Domuz pankreatik elastaz enzimi (PPE) [Sigma chemical (St Louis, MO)]
- Elabscience Rat Anti-CD8+ Antibody Reagent (Flow sitometri rat kiti)
- Elabscience Anti-Rat CD3 Antibody Reagent (Flow sitometri rat kiti)
- Elabscience Anti-Rat CD4 Antibody Reagent (Flow sitometri rat kiti)
- %10'luk formaldehit
- Lysing Solüsyon
- Bioassay Technology Laborotry Rat IL-1a (Interleukin 1 alfa) ELISA Kit
- Bioassay Technology Laborotry Rat IL-33 (Interleukin 33) ELISA Kit
- Bioassay Technology Laborotry Rat HMGB1 ELISA Kit
- Bioassay Technology Laborotry Rat MMP9 ELISA Kit
- Bioassay Technology Laborotry Rat TIMP1 ELISA Kit
- PBS

2.1.3. Kullanılan Cihazlar

- Odyoskop
- Hassas terazi
- ABL9 kan gazı analizörü
- Distile su cihazı
- Beckman Coulter flow sitometri cihazı
- Rayto-2100C Microplate Reader (India) ELISA Cihazı
- Rayto-2600C Microplate Washer Yıkama Cihazı
- Etüv
- Santrifüj cihazı
- Vorteks
- Otomatik pipet
- Soxhlet ekstraksiyon cihazı
- Rotary evaporatör
- Aneztezi makinesi
- Oksijen tüpü
- Olympus BX53 ışık mikroskopu

2.2. Yöntem

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim dalı, Patoloji Anabilim dalı ve Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinde (SÜDAM) gerçekleştirildi. Çalışma için etik kurul onayı 2023/26 karar sayısı ile SÜDAM'dan alındı ve hayvanlar aynı kurumdan temin edildi. Kekik balı için yapılan polen analizi sonucunda balda kekik poleni olmadığı tespit edildi. Bu sebeple tezin bu kısmından itibaren kekik balı yerine bal terimi kullanıldı.

2.2.1. Bitki Ekstraksiyonu

Origanum onites L. Konya ili Hadim/Taşkent bölgesinden, *origanum minutiflorum* Hatay ili bölgesinden, Bal, Muğla ilinden doğal üreticilerden temin edildi. Toplanan kekikler direk güneş ışığına maruz kalmadan gölgede kurutuldu.

Origanum onites L. ve *origanum minutiflorum* ayrı ayrı 30 gr olarak tartıldı. 30 gr bitki ile 300 mL distile su (çözücü) balon joje içinde 90-95 °C'de Soxhlet ekstraksiyon cihazında 8 saat ekstraksiyona tabi tutuldu. Ekstraksiyon sonrası ekstraktlerdeki çözücüler 90 °C'de Rotary Evaporatör cihazı ile uzaklaştırıldı. Balonlarda kalan ekstraktler, ultrasonikatör kullanılarak 37 °C'de 5 dk süre ile minimal miktarda çözücü ile (4-5 mL distile su) sonike edilerek flakonlara aktarıldı. Flakonlar ağzı kapalı su banyosu üzerinde 1 hafta bekletilerek çözücülerin uçması ve ekstraktlerin kuruması sağlandı.

2.2.2. *Origanum onites L.* Ve *Origanum minutiflorumun* Uçucu Yağ, Fenolik Madde ve Organik Asit İçeriğinin Belirlenmesi

Origanum türlerinin uçucu yağ analizi GC-MS ile fenolik madde ve organik asit içeriği HPLC yöntemi ile yapıldı.

Uçucu yağların gaz kromatografisi ile analizi

Origanum onites L. ve *origanum minutiflorumdaki* uçucu yağlar, Clevenger tipi aparat kullanılarak hidrodistilasyon ve buhar distilasyonu yöntemi ile 4 saat süreyle elde edildi. Uçucu yağların gaz kromatografisi (GC) analizleri, alev iyonizasyon dedektörü (FID) ile donatılmış bir gaz kromatografi sistemi ve füzyon silika kapiler kolon kullanılarak gerçekleştirildi. Fırın sıcaklığı başlangıçta 60°C'de 5 dakika tutuldu, ardından 3°C/dk hızında 220°C'ye kadar yükseltildi ve bu sıcaklıkta 15 dakika sabitlendi. Taşıyıcı gaz olarak helyum kullanıldı.

GC-MS analizleri, füzyon silika kapiler kolon ile donatılmış bir gaz kromatografi-kütle spektrometri (GC-MS) sistemi kullanılarak gerçekleştirildi. GC-MS tespiti için iyonizasyon enerjisi 70 eV olan bir elektron iyonizasyon sistemi kullanıldı. Uçucu yağ bileşenlerinin tanımlanması, kapiler kolondaki n-alkanlara göre belirlenen gaz kromatografi alıkonma indisleri ile kütle spektrometresi verilerinin standart kütüphane verileri (NIST ve Wiley GC-MS sistem veritabanları) ile karşılaştırılması yoluyla yapıldı.

HPLC ile organik asit analizleri

Ekstraktlardaki organik asitler, katı-sıvı ekstraksiyon yöntemi ile analiz edildi. Bu amaçla, öncelikle Supelco C18 katı faz kartuşu 3 mL metanol ile şartlandı ve ardından 10 mL distile su ile yıkandı. Numuneden 1mL alınıp üzerine 5 mL %2'lik H₃PO₄ çözeltisi eklenerek homojenize edildi ve Whatman No: 42 filtre kağıdından süzüldü.

Elde edilen elüattan 1 mL alınarak 1 mL ekstraksiyon çözeltisi ile seyreltildi (ekstraksiyon çözeltisi olarak pH 8'e ayarlandı 0.01 M KH₂PO₄ çözeltisi hazırlandı). Bu çözeltiden 1 mL kartuşa geçirildi ve eluat bir tüpe alındı. Kartuş 1 mL ekstraksiyon çözeltisi ile yıkandı, elde edilen tüm eluatlar birleştirilerek HPLC cihazına (Shimadzu, Tokyo-Japonya) 20 µL enjeksiyon hacmi ile enjekte edildi (Kordis-Krapez ve ark 2001).

HPLC ile fenolik madde analizleri

Origanum sulu ekstraktlarının fenolik profillerini belirlemek için, ekstraktlardan şekerleri ve organik asitleri uzaklaştırarak fenolik bileşenleri elde etmek amacıyla C18 Sep-Pac kartuşları kullanılarak bir saflaştırma işlemi gerçekleştirildi. Koşullandırılmış C18 SPE kartuşlarına (Agilent, ABD) 2 mL ekstrakt yüklendi ve sırasıyla su, etil asetat ve metanol geçirildi. Organik asitler ve şekerler gibi fenolik olmayan safsızlıkları uzaklaştırmak için öncelikle kartuş su ile yıkandı, ardından fenolik bileşenler etil asetat ve metanol kullanılarak ayrıldı.

Etil asetat ve metanol ile elde edilen yıkamalar, 35°C'de döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı, ardından 1 mL metanol içinde yeniden çözüldü. Elde edilen çözeltiler, 20 µL enjeksiyon hacmi ile otomatik numune alıcı kullanılarak HPLC cihazına gönderildi (Coklar ve Akbulut, 2017).

Origanum ekstraktlarındaki fenolik bileşenlerin analizi, DAD dedektörü (λ_{max} = 278 nm), DGU-14A degasser, LC-10ADvp pompa, SIL-ADvp otomatik numune alıcı, SCL-10Avp sistem kontrolörü ve CTO-10Avp kolon fırını ile donatıldı bir Shimadzu HPLC sistemi (Shimadzu, Japonya) kullanılarak gerçekleştirildi.

HPLC Sistemleri

Organik Asit Analizi İçin Kromatografik Koşullar:

- Kolon: Teknochroma TRACER EXTRASIL ODS (2) (5 µ, 250×4.6 mm) (TR-016059)
- Enjeksiyon Hacmi: 20 µL
- Dalga Boyu: 210 nm
- Mobil Faz: H₃PO₄/H₂O (pH: 2.2)
- Akış Hızı: 0.8 mL/dk

Fenolik Analizler İçin Kromatografik Koşullar:

- Kolon: Agilent Eclipse XDB-C18 (5 µ, 250×4.6 mm)
- Enjeksiyon Hacmi: 20 µL
- Dalga Boyu: 278 nm
- Mobil Faz:
 - A: %3 asetik asit
 - B: Metanol
- Akış Hızı: 0.8 mL/dk

2.2.3. DPPH ile Balın Serbest Radikal Temizleme Aktivitesi Tayini

Bal örneklerinin serbest radikal temizleme aktivitesi, (Chua ve ark 2013) tarafından açıklandığı gibi, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) testiyle belirlendi. DPPH · çözeltisi (20 mg/L), 2 mg DPPH · 'nin metanolde (100 mL) çözülmesiyle hazırlandı. 20 ila 40 mg/mL arasında değişen farklı konsantrasyonlarda 0,75 mL metanollü bal çözeltisi, 1,5 mL DPPH · çözeltisine eklendi. Absorbans, 25°C'de 15 dakikalık inkübasyondan sonra 517 nm'de ölçüldü. BHT (Butillenmiş hidroksitoluen) ve BHA (Butillenmiş hidroksianisol) pozitif kontrol olarak kullanıldı. DPPH'yi

temizleme yeteneği, (Erlund 2004) yöntemine göre hesaplandı. Burada, A_{kontrol} ve A_{numune} sırasıyla kontrol ve numunenin absorbanslarını ifade etmektedir. DPPH'nin %50'sini temizlemek için gereken bal numunesi konsantrasyonu (EC_{50}), 0–10 mg/L aralığındaki BHT/BHA kalibrasyon eğrisine göre belirlendi. Deneyler, üç kez tekrarlanarak gerçekleştirildi.

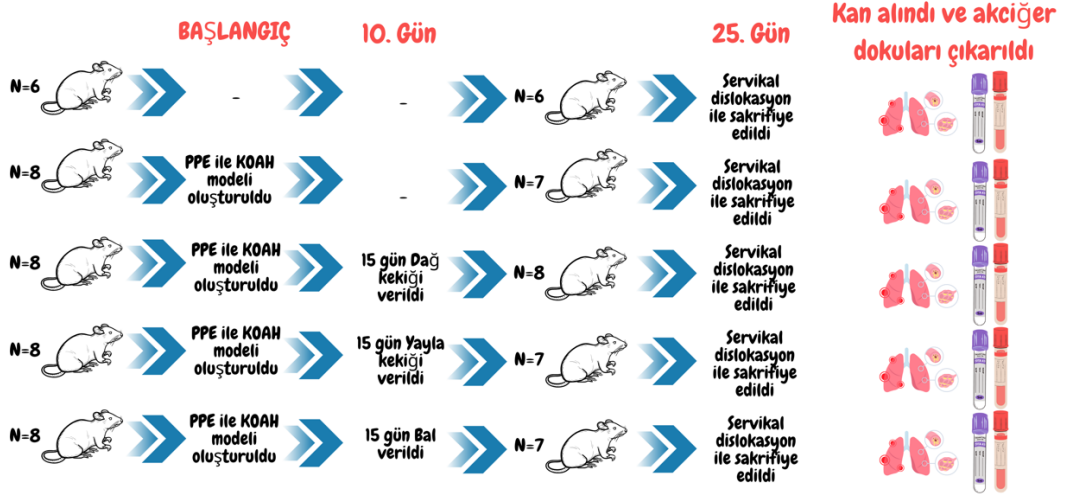
$$\text{DPPH süpürme yüzdesi (\%)} = \left(\frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{numune}}}{A_{\text{kontrol}}} \right) \times 100$$

2.2.4. Deney Grupları

Araştırmada Wistar Albino ırkı ortalama 250 gr ağırlığında, 6 aylık 38 adet dişi rat kullanıldı. Ratlar rastgele olarak 5 gruba ayrıldı. Kontrol grubunda 6, Sham grubunda 8, kekik ve bal uygulama gruplarında 8 adet hayvan olacak şekilde gruplandırıldı.

Gruplardaki tüm hayvanlar, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık periyodu uygulanarak 21-22 °C'de su ve yiyecek kısıtlamasına gidilmeden barındırıldı. Anestezi işlemlerinden 12 saat önce tüm ratlara yiyecek kısıtlaması uygulandı. Tüm hayvanların başlangıç ve son ağırlıkları kaydedildi.

- Kontrol Grubu (n=6)
- Sham Grubu (n=8)
- Grup 1: Dağ kekiği (DK) (n=8)
- Grup 2: Yayla kekiği (YK) (n=8)
- Grup 3: Bal (n=8)



Şekil 2.1 Deney akış şeması.

2.2.5. KOAH Oluşturma Protokolü

Ratlarda KOAH modeli oluşturmak için domuz pankreatik elastaz enzimi (PPE) kullanıldı. Anestezik madde olarak ketamin, solunum depresyonu yaratabilirken, ksilazin bu etkileri güçlendirebilir. Kan gazları üzerinde Isofluranenin etkisi daha hafif olup, solunum hızı azalsa da bu durum denetlenebilirken, ketamin ve ksilazin kombinasyonu, solunum depresyonu nedeniyle kan gazları üzerinde daha fazla etki yapabilir. Genel olarak, Isoflurane daha stabil ve kontrollü bir anestezi sunarken, ksilazin ve ketamin kombinasyonu daha basit ve hızlı bir anestezi sağlasa da solunum ve kardiyovasküler sistem üzerinde daha fazla etkisi olabilir.

PPE uygulaması öncesi ratlara anestezik madde olarak inhalasyon yoluyla %3-5 Isoflurane konsantrasyonu, 1-2 L/dakika oksijen akış hızıyla uygulanması planlandı. Fakat intratrakeal PPE enjeksiyonu kısa süreli bir işlem olmadığından Isoflurane ile anestezisi yeterli kalmadı. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi öğretim üyelerinin de önerisiyle PPE oluşturma protokolünde ksilazin/ketamin ile anestezi gerçekleştirildi. Anestezi sonrası 55 U/100 gr PPE, 0,5 mL NaCl ile karıştırılarak hazırlandı (Borzzone ve ark 2007). İntratrakeal olarak verildi (Şekil 2.2).



Şekil 2.2 Ratlarda intratrakeal PPE uygulaması ile KOAH modeli oluşturma.

2.2.6. KOAH Protokolünün Doğrulanması

Ratlarda PPE ile KOAH modeli oluşturduktan sonra 3. gün tüm hayvanların kuyruklarından heparinli kan gazı enjektörüne venöz kan alındı ve kan gazı analizleri yapıldı. KOAH modeli oluşturduktan 10 gün sonra Sham grubundan rastgele bir hayvan seçilerek anestezi (Isoflurane ile) altında heparinli kan gazı enjektörüne kuyruk kısmından kan alındı (Şekil 2.3). Kan gazı parametreleri, kan gazı analizörü ile incelendi. Hayvan ötenazi yöntemi ile sakrifiye edildi. Akciğer dokuları çıkarıldı, dokular histopatolojik inceleme için %10'luk formaldehit içerisinde muhafaza edildi.



Şekil 2.3 Genel anestezi altında kuyruktan venöz kan alımı.

2.2.7. Grupların Tedavisi ve Uygulanan İşlemler

Kontrol grubu (n=6): Bu gruptaki ratlara çalışmanın ilk gününden 15. gününe kadar herhangi bir işlem uygulanmadı. Ratlar 12 saat karanlık 12 saat aydınlık ortamda muhafaza edildiler. Yiyecek kısıtlamasına gidilmedi. 15 günün sonunda bu gruptaki tüm ratlardan genel anestezi altında kalpten kan örnekleri alındı. Mor kapaklı EDTA'lı tüp, sarı kapaklı jelli tüp ve heparinli kan gazı enjektörüne alınan kan örnekleri analizlerde kullanıldı. Sakrifikasyonun ardından ratların akciğer dokuları çıkarıldı. Histopatolojik inceleme için akciğer dokuları %10'luk formaldehit içinde muhafaza edildi.

Sham grubu (n=7): Ratlar 12 saat karanlık 12 saat aydınlık ortamda muhafaza edildiler. Yiyecek kısıtlamasına gidilmedi. KOAH modeli oluşturmak için bu gruptaki ratlara ksilazin/ketamin ile anestezi sonrası PPE 55 U/100gr konsantrasyonunda 0,5 mL NaCl ile karıştırılarak hazırlandı ve intratrakeal olarak ratlara verildi. Bu gruptaki ratlara herhangi bir tedavi uygulanmadı. 15 günün sonunda bu gruptaki tüm ratlardan genel anestezi altında kalpten kan örnekleri alındı. Mor kapaklı EDTA'lı tüp, sarı kapaklı jelli tüp ve heparinli kan gazı enjektörüne alınan kan örnekleri analizlerde kullanıldı. Sakrifikasyonun ardından ratların akciğer dokuları çıkarıldı. Histopatolojik inceleme için akciğer dokuları %10'luk formaldehit içinde muhafaza edildi.

Grup 1: Dağ kekiği (n=8): Ratlar 12 saat karanlık 12 saat aydınlık ortamda muhafaza edildiler. Yiyecek kısıtlamasına gidilmedi. KOAH modeli oluşturmak için bu gruptaki ratlara ksilazin/ketamin ile anestezi sonrası PPE 55 U/100gr konsantrasyonunda 0,5 mL NaCl ile karıştırılarak hazırlandı ve intratrakeal olarak ratlara verildi. Bu gruptaki ratlara çalışma süresi boyunca 500 mg/kg (Sharifi-Rigi ve ark 2024) dozunda *Origanum onites L.* ekstraktı tedavisi gavaj yoluyla uygulandı (Şekil 2.4). 15 günün sonunda bu gruptaki tüm ratlardan genel anestezi altında kalpten kan örnekleri alındı. Mor kapaklı EDTA'lı tüp, sarı kapaklı jelli tüp ve heparinli kan gazı enjektörüne alınan kan örnekleri analizlerde kullanıldı. Sakrifikasyonun ardından ratların akciğer dokuları çıkarıldı. Histopatolojik inceleme için akciğer dokuları %10'luk formaldehit içinde muhafaza edildi.

Grup 2: Yayla kekiği (n=8): Ratlar 12 saat karanlık 12 saat aydınlık ortamda muhafaza edildiler. Yiyecek kısıtlamasına gidilmedi. KOAH modeli oluşturmak için

bu gruptaki ratlara ksilazin/ketamin ile anestezi sonrası PPE 55 U/100gr konsantrasyonunda 0,5 mL NaCl ile karıştırılarak hazırlandı ve intratrakeal olarak ratlara verildi. Bu gruptaki ratlara çalışma süresi boyunca 500 mg/kg (Sharifi-Rigi ve ark 2024) dozunda *origanum minutiflorum* ekstraktı tedavisi gavaj yoluyla uygulandı (Şekil 2.4). 15 günün sonunda bu gruptaki tüm ratlardan genel anestezi altında kalpten kan örnekleri alındı. Mor kapaklı EDTA'lı tüp, sarı kapaklı jelli tüp ve heparinli kan gazı enjektörüne alınan kan örnekleri analizlerde kullanıldı. Sakrifikasyonun ardından ratların akciğer dokuları çıkarıldı. Histopatolojik inceleme için akciğer dokuları %10'luk formaldehit içinde muhafaza edildi.

Grup 3: Bal (n=8): Ratlar 12 saat karanlık 12 saat aydınlık ortamda muhafaza edildiler. Yiyecek kısıtlamasına gidilmedi. KOAH modeli oluşturmak için bu gruptaki ratlara ksilazin/ketamin ile anestezi sonrası PPE 55 U/100gr konsantrasyonunda 0,5 mL NaCl ile karıştırılarak hazırlandı ve intratrakeal olarak ratlara verildi. 5 gr kekik balı 10 mL distile suda çözüldü. Kekik balı grubundaki ratlara çalışma süresi boyunca 2 gr/kg kekik balı tedavisi (Lafraxo ve ark 2021) gavaj yoluyla uygulandı (Şekil 2.4). 15 günün sonunda bu gruptaki tüm ratlardan genel anestezi altında kalpten kan örnekleri alındı. Mor kapaklı EDTA'lı tüp, sarı kapaklı jelli tüp ve heparinli kan gazı enjektörüne alınan kan örnekleri analizlerde kullanıldı. Sakrifikasyonun ardından ratların akciğer dokuları çıkarıldı. Histopatolojik inceleme için akciğer dokuları %10'luk formaldehit içinde muhafaza edildi.



Şekil 2.4 Gavaj yolu ile kekik ekstraktları ve kekik balının intaperitoneal enjeksiyonu.

2.2.8. Venöz Kan Gazı Analizi

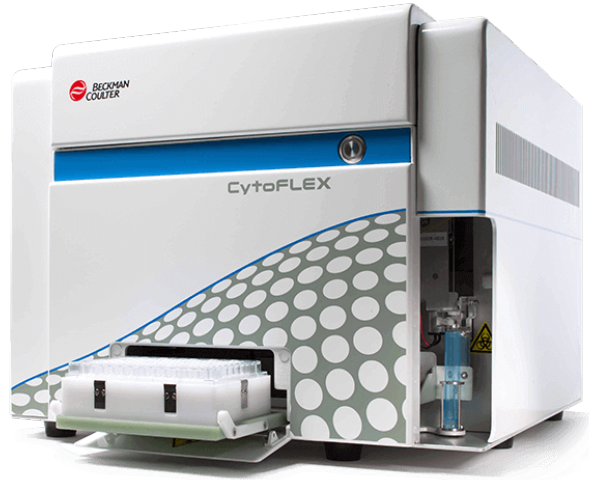
Çalışma süresinin sonunda Isoflourane ile anestezi yapılan ratların kalplerinden heparinli kan gazı enjektörüne kan örnekleri alındı. ABL9 kan gazı analizörü (Şekil 2.5) kullanılarak alınan kan örneklerinde bekletilmeden kan gazı parametreleri analiz edildi. Analizde pH, parsiyel karbondioksit basıncı, parsiyel oksijen basıncı, bikarbonat ve oksijen satürasyonu yüzdesi belirlendi.



Şekil 2.5 Kan gazı analizörü

2.2.9. Akım Sitometri ile CD3⁺, CD4⁺ ve CD8⁺ Analizi

Akım sitometri ile CD3⁺, CD4⁺ ve CD8⁺ hücrelerinin yüzdelerini belirlemek için Anti-Rat CD3⁺, CD4⁺ ve CD8⁺ monoklonal antikorları (Elabscience Bionovation ,inc.) ile boyandı. Ratlardan alınan kan örnekleri mor kapaklı EDTA'lı tüplere aktarıldı. Her bir numune için ayrı ayrı parmak cam tüp alındı. Tüplere 100 µL kan numunesi alındı. Her tüpe ayrı ayrı CD3⁺, CD4⁺ ve CD8⁺ antikorları prosedüre göre eklendi. Hücrelerin parçalanması için 600 µL Lysing solüsyonu eklenip karanlıkta 10 dakika inkübe edildi. 1500 rpm'de 3 dakika santrifüj edildi. Süpernatant kısmı atıldı, kalan pelete 1000 µL fosfat buffer solüsyon (PBS) eklenip 1500 rpm'de 3 dakika santrifüj edildi. Süpernatant kısmı atıldı, pelete 500 µL PBS eklenip karanlıkta 5 dakika inkübasyona bırakıldı. Analiz için Beckman Coulter CytoFLEX marka flow sitometri cihazı (Şekil 2.6) kullanıldı. Hücreler CD3⁺, CD4⁺ ve CD8⁺ olarak sınıflandırıldı ve yüzdeleri elde edildi.



Şekil 2.6 Beckman Coulter Akım sitometri cihazı

2.2.10. ELISA ile IL-1 α , IL-33, HMGB1, MMP9 ve TIMP1 Analizi

IL-1 α düzeylerinin ELISA yöntemi ile tespiti

- Tüm reaktifler, standart solüsyonları ve serum numuneleri oda sıcaklığına getirildi.
- Çalışma öncesinde numuneler 2-3 saniye vortekslendi.
- Standartların hazırlanması: 320 ng/L konsantrasyondaki ana stok çözeltisinden seri dilüsyonla 160, 80, 40, 20 ve 10 ng/L konsantrasyonda standartlar hazırlandı.
- Standart kuyucuklarına 50 μ L farklı konsantrasyondaki standartlardan eklendi. Standart kuyucuklarına Biotinlenmiş antibody eklenmedi çünkü standart solüsyonları zaten Biotinlenmiş antibody içeriyordu. Blank kuyucuğuna sample dilüent eklendi.
- Numune kuyucuklarına her bir numuneden 40 μ L eklendi ve üzerine 10 μ L anti-IL-1 α antibody eklendi.
- Tüm kuyucuklara 50 μ L Streptavidin-HRP eklendi (Blank kuyucuğu hariç).
- Plate 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.
- İnkübasyonun ardından plate, otomatik ELISA plate yıkayıcı cihazda 5 kez yıkandı.
- 50 μ L Substrat solüsyon A ve 50 μ L Substrat solüsyon B eklendi. Karanlıkta 37°C'de 15 dakika inkübe edildi. Mavi renk oluşumu gözlemlendi.

- 50 µL Stop solüsyonu eklendi. Sarı renk oluşumu gözlemlendi.
- ELISA okuyucuda 450 nm'de optik dansite ölçüldü.
- Sensitivity: 0,48 ng/L

IL-33 düzeylerinin ELISA yöntemi ile tespiti

- Tüm reaktifler, standart solüsyonları ve serum numuneleri oda sıcaklığına getirildi.
- Çalışma öncesinde numuneler 2-3 saniye vortekslendi.
- Standartların hazırlanması: 480 ng/L konsantrasyondaki ana stok çözeltisinden seri dilüsyonla 240, 120, 60, 30 ve 15 ng/L konsantrasyonda standartlar hazırlandı.
- Standart kuyucuklarına 50 µL farklı konsantrasyondaki standartlardan eklendi. Standart kuyucuklarına Biotinlenmiş antibody eklenmedi çünkü standart solüsyonları zaten Biotinlenmiş antibody içeriyordu. Blank kuyucuğuna sample dilüent eklendi.
- Numune kuyucuklarına her bir numuneden 40 µL eklendi ve üzerine 10 µL anti-IL-33 antibody eklendi.
- Tüm kuyucuklara 50 µL Streptavidin-HRP eklendi (Blank kuyucuğu hariç).
- Plate 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.
- İnkübasyonun ardından plate, otomatik ELISA plate yıkayıcı cihazda 5 kez yıkandı.
- 50 µL Substrat solüsyon A ve 50 µL Substrat solüsyon B eklendi. Karanlıkta 37°C'de 15 dakika inkübe edildi. Mavi renk oluşumu gözlemlendi.
- 50 µL Stop solüsyonu eklendi. Sarı renk oluşumu gözlemlendi.
- ELISA okuyucuda 450 nm'de optik dansite ölçüldü.
- Sensitivity: 0,56 ng/L

HMGB1 düzeylerinin ELISA yöntemi ile tespiti

- Tüm reaktifler, standart solüsyonları ve serum numuneleri oda sıcaklığına getirildi.
- Çalışma öncesinde numuneler 2-3 saniye vortekslendi.

- Standartların hazırlanması: 32 ng/mL konsantrasyondaki ana stok çözeltisinden seri dilüsyonla 16, 8, 4, 2 ve 1 ng/mL konsantrasyonda standartlar hazırlandı.
- Standart kuyucuklarına 50 µL farklı konsantrasyondaki standartlardan eklendi. Standart kuyucuklarına Biotinlenmiş antibody eklenmedi çünkü standart solüsyonları zaten Biotinlenmiş antibody içeriyordu. Blank kuyucuğuna sample dilüent eklendi.
- Numune kuyucuklarına her bir numuneden 40 µL eklendi ve üzerine 10 µL anti-HMGB1 antibody eklendi.
- Tüm kuyucuklara 50 µL Streptavidin-HRP eklendi (Blank kuyucuğu hariç).
- Plate 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.
- İnkübasyonun ardından plate, otomatik ELISA plate yıkayıcı cihazda 5 kez yıkandı.
- 50 µL Substrat solüsyon A ve 50 µL Substrat solüsyon B eklendi. Karanlıkta 37°C'de 15 dakika inkübe edildi. Mavi renk oluşumu gözlemlendi.
- 50 µL Stop solüsyonu eklendi. Sarı renk oluşumu gözlemlendi.
- ELISA okuyucuda 450 nm'de optik dansite ölçüldü.
- Sensitivity: 0,051 ng/mL

MMP-9 düzeylerinin ELISA yöntemi ile tespiti

- **Doku homojenizasyonu:** -80 °C'de muhafaza edilen akciğer dokularının her birinden 1 gram tartıldı. 50 mL'lik flakon tüp içerisine alındı ve üzerine 9 mL PBS eklendi. Homojenizatör aracılığı ile buz üzerinde homojen hale getirildi. 5000 g'de 5 dakika santrifüj edildi. Supernatant kısmı alındı.
- Tüm reaktifler, standart solüsyonları ve doku homojenatları oda sıcaklığına getirildi.
- Çalışma öncesinde numuneler 2-3 saniye vortekslendi.
- Standartların hazırlanması: 12.8 ng/mL konsantrasyondaki ana stok çözeltisinden seri dilüsyonla 6.4, 3.2, 1.6, 0.8 ve 0.4 ng/mL konsantrasyonda standartlar hazırlandı.
- Standart kuyucuklarına 50 µL farklı konsantrasyondaki standartlardan eklendi. Standart kuyucuklarına Biotinlenmiş antibody eklenmedi çünkü standart

solüsyonları zaten Biotinlenmiş antibody içeriyordu. Blank kuyucuğuna sample dilüent eklendi.

- Numune kuyucuklarına her bir numuneden 40 µL eklendi ve üzerine 10 µL anti-MMP-9 antibody eklendi.
- Tüm kuyucuklara 50 µL Streptavidin-HRP eklendi (Blank kuyucuğu hariç).
- Plate 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.
- İnkübasyonun ardından plate, otomatik ELISA plate yıkayıcı cihazda 5 kez yıkandı.
- 50 µL Substrat solüsyon A ve 50 µL Substrat solüsyon B eklendi. Karanlıkta 37°C'de 15 dakika inkübe edildi. Mavi renk oluşumu gözlemlendi.
- 50 µL Stop solüsyonu eklendi. Sarı renk oluşumu gözlemlendi.
- ELISA okuyucuda 450 nm'de optik dansite ölçüldü.
- Sensitivity: 0,01 ng/mL

TIMP-1 düzeylerinin ELISA yöntemi ile tespiti

- **Doku homojenizasyonu:** -80 °C'de muhafaza edilen akciğer dokularının her birinden 1 gram tartıldı. 50 mL'lik flakon tüp içerisine alındı ve üzerine 9 mL PBS eklendi. Homojenizatör aracılığı ile buz üzerinde homojen hale getirildi. 5000 g'de 5 dakika santrifüj edildi. Supernatant kısmı alındı.
- Tüm reaktifler, standart solüsyonları ve doku homojenatları oda sıcaklığına getirildi.
- Çalışma öncesinde numuneler 2-3 saniye vortekslendi.
- Standartların hazırlanması: 16 ng/mL konsantrasyondaki ana stok çözeltisinden seri dilüsyonla 8, 4, 2, 1 ve 0.5 ng/mL konsantrasyonda standartlar hazırlandı.
- Standart kuyucuklarına 50 µL farklı konsantrasyondaki standartlardan eklendi. Standart kuyucuklarına Biotinlenmiş antibody eklenmedi çünkü standart solüsyonları zaten Biotinlenmiş antibody içeriyordu. Blank kuyucuğuna sample dilüent eklendi.
- Numune kuyucuklarına her bir numuneden 40 µL eklendi ve üzerine 10 µL anti-TIMP-1 antibody eklendi.
- Tüm kuyucuklara 50 µL Streptavidin-HRP eklendi (Blank kuyucuğu hariç).
- Plate 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.

- İnkübasyonun ardından plate, otomatik ELISA plate yıkayıcı cihazda 5 kez yıkandı.
- 50 µL Substrat solüsyon A ve 50 µL Substrat solüsyon B eklendi. Karanlıkta 37°C'de 15 dakika inkübe edildi. Mavi renk oluşumu gözlemlendi.
- 50 µL Stop solüsyonu eklendi. Sarı renk oluşumu gözlemlendi.
- ELISA okuyucuda 450 nm'de optik dansite ölçüldü.
- Sensitivity: 0,02 ng/mL

2.2.11. Histopatolojik İnceleme

Histopatolojik incelemeler için akciğer dokuları, sakrifiye edilen hayvanlardan çıkartıldıktan sonra derhal %10'luk tamponlu formalin solüsyonu içerisinde fikse edildi. Fiksasyon süreci, dokuların morfolojik yapılarını koruyarak detaylı bir değerlendirme yapılabilmesi amacıyla 24 saat olarak belirlendi. Fiksasyon sonrasında, her bir hayvanın sağ ve sol akciğer loblarından 1x1 cm boyutlarında doku örnekleri alındı. Alınan bu örnekler rutin histolojik işlem süreçlerine tabi tutularak parafin bloklara gömüldü.

Parafin bloklardan mikrotom kullanılarak 4 mikron kalınlığında kesitler alındı ve bu kesitler lamalar üzerine yerleştirildi. Kesitler, hematoxilen-eozin (H&E) boyama protokolüne uygun şekilde boyanarak doku yapısı ve patolojik değişikliklerin detaylı incelenmesi için hazırlandı.

Boyanan lamalar Olympus BX53 model bir ışık mikroskopunda incelendi. Akciğer parankiminde amfizem gelişimi, alveol duvar yapısı, bronşiooller ve damarlar etrafında inflamatuvar hücre infiltrasyonu dikkatlice değerlendirildi.

Amfizem değerlendirmesinde; alveolar genişleme ve yıkım derecesi belirlendi. Normal alveoler yapının kaybı değerlendirildi. Amfizem gelişim durumu şu şekilde skorlandı:

- Derece 0 (Yok): Alveolar genişleme veya yıkım yoktur; normal alveoler yapı tamamen korunmuştur.
- Derece 1 (Hafif): Hafif derecede alveolar genişleme vardır; alveoler duvarlarda minimal yıkım görülür ve yapı büyük ölçüde korunur.

- Derece 2 (Orta): Orta derecede alveolar genişleme ve yıkım vardır; bazı alveoler duvarlar kaybolmuştur ve yapı bozulmuştur.
- Derece 3 (Şiddetli): Yaygın ve şiddetli alveolar genişleme ile alveoler duvarların ciddi derecede yıkımı mevcuttur; normal alveoler yapı neredeyse tamamen kaybolmuştur.

Doku inflamasyonu; İnflamasyonun varlığı ve şiddeti değerlendirildi. Doku yapısındaki değişiklikler göz önüne alındı. İnflamasyon yaygınlığı ve şiddetine göre aşağıdaki gibi sınıflandı:

- Derece 0 (Normal): Hiçbir inflamasyon belirtisi yoktur.
- Derece 1 (Hafif): İnflamatuar hücrelerin hafif bir infiltrasyonu görülür, ancak dokunun yapısı büyük ölçüde korunur.
- Derece 2 (Orta): İnflamatuar hücrelerin orta derecede birikimi vardır ve doku yapısında hafif bozulmalar gözlemlenir.
- Derece 3 (Şiddetli): Yaygın inflamatuvar hücre infiltrasyonu vardır ve doku yapısında ciddi bozulmalar mevcuttur.

Lenfoid birikim; lenfoid hücrelerin sayısı ve birikim yerleri belirlendi. Birikim yoğunluğu şu şekilde sınıflandırıldı:

- Derece 0 (Yok): Lenfoid hücre birikimi gözlenmez.
- Derece 1 (Hafif): Lenfoid hücre birikimi sınırlıdır ve küçük, düzensiz kümeler halinde bulunur.
- Derece 2 (Orta): Daha belirgin lenfoid birikimler mevcuttur, ancak doku içinde lokalize ve sınırlıdır.
- Derece 3 (Şiddetli): Yaygın ve yoğun lenfoid birikimler bulunur, genellikle belirgin lenfoid nodüller veya yapılaşmış birikimler şeklindedir.

Dokular ayrıca, fibrozis, doku nekrozu ve granülom oluşumu açısından da benzer derecelendirmeler göz önüne alınarak değerlendirildi.

2.2.12. İstatistiksel Analiz

Tüm istatistiksel analizler, SPSS 29 sürümü kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Verilerin normallik dağılımı Shapiro-Wilk testiyle, varyans homojenliği ise Levene testiyle değerlendirilmiştir. Sayısal değişkenler, %95 güven aralığında alt-üst limitlerle veya çeyrekler arası açıklıkla (%25-75) medyan değer olarak ifade edilmiştir.

Gruplar arasındaki farklar, ANOVA tek yönlü varyans analizi ve devamında Tukey HSD post-hoc testiyle veya Kruskal-Wallis H testiyle analiz edilmiştir. Tedavi öncesi ve sonrası değişimler bağımlı örneklem t-testi ile karşılaştırılmıştır. Ayrıca, değişkenler arasındaki ilişkiler için Pearson korelasyon analizi uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. *Origanum onites* L. Ve *Origanum minutiflorumun* Uçucu Yağ Analizi Sonuçları

Origanum onites L.'nin (Dağ kekiği) uçucu yağ analizi sonucunda en fazla karvakrol (%66,75) tespit edildi. timokinon da %29,46 oranında ikinci sırada yer aldı. *Origanum onites* L.'nin uçucu yağında bulunan diğer bileşenler Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1 *Origanum onites* L.'nin uçucu yağının kimyasal içeriği.

Kimyasal Bileşen	Alan (%)
Benzenasetaldehit	0,09
4-Terpineol	0,08
Timokinon	29,46
2-Asetil-4,4-dimetil-siklopent-2-enone	0,49
Timol	0,83
Karvakrol	66,75
2,4-Di-tert-butilfenol	0,13
Heptadekan	0,25
Nonadekan	1,8
Pentakosan	0,13

Origanum minutiflorumun (Yayla kekiği) uçucu yağ analizi sonucunda en fazla oranda karvakrol (77,56) bulunduğu, ikinci sırada %11,32 oranla timokinon bulunduğu tespit edildi. Timol ise %7,69 oranda tespit edildi. *Origanum minutiflorumun* uçucu yağında bulunan diğer bileşenler Tablo 3.2'de gösterilmiştir.

Tablo 3.2 *Origanum minutiflorumun* uçucu yağının kimyasal içeriği.

Kimyasal Bileşen	Alan (%)
Okten-3-ol	0,53
Oktan-3-ol	0,18
Simol 47804	0,05
1,2,3-Trimetil-siklopent-2-enekarboksaldehit	0,03
Borneol	0,04
4-Terpineol	0,7
Dihidrokarvon	0,27
Timokinon	11,32

Timol	7,69
Karvakrol	77,56
2,4-Di-tert-butilfenol	0,13
Heptadekan	0,2
Heptadekanol	0,03
Nonadekan	1,2
Pentakosan	0,07

3.2. *Origanum onites* L. Ve *Origanum minutiflorum* Fenolik Madde Analizi Sonuçları

Origanum onites L.'nin fenolik madde analizi sonucunda içeriğinde en fazla rosmarinik asit (2295,4 ppm), hesperidin (180,3 ppm), luteolin (174,8 ppm) ve kateşin (95,5 ppm) tespit edilmiştir. *Origanum minutiflorum* fenolik madde analizi sonucunda içeriğinde en fazla rosmarinik asit (885,8 pm) ve kamferol (148,6 ppm) tespit edilmiştir. Ayrıca Tablo 3.3'te de gösterildiği gibi her iki origanum türünde de gallik asit, epikateşin ve benzoik asit gibi antioksidan aktivitesi bilinen maddeler de tespit edilmiştir.

Tablo 3.3 *Origanum onites* L.ve *Origanum minutiflorum* fenolik madde içeriği.

Fenolik Madde	<i>Origanum minutiflorum</i> (ppm)	<i>Origanum onites</i> L. (ppm)
Gallik asit	26,2	16,9
Protokateşik asit	10,9	7,6
Kateşin	36,3	95,5
p-hidroksi benzoik asit	3,1	*
Klorojenik asit	2,9	14,3
Kafeik asit	41,8	52,8
Epikateşin	6,3	22,3
Ferulik asit	10,1	26,3
Benzoik asit	28,9	8,5
Hesperidin	115	180,3
Rosmarinik asit	885,8	2295,4
Sinamik asit	2,6	*
Kuersetin	*	50,4
Luteolin	20,3	174,8
Kamferol	148,6	56,5

3.3. Origanum onites L. ve Origanum minutiflorumun Organik Asit Analizi Sonuçları

Origanum minutiflorumun organik asit analizi sonucunda içeriğinde en fazla malik asit (49,717 ppm), laktik asit (48,677 ppm) ve sitrik asit (25,046 ppm) tespit edilmiştir. Origanum onites L.nin organik asit analizi sonucunda içeriğinde en fazla laktik asit (36,725 ppm), sitrik asit (28,996 ppm) ve malik asit (12,702 ppm) tespit edilmiştir. Ayrıca her iki origanum türünde de Tablo 3.4'te de görüldüğü gibi formik asit, Askorbik asit ve fumarik asit de tespit edilmiştir.

Tablo 3.4 Origanum onites L.ve Origanum minutiflorumun organik asit içeriği.

Organik Asit	Origanum minutiflorum (ppm)	Origanum onites L. (ppm)
Formik asit	2,483	2,945
Malik asit	49,717	12,702
Askorbik asit	6,984	7,015
Laktik asit	48,677	36,725
Sitrik asit	25,046	28,996
Fumarik asit	0,078	0,083

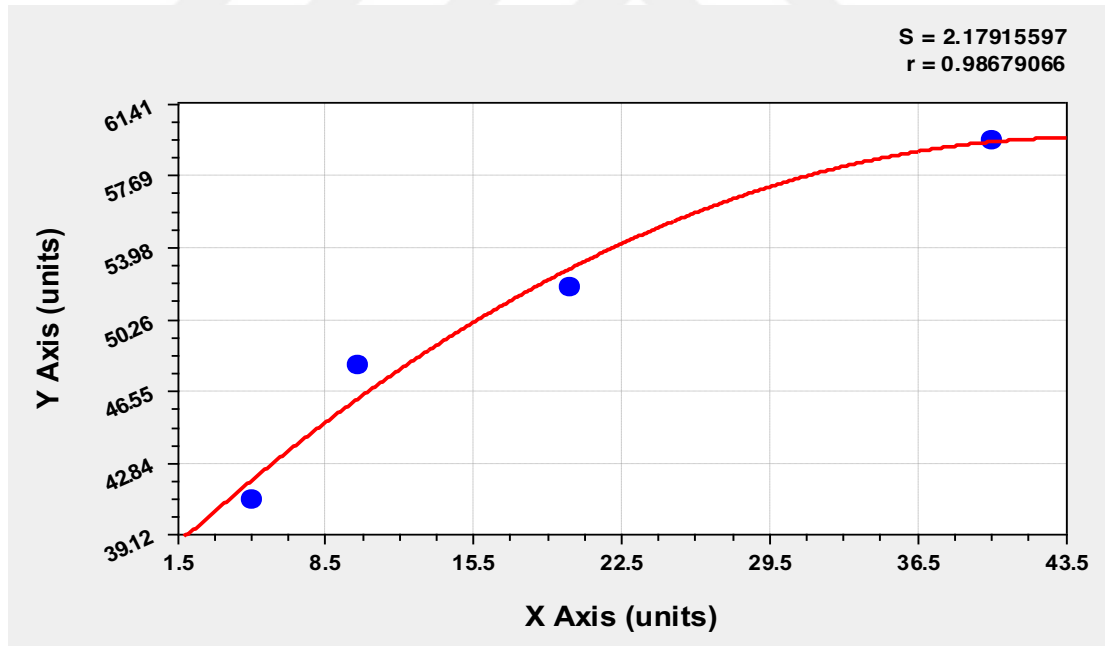
3.4. Balın Serbest Radikal Temizleme Aktivitesi

DPPH ile radikal süpürme aktivitesi belirlenen farklı konsantrasyonlardaki bal örneklerinin sonuçları Tablo 3.5'te gösterilmiştir.

Tablo 3.5'e göre; radikal süpürme aktivitesi 5 mg/mL konsantrasyondaki bal numunesinde %40,98, 10 mg/mL konsantrasyondaki bal numunesinde %47,90, 20 mg/mL konsantrasyondaki bal numunesinde %52 ve 40 mg/mL konsantrasyondaki bal numunesinde %59,55 olarak tespit edildi. Elde edilen sonuçlara göre Grafik 3.1'deki grafikten faydalanılarak IC₅₀ (SC₅₀) değeri 15,301 olarak bulundu.

Tablo 3.5 Farklı konsantrasyondaki bal numunelerinin radikal süpürme aktivitesi.

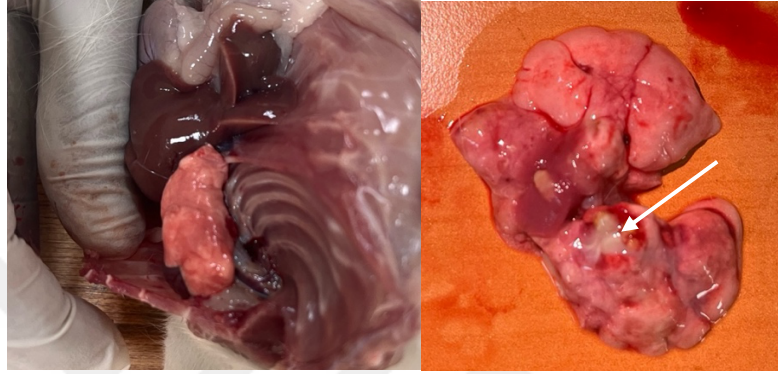
Konsantrasyon (mg/ml)	Kontrol	Bal	Radikal Süpürme Aktivitesi (%RSA)	Ort.	Standart Sapma	Ort.± SD	IC50 (=SC50)
5	0,7155	0,4254	40,54507338	40,98	0,38	40,98±0,38	15,301
	0,7155	0,4209	41,17400419				
	0,7155	0,4206	41,21593291				
10	0,7155	0,3728	47,89657582	47,90	0,06	47,90±0,06	
	0,7155	0,3732	47,84067086				
	0,7155	0,3723	47,96645702				
20	0,7155	0,3442	51,89378057	52,00	0,09	52,00±0,09	
	0,7155	0,3433	52,01956674				
	0,7155	0,3429	52,0754717				
40	0,7155	0,2904	59,4129979	59,55	0,16	59,55±0,16	
	0,7155	0,2896	59,52480783				
	0,7155	0,2882	59,72047519				



Grafik 3.1 Balın radikal süpürme aktivite eğrisi.

3.5.KOAH Protokolünün Doğrulanması

Ratlarda KOAH oluşturulduktan sonra 3. gün ve 10. gün Sham grubundan rastgele seçilen bir hayvanın genel anestezi altında kuyruk kısmından heparinli kan gazı enjektörüne venöz kan örneği alındı. KOAH oluşturduktan 10 gün sonra hayvan sakrifiye edildi, akciğerleri çıkarıldı (Şekil 3.1) ve histopatolojik inceleme için %10'luk formaldehit içerisinde alındı.



Şekil 3.1 Sham grubundan rastgele seçilen ve sakrifiye edilen hayvanın akciğerindeki inflamasyon görüntüsü.

Şekilde de görüldüğü gibi akciğer dokusunda inflamasyon gelişmiştir. Bu da KOAH modeli oluşturma protokolümüzün başarılı olduğunu göstermektedir.

3.5.1. Kan Gazı Analizi Sonuçları

KOAH modeli oluşturma protokolünün doğruluğunu teyit etmek için model oluşturduktan sonra 3. ve 10. gün yaptığımız kan gazı analizlerinin sonuçları ve karşılaştırması Tablo 3.6'da gösterilmiştir. Buna göre PPE ile oluşturulan KOAH modelinde 3. ve 10. günlerde yapılan kan gazı analizleri, hastalığın ilerleyişine bağlı olarak karışık (kombine) asidoz geliştiğini göstermektedir. pCO_2 seviyelerinin artması, alveoler ventilasyonun yetersiz hale geldiğini ve CO_2 atılımının azaldığını göstererek solunumsal asidoza işaret etmektedir. Solunum yoluyla atılamayan CO_2 , karbonik asit (H_2CO_3) oluşumunu artırarak kan pH'sının düşmesine neden olmuştur. Bununla birlikte bikarbonat seviyelerinin azalması, renal kompanzasyonun yetersiz olduğunu veya ek bir metabolik asidoz tablosunun geliştiğini düşündürmektedir. pO_2 ve oksijen saturasyonundaki düşüş, hipoksiye bağlı laktik asidozun varlığına işaret edebilir.

Hipoksik ortamda anaerobik metabolizmanın artması, laktat birikimine ve metabolik asit yükünün yükselmesine yol açarak pH düşüşünü daha da şiddetlendirmiş olabilir. Ayrıca KOAH modelinde görülen inflamasyon ve oksidatif stres, hücresel metabolizmayı bozarak asit yükünün artmasına katkıda bulunmuş olabilir. Sonuç olarak, KOAH ilerledikçe hava yolu obstrüksiyonu, gaz değişim bozukluğu ve hiperkapni şiddetlenerek kombinasyon halinde solunumsal ve metabolik asidoza neden olmuştur. Bu tablo, KOAH'ın ilerleyen evrelerinde görülen respiratuvar yetmezlik ile benzerlik göstermektedir.

Tablo 3.6 KOAH oluşturduktan 3. ve 10. gün kan gazı analizi sonuçları.

	pH	pCO ₂ (mmHg)	pO ₂ (mmHg)	HCO ₃ ⁻ (mmol/L)	sO ₂ (%)
KOAH oluşturduktan 3 gün sonra	7,41	37,6	337	24,08	99,77
KOAH oluşturduktan 10 gün sonra	7,32	38,9	78	19,6	94,4

3.5.2. Histopatolojik İnceleme

Histopatolojik inceleme için %10'luk formaldehit içine alınan akciğer dokuları inflamasyon, amfizem ve lenfoid birikim açısından değerlendirildi. Buna göre KOAH oluşturulduktan sonra akciğer dokusunda inflamasyon ve amfizem gelişimi görüldü. Amfizem açısından hafif derecede alveolar genişleme vardı; alveolar duvarlarda minimal yıkım görüldü. İnflamasyon açısından inflamatuvar hücrelerin orta derecede birikimi vardı ve doku yapısında hafif bozulmalar gözlemlendi. Ayrıca küçük lenfoid hücre birikimi gözlemlendi.

3.6. Ratların Deneyde İlk Gün ve Son Gün Ağırlıkları

Tablo 3.7 Gruplardaki ratların ilk ve son ağırlıkları.

	İlk Ağırlık (g) Ort. (%95 CI)	Son Ağırlık (g) Ort. (%95 CI)	<i>p</i> değeri
KONTROL (n=6)	243,50 (199-288)	248,50 (205-292)	0,429
SHAM (n=7)	248,57 (233-264)	247,14 (228-266)	0,604
DAĞ KEKİĞİ (n=8)	268,00 (251-285)	283,00 (260-306)	0,010*
YAYLA KEKİĞİ (n=7)	256,29 (226-286)	258,86 (228-290)	0,349
BAL (n=7)	254,29 (236-273)	253,71 (233-275)	0,884
<i>p</i> değeri	0,522	0,148	

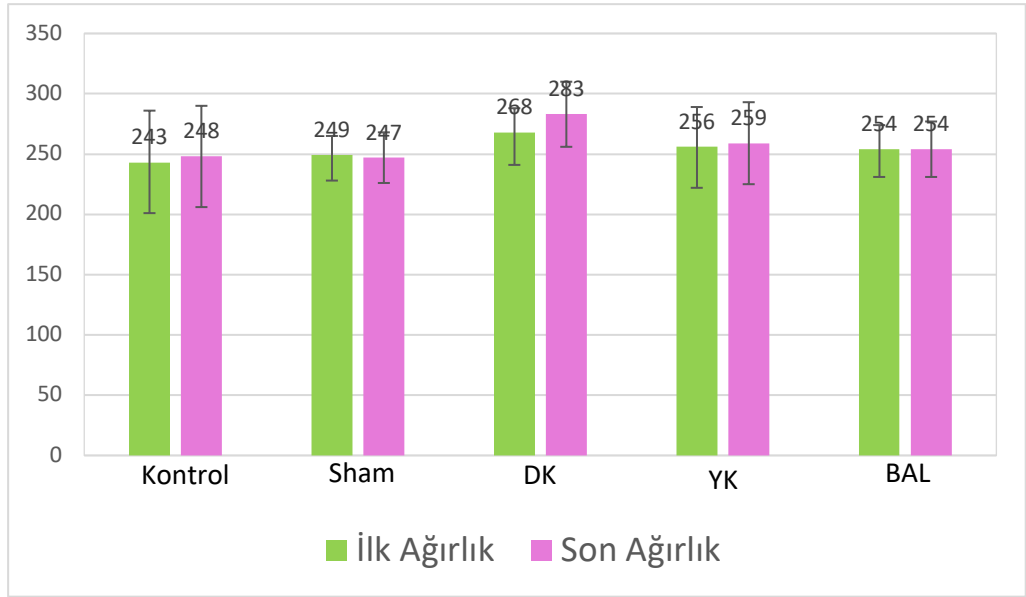
*ANOVA tek yönlü analiz

¹Değerler Ortalama (%95 güven aralığında alt üst limit) olarak verilmiştir.

² $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Rastgele oluşturulan gruplar arasında ilk ağırlıkları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı. Tablo 3.7'de de görüldüğü gibi grupların ilk ağırlıkları benzerdi ($p=0,522$). DK'nin ilk ve son ağırlıkları arasında anlamlı bir farklılık vardı ($p=0,01$). Diğer grupların ilk ve son ağırlıkları arasında anlamlı bir farklılık bulunamadı.

Gruplarda bulunan ratların ortalama ağırlıkları ve standart sapmaları Şekil 3.2'de gösterilmiştir.



Şekil 3.2 Ratların deneyin başlangıç günü ve deney sonundaki ağırlıklarının ortalama ve standart sapma değerleri.

3.7. Akım Sitometri Sonuçları

Tablo 3.8 Gruplarda bulunan ratların CD3⁺, CD4⁺ ve CD8⁺ yüzdeleri.

	Kontrol (n=6)	Sham (n=7)	Dağ kekiği (n=8)	Yayla kekiği (n=7)	Bal (n=7)	<i>p</i> değeri
	Medyan IQR [Q1-Q3]	Medyan IQR [Q1-Q3]	Medyan IQR [Q1-Q3]	Medyan IQR [Q1-Q3]	Medyan IQR [Q1-Q3]	
CD3⁺ (%)	50,86 [0–65,86] ^a	74,87 [66,06–83,42] ^b	59,36 [49,83–61,07] ^a	57,87 [41,88–62,38] ^a	60,52 [52,03–68,23] ^a	0,017*
CD4⁺ (%)	31,28 [0–46,82]	42,12 [38,91–51,45]	41,18 [35,82–43,96]	40,68 [28,79–43,31]	40,37 [35,91–46,35]	0,334
CD8⁺ (%)	17,11 [0–18,61] ^a	21,69 [19,34–42,52] ^b	14,83 [13,24–15,71] ^a	13,83 [10,53–18,95] ^a	17,38 [15,09–22,19] ^a	0,033*

*Kruskal Wallis H Test

¹Değerler medyan IQR [Q1-Q3] olarak verilmiştir.

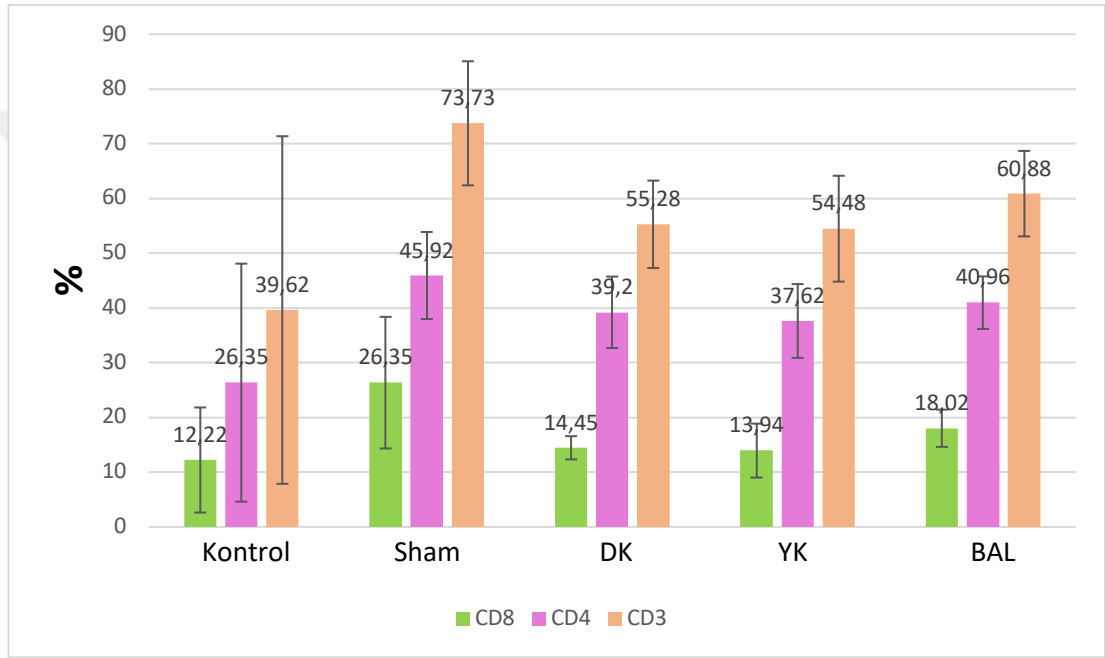
²Aynı harfle gösterilen değerlerin istatistiksel olarak arasında fark yoktur.

³ $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Gruplar arasında CD8⁺ düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardı ($p=0,03$). CD8⁺ düzeyleri en yüksek Sham grubunda, en düşük kontrol grubunda tespit edildi. Uygulama gruplarında Sham grubuna göre CD8⁺ düzeyleri önemli derecede azaldı.

CD4⁺ düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p=0,33$).

Gruplar arasında CD3⁺ düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardı ($p=0,017$). CD3⁺ düzeyleri en yüksek Sham grubunda, en düşük kontrol grubunda tespit edildi. Uygulama gruplarında Sham grubuna göre CD3⁺ düzeyleri önemli derecede azalmıştır. Tüm sonuçlar Tablo 3.8’de gösterilmiştir. Grupların CD8⁺, CD4⁺ ve CD3⁺ yüzdelerinin ortalama ve standart sapma değerleri Şekil 3.3’te gösterilmiştir.



Şekil 3.3 Gruplardaki ratların CD3⁺, CD8⁺ ve CD4⁺ düzeylerinin ortalama ve standart sapmalarını gösteren sütun grafiği.

3.8. Kan Gazı Analizi Sonuçları

PPE ile ratlarda KOAH modeli oluşturduktan 10 gün sonra uygulama grupları kekik türleri ve bal ile 15 gün boyunca tedavi edildi. 15 günlük tedavi süresinin ardından genel anestezi altında ratların kalbinden heparinli kan gazı enjektörüne kan örneği alındı. Bekletilmeden kan gazı analizöründe kan gazı parametreleri analiz edildi. KOAH oluşturduktan sonra 3. gün yapılan kan gazı analizi sonuçları ve uygulama sonrası yapılan kan gazı analizi sonuçları karşılaştırıldı.

Kontrol grubunda başlangıç ve uygulama sonrası pH, pCO₂, pO₂, HCO₃⁻ ve sO₂ düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı.

Sham grubunda başlangıç ve uygulama sonrasında pH seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlendi ($p=0,005$). pH seviyeleri başlangıca göre uygulama sonrasında daha düşüktü. Uygulama gruplarında da başlangıca göre uygulama sonrasında pH seviyelerinin yükseldiği görülmektedir (Tablo 3.9). Başlangıca göre uygulama sonrasında pH seviyelerinde DK ($p=0,015$), YK ($p=0,012$) ve BAL'da ($p=0,007$) istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık elde edildi.

Sham grubunda pCO₂ seviyeleri başlangıca göre uygulama sonrasında daha yüksekti ($p=0,018$). Uygulama gruplarında pCO₂ seviyeleri başlangıca göre uygulama sonrasında düşüş gösterdi. DK ($p=0,048$) ve YK'de ($p=0,001$) başlangıca göre uygulama sonrasında pCO₂ seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık varken, BAL'da ($p=0,314$) istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı.

Sham grubunda pO₂ seviyelerinde başlangıca göre uygulama sonrasında düşüş gözlemlenirken istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p=0,119$). Uygulama gruplarında başlangıca göre uygulama sonrasında pO₂ seviyeleri arttı. DK ($p=0,012$) ve BAL'da ($p=0,013$) istatistiksel olarak anlamlı bir fark varken, YK'de istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0,072$).

Sham grubunda HCO₃⁻ seviyeleri başlangıca göre uygulama sonrasında artmış ve istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık elde edilmiştir. HCO₃⁻ seviyeleri uygulama gruplarında başlangıca göre uygulama sonrasında düşmüştür. DK ve YK'de başlangıca göre uygulama sonrasında HCO₃⁻ seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu. BAL'da başlangıca göre uygulama sonrası HCO₃⁻ seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık elde edildi ($p=0,024$).

Sham grubunda oksijen satürasyonu (sO₂) yüzdesi başlangıca göre uygulama sonrasında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldı ($p=0,013$). Uygulama gruplarında başlangıca göre uygulama sonrasında sO₂ yüzdesi arttı. DK ve YK'de istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamazken BAL'da başlangıca göre uygulama sonrası sO₂ yüzdeleri arasında anlamlı bir farklılık elde edildi ($p=0,024$).

Tablo 3.9 Gruplardaki ratların başlangıç ve uygulama sonrası kan gazı analizi sonuçları.

		KONTROL (n=6)	SHAM (n=7)	DK (n=8)	YK (n=7)	BAL (n=7)
		Ortalama (%95 CI Alt-Üst Limit)	Ortalama (%95 CI Alt-Üst Limit)	Ortalama (%95 CI Alt-Üst Limit)	Ortalama (%95 CI Alt-Üst Limit)	Ortalama (%95 CI Alt-Üst Limit)
pH	Başlangıç	7,45 (7,4-7,49)	7,53 (7,49-7,57)	7,43 (7,39-7,47)	7,39 (7,36-7,42)	7,42 (7,37-7,47)
	Uygulama Sonrası	7,48 (7,44-7,51)	7,41 (7,36-7,47)	7,54 (7,46-7,63)	7,53 (7,44-7,61)	7,51 (7,46-7,57)
p değeri		0,346	0,005*	0,015*	0,012*	0,007*
pCO₂ (mmHg)	Başlangıç	35,58 (31,57-39,6)	30,64 (24,39-36,89)	36,1 (31,62-40,58)	40,49 (35,1-45,87)	36,93 (31,71-42,14)
	Uygulama Sonrası	29,72 (22,93-36,51)	38,86 (33,59-44,13)	30,32 (22,42-38,23)	32,57 (28,25-36,89)	33,2 (26,47-39,93)
p değeri		0,148	0,018*	0,048*	0,001*	0,314
pO₂ (mmHg)	Başlangıç	377,67 (301,28-454,06)	244 (179,31-308,69)	192,12 (101,26-282,99)	192,29 (86,9-297,66)	170,86 (117,54-224,18)
	Uygulama Sonrası	326,0 (250,71-401,28)	173,86 (101,16-246,55)	389 (312,05-465,94)	340,57 (271,16-409,98)	315,43 (259,14-371,72)
p değeri		0,377	0,119	0,012*	0,072	0,013*
HCO₃⁻ (mmol/L)	Başlangıç	25,10 (23,72-26,48)	24,41 (22,98-25,85)	27,19 (23,62-30,75)	25,84 (23,88-27,8)	27,51 (24,54-30,48)
	Uygulama Sonrası	28,52 (21,99-35,05)	26,37 (24,83-27,91)	24,2 (22,78-25,62)	23,7 (21,81-25,59)	24,04 (22,87-25,21)
p değeri		0,255	0,033*	0,079	0,119	0,024*
sO₂ (%)	Başlangıç	99,87 (99,81-99,92)	99,59 (99,02-100,15)	98,17 (95,91-100,43)	98,37 (96,41-100,33)	97,49 (95,7-99,27)
	Uygulama Sonrası	99,12 (97,7-100,53)	98,51 (98,19-98,84)	99,85 (99,76-99,94)	99,83 (99,74-99,92)	99,8 (99,67-99,93)
p değeri		0,239	0,013*	0,125	0,124	0,024*

*Bağımlı örneklem T-Test

¹ $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.10. ELISA Test Sonuçları

PPE ile KOAH modeli oluşturulan uygulama grubundaki ratlara kekik türleri ve bal 15 gün uygulandı. 15 günün ardından genel anestezi altında kalplerinden kan örnekleri sarı kapaklı jelli biyokimya tüplerine alınıp santrifüjlendi. Serum ayrıldı, eppendorflara aktarıldı. Analiz gününe kadar -80 °C’de muhafaza edildi. Analiz günü serum örneklerinden HMGB1, IL-1 α ve IL-33 düzeyleri ELISA yöntemi ile ölçüldü. Elde edilen sonuçlar Tablo 3.10’da gösterilmiştir. HMGB1 düzeyleri sham grubunda diğer gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksekti. DK, YK ve BAL’ın HMGB1 düzeyleri kontrol grubu ile benzerdi.

IL-1 α düzeyleri en yüksek sham grubunda en düşük YK’de elde edildi. DK, YK ve BAL’da sham grubuna kıyasla IL-1 α düzeylerinin düştüğü görülmektedir. IL-1 α düzeyleri kontrol ve sham grubunda istatistiksel olarak benzerdi. Kontrol grubu ile DK ve BAL da benzerdi. YK ile kontrol ve sham grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı. DK ve BAL da benzerdi.

Tablo 3.10 Gruplardaki ratların HMGB1, IL-1 α ve IL-33 düzeyleri.

	HMGB1 (ng/mL) Ort. (%95 CI)	IL-1 α (ng/L) Ort. (%95 CI)	IL-33 (ng/L) Ort. (%95 CI)
KONTROL (n=6)	4,52 (3,77-5,27) ^a	42,9 (37,24-48,55) ^{ab}	130,99 (110,43-151,55) ^{ab}
SHAM (n=7)	6,05 (5,6-6,5) ^b	46,94 (41,93-51,94) ^a	142,81 (124,1-161,53) ^b
DK (n=8)	4,49 (3,65-5,34) ^a	37,62 (34,67-40,57) ^{bc}	113,68 (105,1-122,26) ^{ab}
YK (n=7)	4,36 (3,67-5,06) ^a	33,86 (29,51-38,21) ^c	96,96 (68,58-125,33) ^a
BAL (n=7)	4,68 (3,78-5,58) ^a	38,41 (34,09-42,72) ^{bc}	100,42 (71,85-128,99) ^a
<i>p değeri</i>	0,003*	<0,001*	0,004*

¹ANOVA tek yönlü analiz.

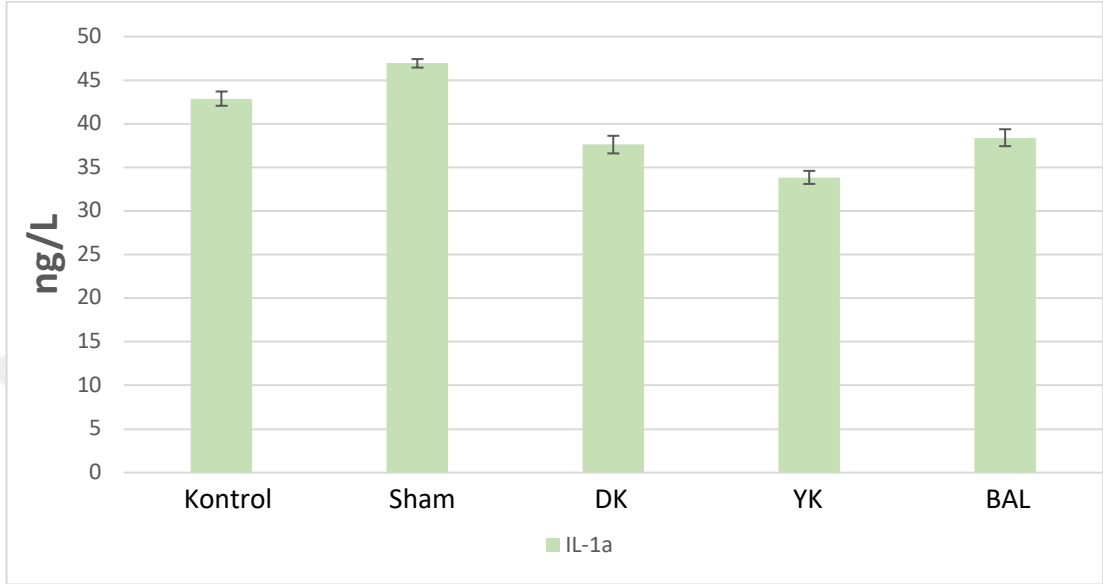
²p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

³Aynı harfle gösterilen değerlerin istatistiksel olarak arasında fark yoktur.

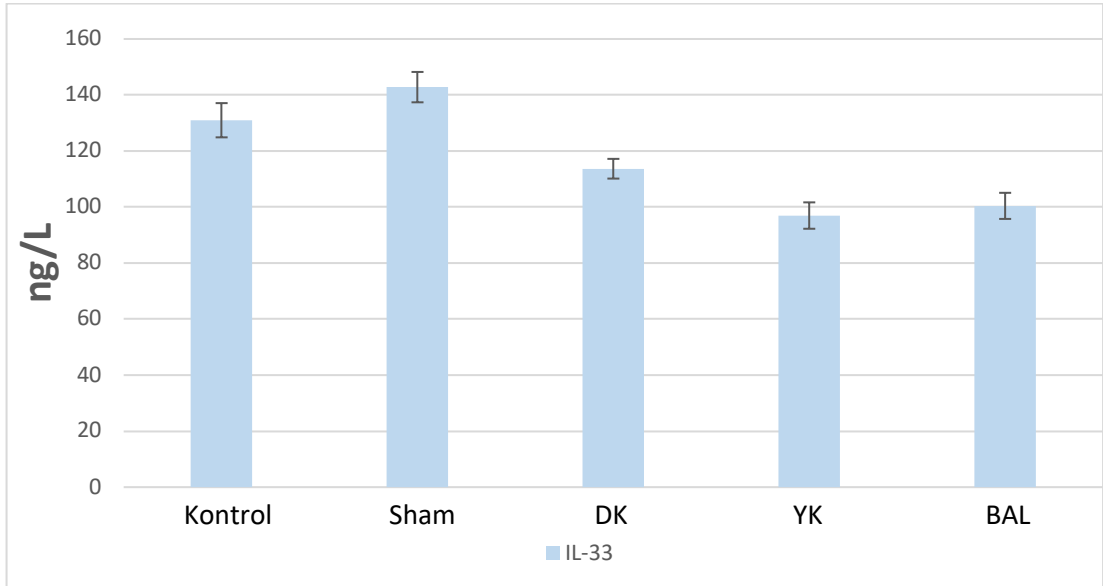
IL-33 düzeyleri en yüksek sham grubunda en düşük YK’de elde edildi. Kontrol grubu ile DK, YK ve BAL’ın IL-33 düzeyleri benzerdi. Sham grubunun IL-33

düzeyleri kontrol ve DK ile benzerdi. YK ve BAL'ın IL-33 düzeyleri sham grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıydı.

Grupların IL-1 α ve IL-33 düzeylerinin ortalama ve standart sapma grafikleri Şekil 3.4 ve Şekil 3.5'te gösterilmiştir.

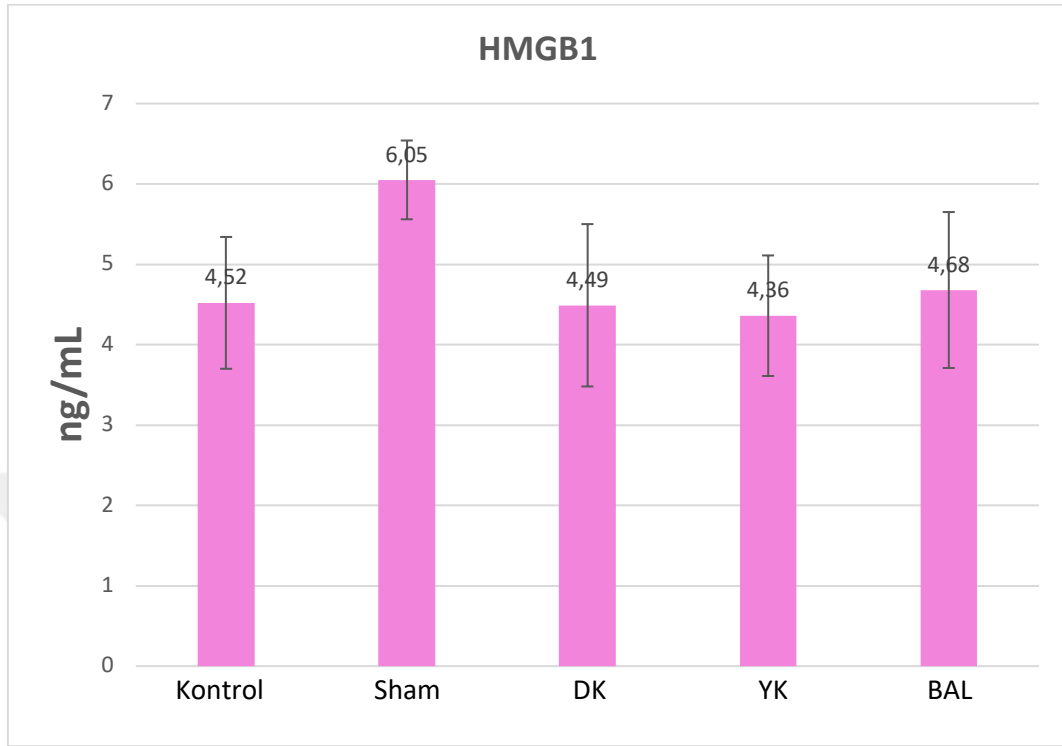


Şekil 3.4 Gruplardaki ratların IL-1 α düzeylerinin ortalama ve standart sapma değerleri.



Şekil 3.5 Gruplardaki ratların IL-1 α ve IL-33 düzeylerinin ortalama ve standart sapma değerleri.

Grupların HMGB1 düzeylerine ait ortalama ve standart sapma değerleri Şekil 3.6'da verilmiştir.



Şekil 3.6 Gruplardaki ratların HMGB1 düzeylerinin ortalama ve standart sapma değerleri.

MMP-9 düzeyleri en yksek sham grubunda, en dŐŐk YK'de elde edilmiştir. Kontrol grubu ile DK, YK ve BAL'ın MMP-9 düzeyleri istatistiksel olarak benzerdi. Kontrol grubu ve sham grubunun MMP-9 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıydı. Sham grubu ile DK, YK ve BAL'ın MMP-9 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıydı (Tablo 3.11).

TIMP-1 düzeyleri en yksek BAL'da en dŐŐk sham grubunda elde edildi. Kontrol grubu ile sham, DK ve YK'nin TIMP-1 düzeyleri istatistiksel olarak benzerdi. Sham grubu ile BAL'ın TIMP-1 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı.

Grupların TIMP-1 düzeylerinin ortalama ve standart sapma değerleri Şekil 3.7'de gösterilmiştir.

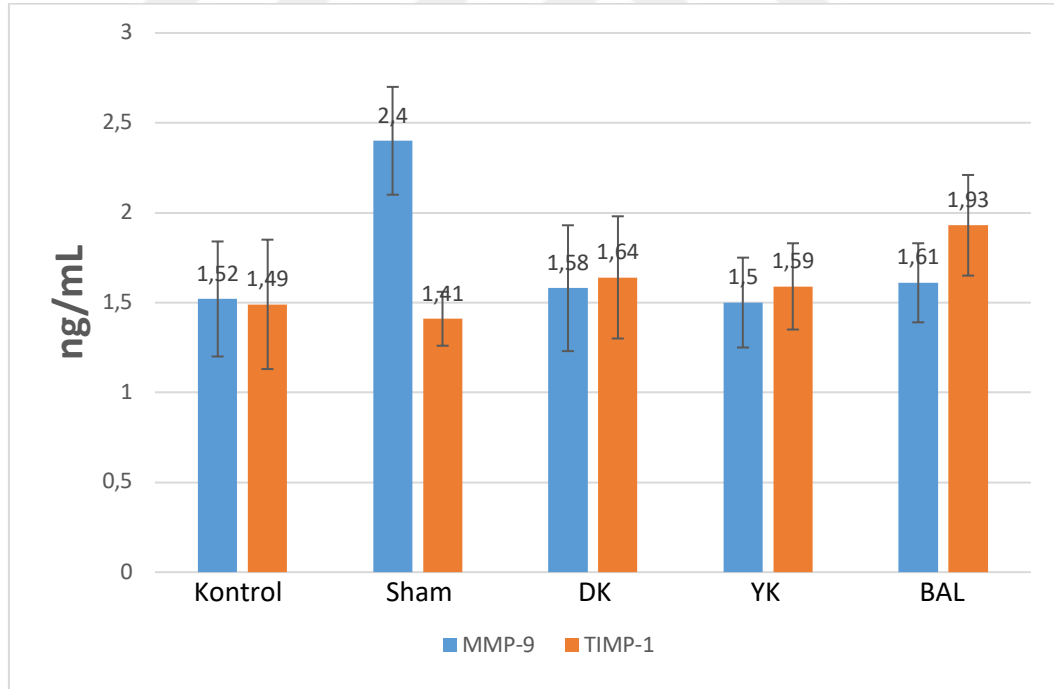
Tablo 3.11 Gruplardaki ratların MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri.

	MMP-9 (ng/mL)	TIMP-1 (ng/mL)
	Ort. (%95 CI)	Ort. (%95 CI)
KONTROL (n=6)	1,52 (1,22-1,81) ^a	1,49 (1,16-1,82) ^{ab}
SHAM (n=7)	2,4 (2,12-2,68) ^b	1,41 (1,27-1,55) ^a
DK (n=8)	1,58 (1,28-1,87) ^a	1,64 (1,35-1,93) ^{ab}
YK (n=7)	1,50 (1,27-1,74) ^a	1,59 (1,37-1,81) ^{ab}
BAL (n=7)	1,61 (1,41-1,82) ^a	1,93 (1,68-2,18) ^b
p değeri	<0,001*	0,021*

¹ANOVA tek yönlü analiz.

²p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

³Aynı harfle gösterilen değerlerin istatistiksel olarak arasında fark yoktur.



Şekil 3.7 Gruplardaki ratların MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerinin ortalama ve standart sapma değerleri.

Tüm gruplarda HMGB1, IL-1 α , IL-33, MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri arasındaki korelasyon Tablo 3.12’de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre

HMGB1 ile MMP-9 arasında pozitif korelasyon, IL-1 α ile IL-33 ve MMP-9 arasında pozitif korelasyon elde edilmiştir.

Tablo 3.12 Tüm gruplarda çalışılan parametreler arasındaki korelasyon.

		HMGB1	IL-1 α	IL-33	MMP-9	TIMP-1
HMGB1	Pearson Correlation	1	,161	,070	,367*	-,113
	Sig. (2-yönlü)		,348	,687	,028	,511
	N	36	36	36	36	36
IL-1 α	Pearson Correlation	,161	1	,415*	,583**	-,080
	Sig. (2-yönlü)	,348		,012	,000	,644
	N	36	36	36	36	36
IL-33	Pearson Correlation	,070	,415*	1	,315	-,326
	Sig. (2-yönlü)	,687	,012		,061	,052
	N	36	36	36	36	36
MMP-9	Pearson Correlation	,367*	,583**	,315	1	-,057
	Sig. (2-yönlü)	,028	,000	,061		,743
	N	36	36	36	36	36
TIMP-1	Pearson Correlation	-,113	-,080	-,326	-,057	1
	Sig. (2-yönlü)	,511	,644	,052	,743	
	N	36	36	36	36	36

*Korelasyon, 0.05 anlamlılık düzeyinde (iki yönlü) istatistiksel olarak anlamlıdır.

** Korelasyon, 0.01 anlamlılık düzeyinde (iki yönlü) istatistiksel olarak anlamlıdır.

Kontrol grubunda HMGB1, IL-1 α , IL-33, MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri arasındaki korelasyon Tablo 3.13'te gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre kontrol grubunda parametreler arasında korelasyon bulunamamıştır.

Tablo 3.13 Kontrol grubunda çalışılan parametreler arasındaki korelasyon.

		HMGB1	IL-1 α	IL-33	MMP-9	TIMP-1
HMGB1	Pearson Correlation	1	-,263	-,563	,031	-,134
	Sig. (2-yönlü)		,569	,188	,947	,775
	N	6	6	6	6	6
IL-1 α	Pearson Correlation	-,263	1	,393	-,463	-,088
	Sig. (2-yönlü)	,569		,384	,296	,851
	N	6	6	6	6	6
IL-33	Pearson Correlation	-,563	,393	1	-,117	-,091
	Sig. (2-yönlü)	,188	,384		,803	,846

	N	6	6	6	6	6
MMP-9	Pearson Correlation	,031	-,463	-,117	1	,003
	Sig. (2-yönlü)	,947	,296	,803		,995
	N	6	6	6	6	6
TIMP-1	Pearson Correlation	-,134	-,088	-,091	,003	1
	Sig. (2-yönlü)	,775	,851	,846	,995	
	N	6	6	6	6	6

*Korelasyon, 0.05 anlamlılık düzeyinde (iki yönlü) istatistiksel olarak anlamlıdır.

** Korelasyon, 0.01 anlamlılık düzeyinde (iki yönlü) istatistiksel olarak anlamlıdır.

Sham grubunda HMGB1, IL-1 α , IL-33, MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri arasındaki korelasyon Tablo 3.14'te gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre IL-1 α ile MMP-9 arasında pozitif korelasyon, IL-33 ile MMP-9 arasında pozitif korelasyon, TIMP-1 ile IL-33 arasında negatif korelasyon elde edilmiştir.

Tablo 3.14 Sham grubunda çalışılan parametreler arasındaki korelasyon.

		HMGB1	IL-1 α	IL-33	MMP-9	TIMP-1
HMGB1	Pearson Correlation	1	-,323	-,276	-,463	,505
	Sig. (2-yönlü)		,480	,549	,295	,248
	N	7	7	7	7	7
IL-1 α	Pearson Correlation	-,323	1	-,737	,898**	,463
	Sig. (2-yönlü)	,480		,059	,006	,295
	N	7	7	7	7	7
IL-33	Pearson Correlation	-,276	-,737	1	-,594	-,918**
	Sig. (2-yönlü)	,549	,059		,160	,004
	N	7	7	7	7	7
MMP-9	Pearson Correlation	-,463	,898**	-,594	1	,343
	Sig. (2-yönlü)	,295	,006	,160		,451
	N	7	7	7	7	7
TIMP-1	Pearson Correlation	,505	,463	-,918**	,343	1
	Sig. (2-yönlü)	,248	,295	,004	,451	
	N	7	7	7	7	7

*Korelasyon, 0.05 anlamlılık düzeyinde (iki yönlü) istatistiksel olarak anlamlıdır.

** Korelasyon, 0.01 anlamlılık düzeyinde (iki yönlü) istatistiksel olarak anlamlıdır.

DK'de HMGB1, IL-1 α , IL-33, MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri arasındaki korelasyon Tablo 3.15'te gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre HMGB1 ile IL-1 α arasında negatif korelasyon, IL-1 α ile MMP-9 arasında pozitif korelasyon elde edilmiştir.

Tablo 3.15 DK'de çalışılan parametreler arasındaki korelasyon.

		HMGB1	IL-1 α	IL-33	MMP-9	TIMP-1
HMGB1	Pearson Correlation	1	-,747*	,218	-,688	,087
	Sig. (2-yönlü)		,033	,605	,059	,838
	N	8	8	8	8	8
IL-1 α	Pearson Correlation	-,747*	1	-,064	,847**	-,107
	Sig. (2-yönlü)	,033		,879	,008	,800
	N	8	8	8	8	8
IL-33	Pearson Correlation	,218	-,064	1	-,327	-,124
	Sig. (2-yönlü)	,605	,879		,429	,771
	N	8	8	8	8	8
MMP-9	Pearson Correlation	-,688	,847**	-,327	1	,288
	Sig. (2-yönlü)	,059	,008	,429		,489
	N	8	8	8	8	8
TIMP-1	Pearson Correlation	,087	-,107	-,124	,288	1
	Sig. (2-yönlü)	,838	,800	,771	,489	
	N	8	8	8	8	8

*Korelasyon, 0.05 anlamlılık düzeyinde (iki yönlü) istatistiksel olarak anlamlıdır.

** Korelasyon, 0.01 anlamlılık düzeyinde (iki yönlü) istatistiksel olarak anlamlıdır.

YK'de HMGB1, IL-1 α , IL-33, MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri arasındaki korelasyon Tablo 3.16'da gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre IL-1 α ile TIMP-1 arasında pozitif korelasyon elde edilmiştir.

Tablo 3.16 YK'de çalışılan parametreler arasındaki korelasyon.

		HMGB1	IL-1 α	IL-33	MMP-9	TIMP-1
HMGB1	Pearson Correlation	1	-,475	-,627	,087	-,151
	Sig. (2-yönlü)		,281	,131	,852	,747
	N	7	7	7	7	7
IL-1 α	Pearson Correlation	-,475	1	,353	,567	,840*
	Sig. (2-yönlü)	,281		,437	,185	,018
	N	7	7	7	7	7

IL-33	Pearson Correlation	-,627	,353	1	,296	,358
	Sig. (2-yönlü)	,131	,437		,519	,430
	N	7	7	7	7	7
MMP-9	Pearson Correlation	,087	,567	,296	1	,541
	Sig. (2-yönlü)	,852	,185	,519		,210
	N	7	7	7	7	7
TIMP-1	Pearson Correlation	-,151	,840*	,358	,541	1
	Sig. (2-yönlü)	,747	,018	,430	,210	
	N	7	7	7	7	7

*Korelasyon, 0.05 anlamlılık düzeyinde (iki yönlü) istatistiksel olarak anlamlıdır.

** Korelasyon, 0.01 anlamlılık düzeyinde (iki yönlü) istatistiksel olarak anlamlıdır.

BAL'da HMGB1, IL-1 α , IL-33, MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri arasındaki korelasyon Tablo 3.17'de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre parametreler arasında korelasyon bulunamamıştır.

Tablo 3.17 BAL'da çalışılan parametreler arasındaki korelasyon.

		HMGB1	IL-1 α	IL-33	MMP-9	TIMP-1
HMGB1	Pearson Correlation	1	-,099	-,356	,162	,307
	Sig. (2-yönlü)		,833	,433	,728	,502
	N	7	7	7	7	7
IL-1 α	Pearson Correlation	-,099	1	-,099	,221	,486
	Sig. (2-yönlü)	,833		,833	,634	,269
	N	7	7	7	7	7
IL-33	Pearson Correlation	-,356	-,099	1	,260	-,272
	Sig. (2-yönlü)	,433	,833		,573	,555
	N	7	7	7	7	7
MMP-9	Pearson Correlation	,162	,221	,260	1	,515
	Sig. (2-yönlü)	,728	,634	,573		,237
	N	7	7	7	7	7
TIMP-1	Pearson Correlation	,307	,486	-,272	,515	1
	Sig. (2-yönlü)	,502	,269	,555	,237	
	N	7	7	7	7	7

*Korelasyon, 0.05 anlamlılık düzeyinde (iki yönlü) istatistiksel olarak anlamlıdır.

** Korelasyon, 0.01 anlamlılık düzeyinde (iki yönlü) istatistiksel olarak anlamlıdır.

3.11. Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları

Uygulama gruplarında PPE ile KOAH modeli oluşturulup 15 günlük kekik türleri ve bal uygulama sürecinden sonra sakrifiye edilen ratların akciğer dokuları histopatolojik olarak incelendi. Elde edilen sonuçlar Tablo 3.18’de gösterilmiştir. Buna göre tüm gruplarda inflamasyon skorları istatistiksel olarak benzerdi. Fakat inflamasyon skor ortalamalarına göre, sham grubunda inflamasyon derecesi en yüksek bulundu. Uygulama grupları olan DK, YK ve BAL’da inflamasyon dereceleri sham grubuna kıyasla azaldı.

Amfizem derecesi en yüksek sham grubunda en düşük BAL’da elde edildi. Amfizem açısından kontrol grubu ile diğer gruplar istatistiksel olarak benzerdi. Sham grubu ile BAL’in amfizem derecesi istatistiksel olarak farklıydı. Tedavi gruplarında amfizem derecesinin sham grubuna kıyasla düştüğü gözlemlendi.

Lenfoid birikim yalnızca sham grubunda görüldü. Kontrol grubu ve uygulama gruplarında lenfoid birikim gözlenmedi. Gruplar fibrozis ve granülom oluşumu açısından da değerlendirildi fakat grupların hiçbirinde fibrozis ve granülom oluşumu görülmedi.

Tablo 3.18 Gruplardaki ratların histopatolojik değerlendirme sonucu inflamasyon, lenfoid birikim ve amfizem skorları.

	İnflamasyon	Amfizem	Lenfoid Birikim
	Ortalama (%95 CI Alt-Üst Limit)	Ortalama (%95 CI Alt-Üst Limit)	Ortalama (%95 CI Alt-Üst Limit)
KONTROL (n=6)	1,29 (0,83-1,73)	0,71 (0,26-1,17) ^{ab}	0 (0-0) ^a
SHAM (n=7)	1,57 (1,08-2,07)	0,86 (0,22-1,5) ^a	1,57 (0,17-2,97) ^b
DK (n=8)	1,12 (0,43-1,82)	0,5 (0,05-0,95) ^{ab}	0 (0-0) ^a
YK (n=7)	1,14 (0,5-1,78)	0,29 (0-0,73) ^{ab}	0 (0-0) ^a
BAL (n=7)	1 (0,24-1,76)	0 (0-0) ^b	0 (0-0) ^a
p değeri	0,597	0,024*	0,000*

*ANOVA tek yönlü analiz

¹Değerler Ortalama (%95 güven aralığında alt üst limit) olarak verilmiştir.

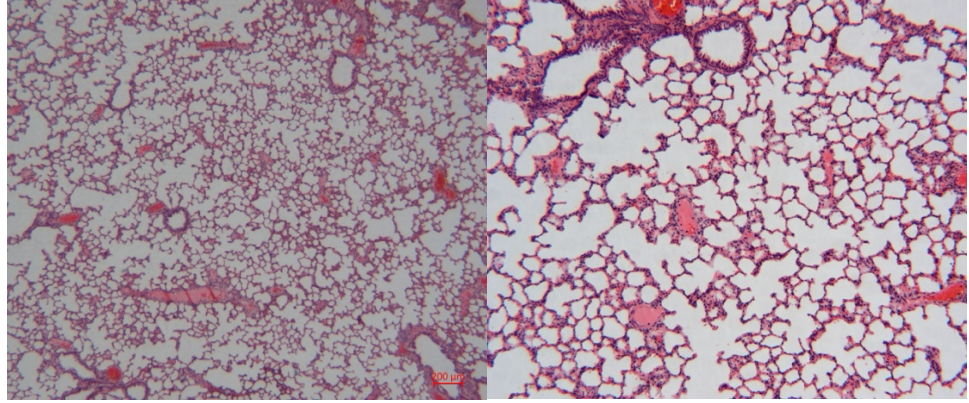
²Aynı harfle gösterilen değerlerin istatistiksel olarak arasında fark yoktur.

³p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Histopatolojik incelemede elde edilen mikroskop görüntüleri kaydedildi. Şekil 3.8'de kontrol grubunun genel akciğer histolojisi A) x40 ve B) x40 büyütme ile görüntüsü verilmiştir.

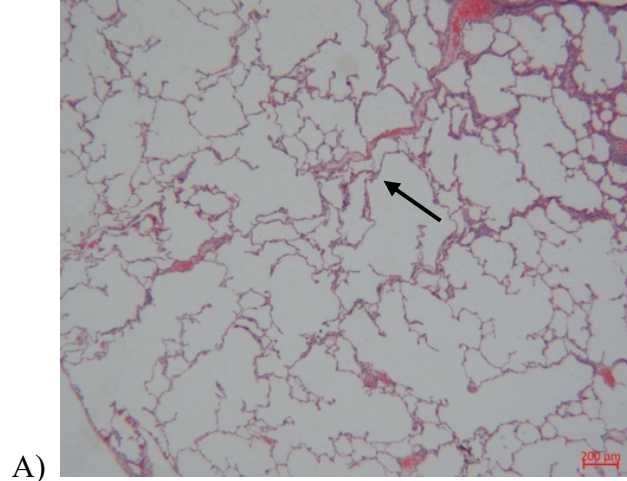
A

B

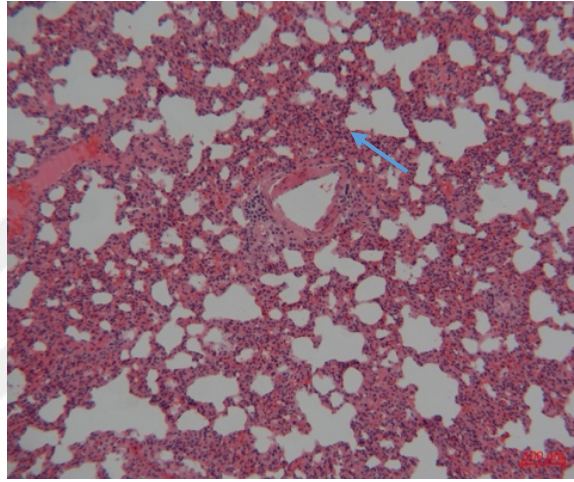


Şekil 3.8 H&E ile boyanan Kontrol grubunun genel akciğer histolojisinin fotomikrografileri. A) X40 magnifikasyon, B) X100 magnifikasyon ile ışık mikroskobu altında görüntüsü.

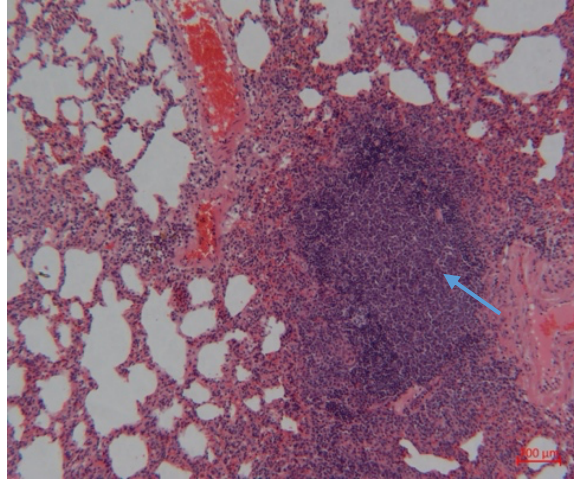
Sham grubunun H&E ile boyanan akciğer doku preparatının histopatolojik görüntüsü Şekil 3.9'da gösterilmiştir. A) görüntüsünde PPE ile KOAH oluşturma sonrası gelişen amfizem görülmektedir. B) görüntüsünde PPE ile KOAH oluşturma sonrası artan inflamasyon görülmektedir. C) görüntüsünde ise sham grubunda görülen lenfoid birikim gösterilmiştir.



A)



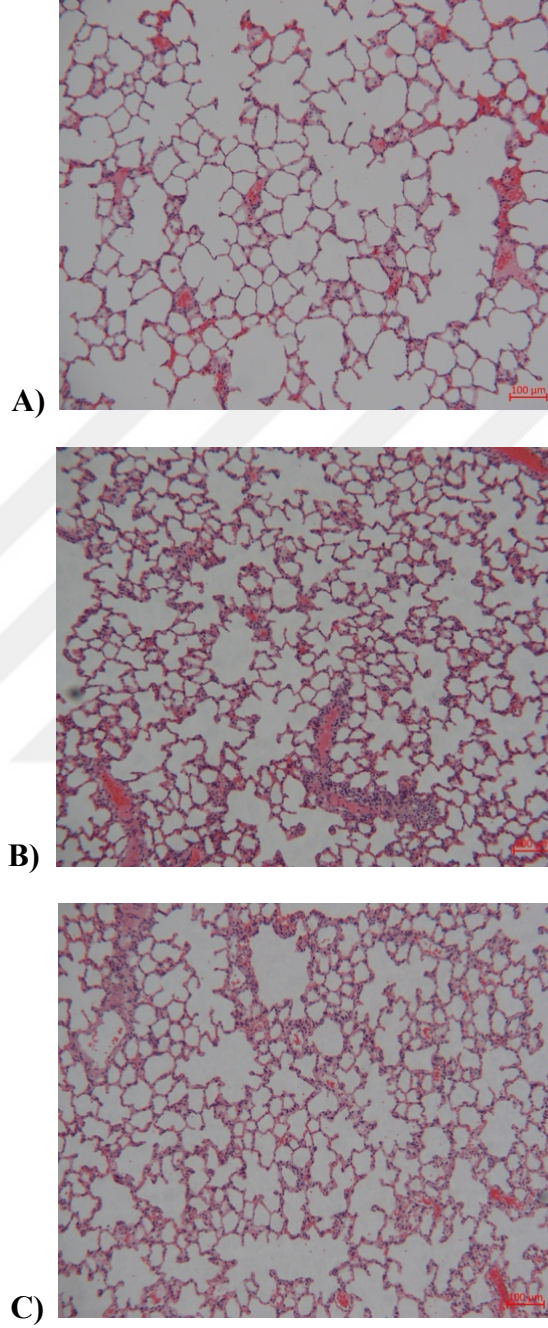
B)



C)

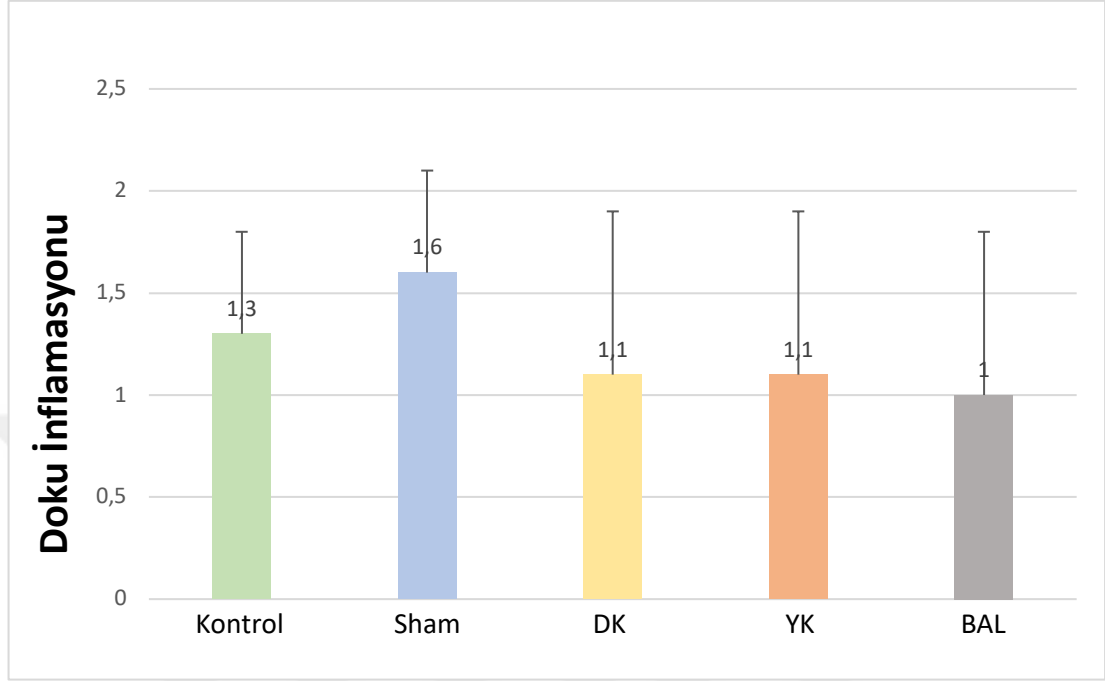
Şekil 3.9 PPE ile KOAH modeli oluşturulan Sham grubunun H&E ile boyanan akciğer doku preparatının histopatolojik görüntüsü. A) X40 magnifikasyon ile ışık mikroskobu altında **amfizem** görüntüsü B) X100 magnifikasyon ile ışık mikroskobu altında **inflamasyon** görüntüsü C) X100 magnifikasyon ile ışık mikroskobu altında **lenfoid birikim** görüntüsü.

PPE ile ratlarda KOAH modeli oluşturulup origanum türleri ve bal ile tedavi sonrası gruplardaki akciğer histopatolojisinin mikroskop görüntüleri Şekil 3.10'da gösterilmiştir. Buna göre A) görüntüsünde Dağ kekiği B) görüntüsünde Yayla kekiği C) görüntüsünde bal ile tedavi edilmiş akciğer görüntüsünde amfizem ve inflamasyonun iyileştiği görülmektedir.



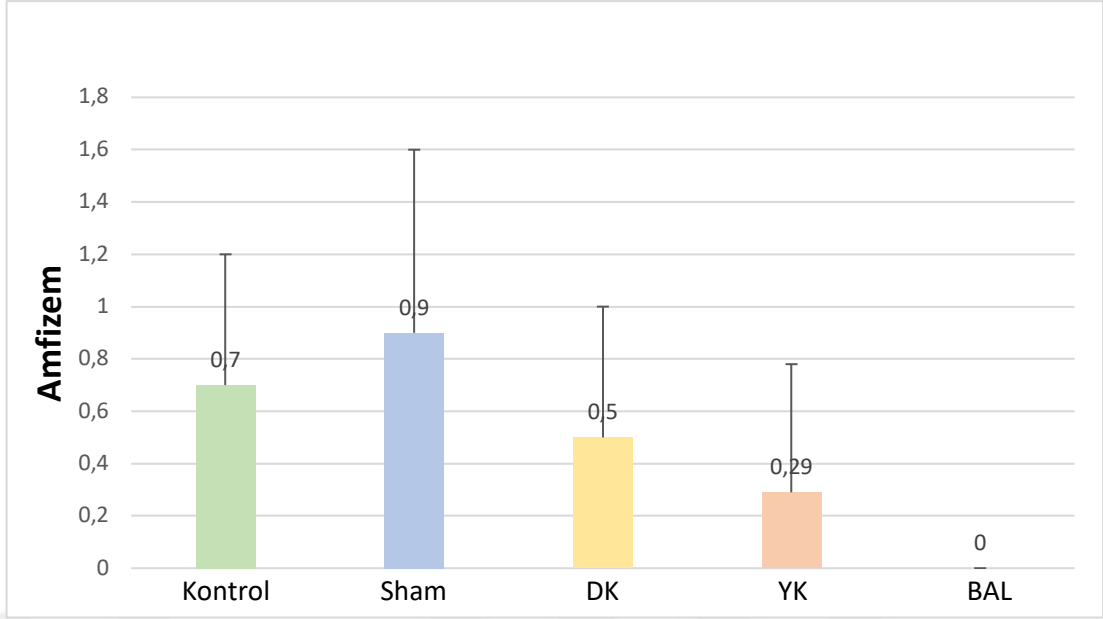
Şekil 3.10 PPE ile KOAH modeli oluşturulup farklı kekik ekstraktları ve bal ile tedavi edilen grupların H&E ile boyanan akciğer doku preparatlarının histopatolojik görüntüsü. A) Dağ kekiği ile tedavi edilen grup 1 (X100) B) Yayla kekiği ile tedavi edilen Grup 2 (X100) C) bal ile tedavi edilen Grup 3 (X100).

Gruplardaki doku inflamasyonu derecelerinin ortalama ve standart sapma değerleri Şekil 3.11’de verilmiştir. Buna göre doku inflamasyonu en yüksek olan grup sham grubu en düşük olan ise BAL’dır.



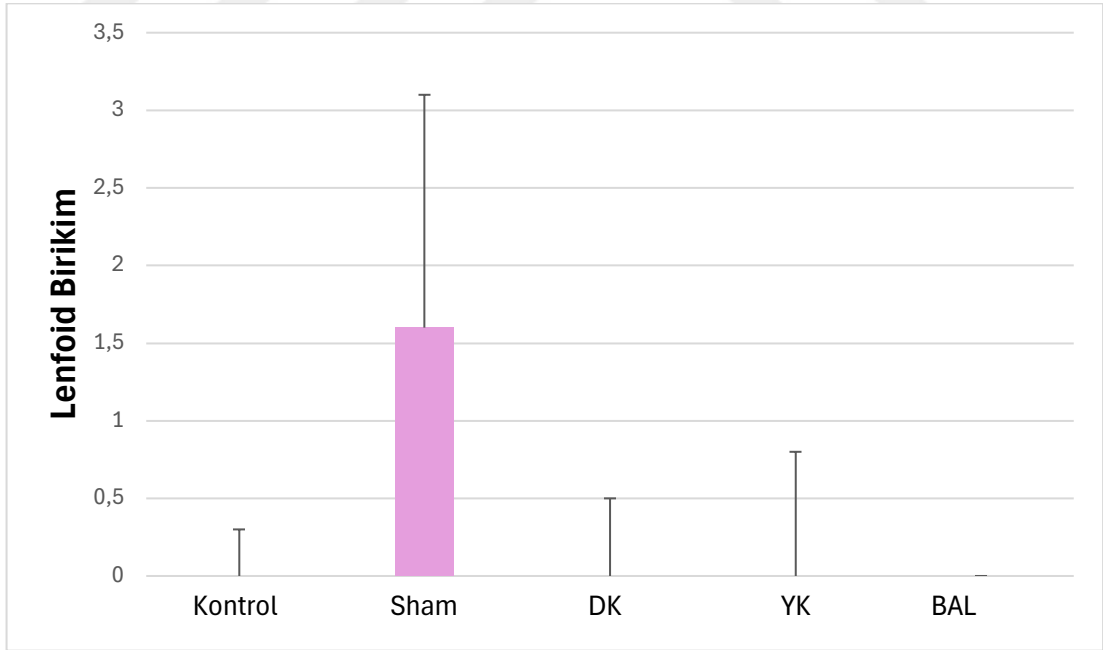
Şekil 3.11 Gruplardaki ratların doku inflamasyon skorlarının ortalama ve standart sapma değerleri.

Gruplardaki amfizem derecelerinin ortalama ve standart sapma değerleri Şekil 3.12’de verilmiştir. Buna amfizem derecesi en yüksek olan grup sham grubu en düşük olan ise BAL’dır.



Şekil 3.12 Gruplardaki ratların amfizem skorlarının ortalama ve standart sapma değerleri.

Gruplardaki lenfoid birikim derecelerinin ortalama ve standart sapma değerleri Şekil 3.13'te verilmiştir. Buna göre lenfoid birikim sadece sham grubunda görülmüştür.



Şekil 3.13 Gruplardaki ratların lenfoid birikim skorlarının ortalama ve standart sapma değerleri.

4. TARTIŞMA

Hayvan modellerinde KOAH'ı taklit etmek için çeşitli yaklaşımlar kullanılmaktadır. Bunlar arasında laboratuvar hayvanlarının sigara dumanına (KOAH'ın birincil etiyojik faktörü), inflamatuvar uyaranlara (ör. lipopolisakkarit, LPS), proteolitik enzimlere (ör. elastaz) veya genetik modifikasyona maruz bırakılması yer almaktadır.

Elastaz, akciğerlerde aktive olmuş nötrofiller tarafından salgılanan ve alveoler doku yıkımına yol açarak amfizem gelişimini tetikleyen bir proteolitik enzimdir. Elastaz modeli, akciğere elastolitik enzimlerin (ör. PPE, insan nötrofil elastazı ve papain) enjekte edilmesiyle oluşturulur ve bu süreç doku hasarı ile amfizem gelişimini indükler. Bu model, KOAH'ta görülen inflamatuvar yanıtı başlatmak ve sürdürmek amacıyla inflamasyonu tetiklemek için kullanılır.

Elastaz modelinin en önemli avantajları, hastalığın tek bir enzim infüzyonuyla teknik olarak kolayca indüklenebilmesi ve enzim miktarının ayarlanarak hastalığın şiddetinin kontrol edilebilmesidir. Ancak, elastaz modelinin dezavantajı, elastazın KOAH ile ilişkili patofizyolojik mekanizmaların yalnızca bir kısmını yansıtmasıdır. Bununla birlikte, elastaz amfizem modeli, hava boşluklarının genişlemesi, akciğerlere inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve sistemik inflamasyon gibi sigara dumanı kaynaklı KOAH patolojisinin bazı özelliklerini yeniden üretmek için yaygın olarak kullanılmaktadır.

Otuz yılı aşkın süredir, fare modellerinde intratrakeal elastaz infüzyonu kullanılarak insan pulmoner amfizemi yeniden üretilmiştir ve bu model iyi karakterize edilmiştir. Ayrıca, elastaz kaynaklı amfizem modeli sıçanlar ve hamsterlar üzerinde de uygulanmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Ghorani ve ark 2017).

Yaptığımız bu çalışmada amacımız, PPE ile ratlarda oluşturulan KOAH modelinde *Origanum onites L.*, *Origanum minutiflorum* ve balın etkilerini araştırmaktır. *Origanum* türlerinin fitokimyasal içeriği Bölüm 3.1, Bölüm 3.2 ve Bölüm 3.3'te ayrıntılı verilmiştir. Kekik balı olarak doğal üreticilerden satın aldığımız kekik balının ise yapılan polen analizi sonucunda kekik balı olmadığı tespit edilmiştir.

4.1.Kan Gazları

Li ve ark'ın yaptığı çalışmada mekanik ventilasyon uygulanan KOAH'lı sıçanlarda deksmedetomidinin (Dex) oksidatif stres ve inflamatuvar yanıt üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçlamışlardır. Çalışmada, 38 Sprague-Dawley sıçanı kullanılmıştır. Bunlardan 11'i kontrol grubu olarak ayrılmış, geri kalan 27'sine pasif sigara içimi ve trakeal lipopolisakkarit (LPS) instilasyonu ile KOAH modeli uygulanmıştır. Modelleme sonrası, sıçanlar üç gruba ayrılmıştır: model kontrol grubu, düşük doz Dex grubu (1.0 µg/kg/saat) ve yüksek doz Dex grubu (5.0 µg/kg/saat). Tüm gruplara 2 saat mekanik ventilasyon uygulanmış, Dex gruplarına intravenöz infüzyonla Dex verilmiş, kontrol grubuna ise serum fizyolojik uygulanmıştır. Elde ettikleri sonuçlara göre kontrol grubuna kıyasla, sham grubunda pO₂'nin önemli ölçüde azaldığı, pCO₂'nin ise arttığı ve kan pH değerinin düştüğünü gözlemlemişlerdir ($p < 0,05$). Mekanik ventilasyon sırasında farklı dozlarda Dex ile tedavi sonrası pO₂ artmış, pCO₂ ise belirgin şekilde azalmıştır. Bu etkinin, Dex dozunun artışıyla daha belirgin hale geldiği ve kan pH seviyelerinin normale döndüğü bildirilmiştir (Li ve ark 2020).

Çalışmamızda da sham grubunda benzer şekilde hipoksemi ve hiperkapni gözlenmiş olup, pH seviyelerinde anlamlı bir düşüş meydana geldi ($p = 0,005$). Li ve ark.'nın çalışmasında Dex uygulaması ile pO₂'nin arttığı ve pCO₂'nin azaldığı bildirilmiştir. Benzer şekilde, bizim çalışmamızda da uygulama gruplarında pH seviyelerinin yükseldiği, pCO₂'nin düştüğü ve pO₂'nin arttığı görüldü. Özellikle DK ($p = 0,012$) ve BAL'da ($p = 0,013$) pO₂ seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı artış saptandı. Bu bulgu, kekik türleri ile balın solunum fonksiyonlarını iyileştirme potansiyeline sahip olabileceğini düşündürmektedir.

Başka bir çalışmada Yanqing ve ark. KOAH modeline sahip sıçanlarda düşük moleküler ağırlıklı heparinin (DMAH) protrombotik durum üzerindeki etkilerini ve en uygun uygulama zamanını araştırmayı amaçlamışlardır. Çalışmada, 40 Wistar sıçanı rastgele dört gruba ayrılmıştır:

Kontrol grubu: 55 gün boyunca herhangi bir işlem uygulanmamıştır.

Sham grubu: Sigaraya maruz bırakma ve trakeal lipopolisakkarit (LPS) instilasyonu ile KOAH modeli oluşturulmuş, ardından 10 gün boyunca subkutan olarak serum fizyolojik enjeksiyonu yapılmıştır.

DMAH-d15 grubu: KOAH modelinin oluşturulmasından 15 gün sonra, 10 gün boyunca günlük 150 U/kg DMAH subkutan enjeksiyonu uygulanmıştır.

DMAH-d29 grubu: KOAH modelinin oluşturulmasından 29 gün sonra, aynı DMAH protokolü uygulanmıştır.

DMAH-d15 grubunda, DMAH-d29 grubuna kıyasla fibrinolitik parametrelerde azalma gözlemlenmiş, trombin plazminojen aktivatörü seviyesinde artış gözlemlenmiştir. Kan gazı parametrelerinde ise kontrol grubuna kıyasla, sham grubunda pCO₂ önemli ölçüde yüksek, pO₂ ise düşük bulunmuş. Sham grubu ile karşılaştırıldığında, her iki DMAH tedavisi sonrasında sıçanların arteriyel kan gazı değerlerinde belirgin bir iyileşme gözlenmiş. Ayrıca, DMAH-d29 ile karşılaştırıldığında, DMAH-d15 grubunda pCO₂ ve pO₂ değerlerinin daha belirgin şekilde iyileştiği tespit edilmiştir (Yanqing ve ark 2014).

Çalışmamızda da sham grubunda pCO₂ seviyeleri anlamlı şekilde yüksek bulundu ($p=0,018$) ve uygulama sonrası DK ($p=0,048$) ve YK'de ($p=0,001$) istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlemlendi. Bununla birlikte, BAL'da pCO₂ seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik saptanmadı ($p=0,314$). Bu durum, tedavinin etkisinin kullanılan bileşenlerin dozuna veya içeriğine bağlı olarak değişebileceğini düşündürmektedir.

Wang ve ark. yaptığı çalışmada, baicalinin, KOAH ileri evresindeki sıçan modellerinde hava yolu inflamasyonu ve yeniden şekillenme (remodelling) üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçlamışlardır. Baicalinin sigara dumanına maruz kalmış KOAH sıçan modelindeki etkilerini değerlendirmek için kan gazları analiz edilmiş. 36 haftalık sigara dumanı maruziyetinden sonra sham grubunda kan pH'ı ve pO₂ önemli ölçüde azalırken, pCO₂ içeriği kontrol grubuyla karşılaştırıldığında belirgin şekilde artmıştır. Ancak, 40 mg/kg, 160 mg/kg baicalin uygulaması, sham grubuyla karşılaştırıldığında pCO₂ artışı önemli ölçüde önlemiş ve pH seviyesini artırmıştır ($p < 0,05$, $p < 0,01$). Ayrıca, sham grubuyla karşılaştırıldığında 40 mg/kg baicalin tedavisinden sonra pO₂ seviyesinde önemli bir artış olduğu bildirilmiştir ($p < 0,05$) (Wang ve ark 2018).

Çalışmamızda da uygulama gruplarında pH seviyelerinin anlamlı şekilde yükseldiği ($p < 0,05$) ve pCO_2 'nin azaldığı gözlemlendi. Bu paralellik, bitkisel ve doğal bileşenlerin KOAH yönetiminde etkili olabileceğini destekleyen veriler sağlamaktadır.

Wu ve ark. heliox ile çalışan nebülizasyonun (HDN), lipopolisakkarit (LPS) ile indüklenen kronik obstrüktif akciğer hastalığı sıçan modelinde akciğer fonksiyonu ve arteriyel kan gazları üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçlamışlardır. Çalışmada, 12 sağlıklı erkek Wistar sıçanı kontrol grubu olarak seçilmiş ve 34 sıçanda LPS ile KOAH modeli oluşturulmuştur. KOAH'lı sıçanlar, sham grubu (grup B), medikal oksijen grubu (grup C) ve iki farklı heliox grubu (grup D ve grup E) olmak üzere dört gruba ayrılmıştır. Elde ettikleri sonuçlara göre kontrol grubuna göre sham grubunda pCO_2 seviyeleri anlamlı şekilde daha yüksekken ($p < 0,05$), sham grubuna göre Grup C ve Grup D'de anlamlı şekilde daha düşüktü ($p < 0,05$). Ayrıca Grup E'de oksijen saturasyonu sham grubuna göre belirgin şekilde artmıştır (Wu ve ark 2016).

Bizim çalışmamızda da BAL'da uygulama sonrası sO_2 yüzdesinin anlamlı şekilde arttığı görüldü ($p=0,024$). Bu bulgu, KOAH'ta hipoksemi yönetimi açısından, uygulanan doğal tedavi protokolünün potansiyel etkilerini desteklemektedir.

Sohrabi ve ark. yaptığı çalışmada elastaz uygulamasıyla indüklenen amfizem modelinde sıçanlarda gallik asidin inflamasyon ve oksidatif stresi nasıl baskıladığını araştırmayı amaçlamışlardır. Çalışmada arteriyel kan gazı analizleri yapılmış ve elde edilen sonuçlara göre PPE ile amfizem modeli oluşturulan sham grubunda kontrol grubuna kıyasla pO_2 seviyelerinin azaldığı, pCO_2 seviyelerinin arttığı ve pH seviyelerinin ise azaldığı gözlemlenmiştir. Gallik asit ile tedavi edilen gruplarda sham grubuna göre pH seviyeleri ve pO_2 seviyelerinde artış, pCO_2 seviyelerinde ise azalma gözlemlenmiştir (Sohrabi ve ark 2021).

Benzer şekilde, bizim çalışmamızda uygulama gruplarında pH seviyelerinde anlamlı bir artış ve pCO_2 seviyelerinde azalma gözlemlendi. Bu benzerlik, antioksidan ve antiinflamatuvar bileşenlerin KOAH yönetiminde önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Shiraishi ve ark. yaptığı çalışmada elastazın indüklediği akciğer hasarının derecesini değerlendirmek amacıyla, sıçan modelinde alpha-elastin ve desmosin

düzeylerinin biyobelirteç olarak kullanılabilirliğini araştırmıştır. Deneysel modelde, sıçanların akciğerlerine intratrakeal yolla elastaz uygulanarak, elastin liflerinin yıkımına bağlı akciğer hasarı oluşturulmuştur. Sonuçlar, elastaz uygulaması sonrası akciğer dokusunda alpha-elastin düzeylerinde belirgin bir azalma ve desmosin düzeylerinde anlamlı bir artış olduğunu göstermiştir; bu durum, elastin yıkımının ve dolayısıyla yapısal hasarın artığına işaret etmektedir. Ek olarak, arteriyel kan gazı analizleri de yapılmış; elastazın neden olduğu akciğer fonksiyon bozukluğu, oksijenlenme parametrelerinde (pO_2 ve sO_2) düşüş, karbondioksit düzeyinde (pCO_2) artış ve pH'da asidoz eğilimi şeklinde kendini göstermiştir. Bu bulgular, elastazın indüklediği akciğer hasarının biyokimyasal göstergeleri ile kan gazı parametrelerinin uyumlu olarak bozulduğunu ortaya koymaktadır (Shiraishi ve ark 1996).

Bizim çalışmamızda da sham grubunda benzer bir tablo gözlemlenmiş olup, tedavi sonrası pH seviyeleri arttı, pCO_2 seviyeleri düştü ve pO_2 seviyeleri iyileşme gösterdi. Bu doğrultuda, uygulanan bitkisel tedavinin KOAH yönetimi açısından olası biyokimyasal ve fonksiyonel faydalar sağlayabileceği düşünülmektedir.

PPE, sigara dumanı (CS) ve lipopolisakkarit (LPS) kullanılarak oluşturulan KOAH hayvan modellerinin ortak özelliği, hepsinin KOAH'ın temel patolojik mekanizmalarını taklit etmeye çalışmasıdır. KOAH, kronik inflamasyon, hava yolu remodelingi, alveoler destrüksiyon (amfizem), mukus hipersekresyonu ve akciğer fonksiyonlarında bozulma ile karakterizedir. Farklı model sistemleri bu bileşenlerin bazılarını daha baskın şekilde oluştururken, bazılarını daha az taklit edebilir. Tüm modellerde proinflamatuvar sitokinler (örn. IL-1 β , IL-6, TNF- α) ve proteazlar (MMP'ler) artar, antiinflamatuvar mekanizmalar ise baskılanır. KOAH'ın en belirgin özelliklerinden biri olan amfizem, özellikle PPE ve sigara dumanı modellerinde belirgindir.

Yaptığımız çalışmada, PPE ile oluşturulan KOAH modelinde kan gazı parametreleri değerlendirilmiş ve kekik türleri ile balın KOAH üzerindeki terapötik etkileri araştırılmıştır. Çalışmamızın bulguları, literatürde farklı KOAH modellerinde yapılan benzer çalışmalardaki sonuçlarla kıyaslandığında, KOAH'ta hipoksemi, hiperkapni ve solunumsal asidozun geliştiğini doğrulamakta ve uygulanan tedavinin bu parametreleri iyileştirme potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.

Yaptığımız çalışmada, literatürde yer alan farklı KOAH modellerinde elde edilen bulgularla benzer kan gazı değişiklikleri gözlemlendi. Sham grubunda hipoksemi, hiperkapni ve asidik bir kan gazı profili olduğu saptanmış olup, bu bulgular Li ve ark. (2020), Yanqing ve ark. (2014), Wang ve ark. (2018), Wu ve ark. (2016) ve Sohrabi ve ark. (2021) gibi çalışmalarla tutarlılık göstermektedir. Çalışmamızın özgün katkısı, kekik türleri ve balın KOAH tedavisinde potansiyel etkilerinin ilk kez sistematik olarak değerlendirilmesi ve tedavi sonrası kan gazı parametrelerinde anlamlı iyileşmelerin gösterilmiş olmasıdır. Özellikle pO_2 'de artış, pCO_2 'de düşüş ve pH seviyelerinin normalleşmesi, uygulanan tedavi protokolünün KOAH'ın solunum fizyolojisi üzerindeki olumlu etkilerini ortaya koymaktadır.

Bu sonuçlar, bitkisel ve doğal bileşenlerin KOAH yönetiminde tamamlayıcı veya alternatif tedavi olarak değerlendirilebileceğine dair önemli bulgular sunmaktadır. Ancak, KOAH'ın kompleks patofizyolojisi göz önünde bulundurularak, daha fazla mekanistik çalışma ve klinik araştırma ile bu sonuçların desteklenmesi gerekmektedir.

4.2. T hücreleri (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺)

Akciğer inflamasyonu öncelikle inflamatuvar hücrelerin, özellikle makrofajlar ve nötrofillerin infiltrasyonu nedeniyle meydana gelir ve bu hücreler elastinolitik proteazlar salgılayarak pulmoner elastin yıkımından kademeli olarak sorumludur. Akciğerin yoğun proteolitik yıkımı sırasında büyük miktarlarda üretilen çözümlü elastin peptitleri (EP), KOAH sırasında inflamatuvar sürecin yayılımını ve sürekliliğini destekleyebilir. Patolojik T hücreleri de KOAH bağlamında inflamatuvar hasarların düzenlenmesi ve devam etmesi açısından önemli bir rol oynar. T-yardımcı (Th)-1, Th-2 veya Th-17 sitokinlerini salgılayan CD4⁺ T hücreleri ile interferon- γ (IFN- γ) üreten CD8⁺ T-sitotoksik hücrelerinin çeşitli biyolojik sıvılardaki sıklığı, KOAH şiddetiyle ilişkilidir (Pierre ve ark 2019).

Li ve ark. yaptığı çalışmada, sigara dumanı ile kronik obstrüktif akciğer hastalığı modeli oluşturulan sıçanların akciğerlerinde T lenfositlerinin infiltrasyonunu azaltmada Bu-Shen-Fang-Chuan (BSFCF) formülünün potansiyel etkilerini ve mekanizmasını incelemeyi amaçlamışlardır. Sigara içen KOAH hastalarında hava yolu ve akciğer parankiminde T lenfositlerin, özellikle CD8⁺ T hücrelerinin sayısının arttığı

ve bu artışın hava akımı tıkanıklığının şiddetiyle doğrudan ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle, hangi lenfosit alt gruplarının BSFCF'den etkilendiğini belirlemek amacıyla, immünohistokimya yöntemiyle T hücrelerinin biyobelirteçleri olan CD8⁺ ve CD4⁺ seviyeleri değerlendirilmiştir. Sigara dumanına maruz kalan sıçanların hava yolu ve akciğer parankimasında, kontrol grubuna kıyasla belirgin bir CD8⁺ T hücresi infiltrasyonu ($p < 0,01$) ve hafif bir CD4⁺ T hücresi infiltrasyonu gözlemlenmiştir. BSFCF tedavisi, sham grubuyla karşılaştırıldığında akciğerde CD8⁺ T hücre birikimini anlamlı şekilde azaltmıştır ($p < 0,05$). Ancak, BSFCF'nin CD4⁺ T hücre birikimi üzerindeki etkisi CD8⁺ T hücreleri kadar belirgin değildir (Li ve ark 2020).

Benzer şekilde, bizim çalışmamızda da kekik türleri ve bal ile yapılan uygulamanın CD8⁺ T hücre seviyelerinde belirgin bir düşüş sağladığı görüldü. Ancak, Li ve ark.'nın çalışmasında CD4⁺ T hücre birikimi üzerine anlamlı bir değişiklik gözlenmezken, bizim çalışmamızda da CD4⁺ seviyelerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p = 0,33$). Bu sonuç, KOAH'ın CD8⁺ T hücre aracılı inflamasyon ile daha yakından ilişkili olduğu ve tedavinin öncelikle CD8⁺ hücrelerini baskılayarak etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Liu ve ark. yaptığı çalışmada, sigara dumanı ve lipopolisakkaritin intratrakeal enjeksiyon ile indüklenen kronik bronşitli (CB) sıçanlarda CD8⁺T hücrelerinin rolünü araştırmayı amaçlamıştır. Araştırmada, kronik bronşit oluşturulmuş; daha sonra akciğer dokusu örneklerinden immünohistokimya yöntemleriyle CD8⁺ T hücre infiltrasyonu tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, kronik bronşitli sıçanlarda, kontrol gruplarına kıyasla akciğer dokusunda CD8⁺ T hücre sayısının anlamlı derecede arttığını göstermiştir. Bu artış, akciğer dokusunda gözlenen yoğun inflamasyon, bronş duvarı hasarı ve yapısal değişikliklerle korele olmuştur. Sonuç olarak, çalışma, CD8⁺ T hücre ifadesinin kronik bronşitte inflamatuvar yanıt ve doku hasarının önemli bir göstergesi olduğunu ortaya koymakta ve bu durum, CD8⁺ T hücrelerin hastalığın patogenezinde merkezi bir rol oynayabileceğini ve potansiyel tedavi hedefi olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir (Liu ve ark 2015).

Çalışmamızda da sham grubunda CD8⁺ T hücre seviyelerinin en yüksek bulunması, bu bulgularla uyumludur. Ayrıca, uygulama gruplarında CD8⁺

seviyelerinin azalması, kekik türleri ile balın inflamatuvar hücre birikimi üzerindeki olumlu etkisini ortaya koymaktadır.

Hodge ve ark. yapmış olduğu çalışmada hem insan hem de deney hayvanı modelinde kronik obstrüktif akciğer hastalığının patogenezinde artmış CD8⁺/CD28^{null} T hücrelerinin ve alternatif kostimülasyon moleküllerinin rolünü ortaya koymayı amaçlamışlardır. Analiz sonuçları, KOAH'lı örneklerde CD8⁺/CD28^{null} T hücrelerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığını göstermiştir. Bu artış, inflamatuvar sitokinlerin (örneğin, TNF- α , IL-6) üretiminde yükselme ile korele olmuştur (Hodge ve ark 2011).

Çalışmamızda da sham grubunda CD3⁺ seviyelerinin en yüksek olması ve uygulama sonrası CD3⁺ düzeylerinde belirgin bir azalma gözlenmesi ($p=0,017$), uygulanan tedavinin KOAH'ın kronik inflamatuvar bileşeni üzerinde etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Yang Yibao ve ark. yaptığı çalışmanın amacı, Ginkgo biloba ekstraktı (GBE)'nin kronik obstrüktif akciğer hastalığı modelindeki sıçanlarda serum ve bronkoalveoler lavaj sıvısındaki (BALF) T lenfosit alt grupları üzerindeki etkisini incelemektir. Çalışmada toplam 90 erkek Wistar sıçanı rastgele altı gruba ayrılmıştır: normal kontrol grubu (Grup A), KOAH kontrol grubu (Grup B), GBE erken müdahale grubu (Grup C), GBE geç müdahale grubu (Grup D), eritromisin erken müdahale grubu (Grup E) ve eritromisin geç müdahale grubu (Grup F). Her grupta 15 sıçan bulunmaktadır. KOAH modeli, B, C, D, E ve F gruplarındaki sıçanlarda 28 gün boyunca duman inhalasyonu, soğuk hava maruziyeti gibi çeşitli faktörlerle oluşturulmuştur. Müdahale olarak, GBE Grup C'ye 1-14. günler, Grup D'ye 29-42. günler arasında uygulanırken, eritromisin Grup E'ye 1-14. günler, Grup F'ye ise 29-42. günler arasında verilmiştir. Müdahale öncesi ve sonrası serum ve BALF'teki CD4⁺ ve CD8⁺ seviyeleri ölçülmüş ve CD4⁺/CD8⁺ oranı hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, Grup B'de serum ve BALF'teki CD4⁺ seviyesi ve CD4⁺/CD8⁺ oranı Grup A'ya kıyasla anlamlı derecede düşük bulunurken ($p<0.05$), CD8⁺ seviyesi anlamlı derecede yüksek tespit edilmiştir ($p<0.05$). Buna karşın, GBE uygulanan Grup C ve D'de serum ve BALF'teki CD4⁺ seviyesi ve CD4⁺/CD8⁺ oranı, Grup B'ye göre anlamlı derecede yüksek bulunurken ($p<0.05$), CD8⁺ seviyesi ise anlamlı derecede

düşük bulunmuş ($p<0.05$). Grup C, D, E ve F arasında $CD4^+$, $CD8^+$ ve $CD4^+/CD8^+$ oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Ancak BALF'teki $CD4^+$ seviyesi, Grup C'de Grup E ve F'ye kıyasla anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ($p<0.05$) (Yang YiBao ve ark 2018).

Çalışmamızda da uygulama sonrası $CD8^+$ düzeylerinin düştüğü, ancak $CD4^+$ düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı gözlemlendi. Bu sonuçlar, kekik türleri ile balın anti-inflamatuar etkisinin özellikle $CD8^+$ T hücre yanıtını baskılamak üzerinden gerçekleştiğini düşündürmektedir.

Wen ve ark. Citrus reticulata uçucu yağının KOAH sıçan modelindeki terapötik etkilerini ve anti-inflamatuar mekanizmalarını değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Citrus reticulata uçucu yağının atomize inhalasyonu, KOAH'lı sıçanlarda $CD8^+$ T hücrelerinin sayısını azaltmıştır (Wen ve ark 2024).

Benzer şekilde, çalışmamızda da kekik türleri ile bal tedavisinin $CD8^+$ seviyelerinde anlamlı bir düşüş sağladığı gösterilmiştir. Bu durum, bitkisel bileşenlerin KOAH yönetiminde inflammatuar hücre infiltrasyonunu baskılayarak etkili olabileceğini desteklemektedir.

Maeno ve ark. sigara dumanına bağlı olarak gelişen amfizem modelinde $CD8^+$ T hücrelerinin inflamasyon ve akciğer yıkımındaki kritik rolünü araştırmışlardır. Deneysel olarak, fareler sigara dumanına maruz bırakılarak amfizem modeli oluşturulmuş ve $CD8^+$ T hücrelerinin varlığı veya yokluğunun inflammatuar yanıt ve doku yıkımı üzerindeki etkileri incelenmiştir. Bulgular, $CD8^+$ T hücrelerinin, akciğer dokusunda inflamasyonun sürdürülmesi ve alveolar yapının yıkımında belirleyici olduğunu ortaya koymuştur; $CD8^+$ T hücrelerinin yokluğunda ise inflamasyon ve doku yıkımı anlamlı derecede azalmıştır (Maeno ve ark 2007).

Çalışmamızda da uygulama sonrası $CD8^+$ seviyelerinin düşmesi, inflamasyonun hafifletildiğini ve KOAH gelişiminin kısmen baskılanabileceğini göstermektedir.

Vieira ve ark. yaptığı çalışmada, inhalasyon yoluyla uygulanan Cissampelos sympodialis'nin, hava yolu alerjik reaksiyonlarını nasıl düzenlediğini ve bu etkinin

akciğer CD3⁺ T hücrelerinin azaltılmasıyla ilişkili olup olmadığını araştırmışlardır. Deneyde, alerjik hava yolu reaksiyonu oluşturulmuş hayvan modellerine *Cissampelos sympodialis* inhalasyon tedavisi uygulanmış ve sonrasında akciğer dokusundaki CD3⁺ T hücre infiltrasyonu, immünohistokimya ve akım sitometrisi yöntemleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, tedavi grubunda akciğer CD3⁺ T hücre sayısının anlamlı derecede azaldığını ve bunun hava yolu inflamasyonunun ve alerjik reaksiyon şiddetinin düşmesiyle paralel seyrettiğini göstermiştir (Vieira ve ark 2013).

Muda ve ark. yaptığı çalışmada, sigara dumanına maruz bırakılan sıçanların küçük hava yollarında gelişen inflamasyona karşı balın etkisi değerlendirilmiştir. Çalışmada, 8-9 haftalık 23 erkek sıçan rastgele üç gruba ayrılmıştır. İlk grup günlük olarak sigara dumanına maruz bırakılırken, ikinci grup sigara dumanına maruz bırakılmış ve ek olarak 1,2 g/kg dozunda oral bal verilmiştir. Üçüncü grup ise kontrol grubu olarak belirlenmiş ve herhangi bir müdahale uygulanmamıştır. Dört hafta sonunda sıçanlar sakrifiye edilerek akciğer dokuları incelenmiş. Kesitler, immünohistokimyasal olarak anti-CD68⁺ ve anti-CD8⁺ ile boyanarak makrofajlar ve CD8⁺ T lenfositlerin sayımı yapılmıştır. Sonuçlar, sigara dumanına maruz bırakılan ve bal verilen grupta, yalnızca sigara dumanına maruz kalan gruba kıyasla makrofaj sayısında anlamlı bir azalma olduğunu ($z=-2.52$, $p=0.012$), ancak CD8⁺ T lenfosit sayıları açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadığını ($z=-0.40$, $p=0.690$) göstermiştir. Bu bulgular, balın sigara dumanına bağlı inflamatuvar yanıtta hava yollarındaki makrofaj birikimini azaltıcı bir etkiye sahip olabileceğini, ancak CD8⁺ T lenfositler üzerinde belirgin bir etkisinin olmadığını ortaya koymaktadır. Bu çalışma, balın KOAH patogeneğinde inflamasyonu azaltmada potansiyel bir ajan olarak değerlendirilebileceğini düşündürmektedir (Muda ve ark 2014).

Çalışmamızda bal ile tedavi edilen grupta CD8⁺ seviyelerinin düştüğü gözlemlendi.

Pierre ve ark. (2019) yaptığı çalışma, KOAH'ta inflamatuvar hücre infiltrasyonunun özellikle makrofajlar ve nötrofillerin artışıyla başladığını ve akciğer dokusunda elastinolitik proteazların salınımının elastin yıkımına yol açtığını ortaya koymuştur. Bu süreçte patolojik T hücreleri (özellikle CD8⁺ ve CD4⁺ T hücreleri), KOAH'ın ilerleyişinde önemli bir rol oynar. Çalışmamızda da CD8⁺ T hücre seviyeleri

sham grubunda en yüksek bulunmuş, tedavi sonrası CD8⁺ seviyeleri anlamlı şekilde azalmıştır ($p=0,03$). Bu bulgu, KOAH gelişimi ile CD8⁺ T hücre infiltrasyonu arasındaki güçlü bağlantıyı doğrulamakta ve tedavinin CD8⁺ T hücre birikimini baskılamada etkili olabileceğini göstermektedir.

Yaptığımız çalışmada PPE ile oluşturulan KOAH modelinde CD3⁺, CD4⁺ ve CD8⁺ düzeyleri incelendi ve kekik türleri ile balın KOAH üzerindeki inflamatuvar hücresel yanıt üzerindeki etkileri araştırıldı. Çalışmamızın bulguları, literatürde farklı KOAH modellerinde yapılan benzer çalışmalarla kıyaslandığında, KOAH'ta CD8⁺ T hücre aktivitesinin arttığını ve inflamasyonun kronikleştiğini doğrulamakta, uygulanan tedavinin ise CD8⁺ ve CD3⁺ T hücre seviyelerini azaltarak inflamasyonu baskılayabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızda KOAH modeli oluşturulan sıçanlarda inflamatuvar yanıtın özellikle CD8⁺ T hücre aracılığıyla gerçekleştiği görüldü, tedavi sonrası CD8⁺ seviyelerinin anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi. Bu sonuçlar, Li ve ark. (2020), Liu ve ark. (2015), Hodge ve ark. (2011) ve Yang Yibao ve ark. (2018) gibi çalışmalarla paralellik göstermektedir. CD4⁺ seviyelerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemesi, KOAH'taki inflamasyonun öncelikle CD8⁺ T hücre aracılı patolojik süreçlerle ilişkili olduğunu desteklemektedir.

CD3⁺ ve CD8⁺ hücrelerinin inhibisyonu, çeşitli immünolojik mekanizmalar aracılığıyla gerçekleşir. Bunlardan biri, T hücre aktivasyonunda kritik bir rol oynayan NF- κ B yolunun baskılanmasıdır. Anti-inflamatuvar fenolik bileşenler, bu sinyal yolunun aktivasyonunu engelleyerek CD3⁺ ve CD8⁺ hücrelerinin çoğalmasını azaltabilir. Ayrıca, PD-1/PD-L1 ve CTLA-4 yollarının aktivasyonu, T hücreleri üzerinde immün yanıtı baskılayıcı sinyallerin artmasını sağlayarak hücre proliferasyonunu sınırlayabilir. T hücrelerinin aktivasyonu için gerekli olan IL-2, IFN- γ ve TNF- α gibi sitokinlerin seviyelerinin düşmesi, CD3⁺ ve CD8⁺ hücre aktivitesini inhibe eden bir diğer önemli mekanizmadır. Ayrıca, antioksidan ve anti-inflamatuvar bileşenlerin apoptozu artırıcı etkisi, T hücre popülasyonunda azalmaya neden olabilir. Bu mekanizmalar, bağışıklık sisteminin aşırı aktivasyonunu kontrol altında tutarak inflamatuvar süreçlerin düzenlenmesine katkıda bulunur.

Karvakrol, CD3⁺ ve CD8⁺ T hücrelerinin aktivasyonunu inhibe edebilen güçlü bir biyoaktif bileşiktir. NF-κB ve AP-1 gibi transkripsiyon faktörlerini baskılayarak inflamatuvar yanıtı azaltırken, IL-2 ve IFN-γ üretimini düşürerek T hücre proliferasyonunu sınırlayabilir. Ayrıca, PD-1/PD-L1 ekseninde bağışıklık yanıtını baskılayıcı etkiler göstererek immüno-supresyon mekanizmasına katkıda bulunabilir. Karvakrole benzer bir şekilde timol de NF-κB sinyal yolunu baskılayarak T hücre aktivasyonunu azaltır ve immün yanıtın düzenlenmesine yardımcı olur. Bunun yanı sıra, rozmarinik asit CD3⁺ ve CD8⁺ T hücre proliferasyonunu azaltma kapasitesine sahiptir. TGF-β seviyelerini artırarak immüno-supresif etki gösterebilir ve apoptozu teşvik ederek CD3⁺ ve CD8⁺ hücrelerinin sayısını düşürebilir. Bu bileşenlerin ortak etkileri, bağışıklık sisteminin aşırı aktivasyonunu dengelemeye ve inflamatuvar süreçleri kontrol altına almaya yönelik güçlü mekanizmalar sunar.

Özellikle Origanum (kekik) türleri ile balın anti-inflamatuvar etkilerinin KOAH'ta CD8⁺ T hücre seviyelerini düşürerek inflamasyonu hafifletebileceği görüldü. Bu durum, bitkisel bileşenlerin KOAH tedavisinde tamamlayıcı bir ajan olarak değerlendirilebileceğini düşündürmektedir. Ancak, KOAH'ın kronik doğası göz önüne alındığında, bu etkinin uzun vadeli mekanizmalarını anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

4.3. HMGB1, IL-1α, IL33 Düzeyleri

Yüksek mobiliteli grup protein B1 (HMGB1), astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) patogeneğinde önemli bir aracı olarak gösterilmiştir. Hou ve ark. yaptığı çalışmada, KOAH ve astımlı hastalarda indüklenen balgam ve plazmadaki HMGB1 konsantrasyonları incelenmiştir. Çalışmaya toplam 147 katılımcı dahil edilmiş; bunlar 34 sağlıklı kontrol, 61 kalıcı astım hastası (GINA kılavuzlarına göre) ve 47 stabil KOAH hastasından (GOLD kriterlerine göre) oluşuyordu. Katılımcılara spirometri uygulandıktan sonra balgam indüksiyonu yapılmış ve HMGB1 seviyeleri ELISA ile ölçülmüştür. Astım ve KOAH hastalarında balgam ve plazmadaki HMGB1 konsantrasyonları, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. KOAH hastalarının indüklenen balgamındaki HMGB1 seviyeleri, astım hastaları ve sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında anlamlı derecede daha yüksekti ($p < 0,001$) (Hou ve ark 2011).

Xu ve ark. yaptığı çalışmada, sigara kaynaklı KOAH hastalarında serum HMGB1 seviyelerini ve bu seviyelerin hava akımı kısıtlanması ve bağışıklık fonksiyonlarıyla ilişkisini değerlendirmeyi amaçlamıştır. Çalışmaya 136 KOAH hastası ve 35 sağlıklı birey dahil edilmiştir. Serum HMGB1 seviyeleri, KOAH hastalarında kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuş ve hava akımı kısıtlanmasının şiddeti arttıkça HMGB1 seviyeleri de yükselmiştir. Sonuç olarak, serum HMGB1 seviyelerinin KOAH ilerlemesiyle doğrudan ilişkili olduğunu ve hastalığın progresyonunu değerlendirmede potansiyel bir biyobelirteç olabileceğini bildirmişlerdir (Xu ve ark 2022).

Çalışmamızda da sham grubunda HMGB1 seviyelerinin anlamlı şekilde yüksek bulunması ($p < 0,05$), HMGB1'in KOAH patogeneğinde merkezi bir rol oynadığını desteklemektedir.

Ferhani ve ark. yaptığı çalışma, KOAH'ta HMGB1 seviyelerinin artışı ve IL-1 β ile RAGE ile olan ilişkisini değerlendirmeyi amaçlamaktadır. Bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvısında HMGB1 seviyeleri, sigara içen KOAH hastalarında, sigara içenlere ve hiç sigara içmeyenlere kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0,0001$). Bu artış, epitel hücrelerde ve alveolar makrofajlarda da gözlemlenmiştir. BAL sıvısı HMGB1 seviyeleri, IL-1 β ile pozitif korelasyon ($r_s = 0,438$; $p = 0,0006$) göstermiştir. Sigara içenlerin ve KOAH'lı hastaların BAL sıvılarında ve alveolar makrofajlarında HMGB1-IL-1 β kompleksleri tespit edilmiş ve bu komplekslerin TNF- α sentezini artırdığı gösterilmiştir. Sonuç olarak, KOAH 'ta HMGB1 ekspresyonunun arttığı ve IL-1 β ve RAGE ile etkileşime girerek inflamasyonun ve hava yolu yeniden şekillenmesinin devamlılığını sağlayabileceği ortaya konmuştur (Ferhani ve ark 2010).

Çalışmamızda sham grubunda HMGB1 seviyelerinin yüksek olması, bu inflamatuvar mekanizmanın çalışmamızdaki modelde de aktif olduğunu göstermektedir.

Shang ve ark. yaptığı çalışma, modifiye Erchentang'ın, KOAH'lı sıçanların bronşiyollerindeki inflamasyona karşı HMGB1/RAGE/NF- κ B sinyal yolu aracılığıyla etkisini araştırmayı amaçlamıştır. KOAH sıçan modeli, sigara dumanı ve LPS enjeksiyonu ile oluşturulmuş ve farklı dozlarda modifiye Erchentang tedavisi uygulanmıştır. KOAH model grubunda HMGB1 seviyelerinin arttığını ve HMGB1,

RAGE, NF-κB p65'in mRNA ve protein ekspresyonlarının yükseldiğini göstermiştir ($p<0.01$). Modifiye Erchentang tedavisi, orta ve yüksek dozlarda BALF'teki HMGB1 seviyelerini düşürmüştür ve HMGB1, RAGE ve NF-κB p65'in mRNA ve protein ekspresyonlarını anlamlı şekilde azaltmıştır ($p<0.05$, $p<0.01$). Bu bulgular, modifiye Erchentang'ın KOAH'lı sıçanlarda bronşiyoler inflamasyonu azaltabileceğini ve bu etkinin HMGB1 ve RAGE ekspresyonunu baskılayarak, NF-κB aktivitesini inhibe ederek ve proinflamatuvar mediyatörlerin salınımını azaltarak gerçekleşebileceğini göstermektedir. Böylece, bronşiyollerde inflamatuvar hasar ve anormal onarım süreçleri baskılanabilir (Shang ve ark 2023).

Çalışmamızda uygulama gruplarında HMGB1 seviyelerinin sham grubuna kıyasla daha düşük bulunması, uygulanan tedavinin HMGB1 aracılı inflamatuvar yanıtı baskılayabileceğini düşündürmektedir.

Liu ve ark. yaptığı çalışmada, ulinastatinin KOAH'lı sıçanlarda akciğer hasarına karşı koruyucu mekanizmasını araştırmayı amaçlamışlardır. Çalışmada, sigara dumanı ve lipopolisakkarit ile oluşturulan KOAH modeli kullanılarak sıçanlar üç gruba ayrılmış: kontrol, sham ve deney grubu. Sham grubuna konvansiyonel tedavi uygulanırken, deney grubuna ulinastatin tedavisi verilmiştir. Akciğer fonksiyon ölçümlerine göre, sham grubundaki sıçanların akciğer fonksiyonları kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede azalmış ($p<0,05$), ancak ulinastatin uygulanan deney grubunda fonksiyonel iyileşme sağlanmıştır. Gerçek zamanlı PCR ve western blot analizleri, TLR4, MyD88, TRAF-6, LOX-1 ve HMGB1'in mRNA ve protein ekspresyon seviyelerinin sham grubunda en yüksek olduğunu, ancak ulinastatin tedavisi sonrası bu seviyelerin anlamlı derecede düştüğünü göstermiştir ($p<0,05$). HMGB1 ve TLR4 ekspresyon seviyeleri pozitif korelasyon göstermiştir. Bu bulgular, HMGB1/TLR4 sinyal yolunun KOAH patogenezinde önemli bir rol oynadığını ve ulinastatinin akciğer koruyucu etkisinin bu sinyal yolunu baskılamasıyla ilişkili olabileceğini ortaya koymaktadır (Liu ve ark 2018).

Çalışmamızda da HMGB1 seviyelerinin uygulama gruplarında düşmesi, inflamasyonun baskılandığını ve KOAH'ın ilerleyişinin durdurulabileceğini göstermektedir.

Yaptığımız çalışmada, PPE ile oluşturulan KOAH modelinde HMGB1 seviyeleri değerlendirildi ve kekik türleri ile balın KOAH üzerindeki etkileri araştırıldı. Çalışmamızın bulguları, literatürde farklı KOAH modellerinde yapılan benzer çalışmalarla kıyaslandığında, KOAH'ta HMGB1 seviyelerinin arttığını ve hastalığın ilerlemesiyle ilişkili olduğunu doğrulamakta, uygulanan tedavinin ise HMGB1 seviyelerini düşürerek kontrol grubu seviyelerine geri getirebileceğini göstermektedir. Hou ve ark. (2011) yaptığı çalışmada, KOAH hastalarının balgam ve plazmasındaki HMGB1 seviyelerinin astım hastalarına ve sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermiştir ($p < 0,001$). Benzer şekilde, çalışmamızda da sham grubunda HMGB1 seviyeleri en yüksek bulunmuş, KOAH'ın inflamatuvar sürecinin HMGB1 aracılığıyla ilerlediği doğrulanmıştır.

Çalışmamızda KOAH modeli oluşturulan sıçanlarda HMGB1 seviyelerinin sham grubunda anlamlı şekilde arttığı tespit edildi, tedavi sonrası HMGB1 seviyelerinin sham grubuna kıyasla anlamlı derecede azaldığı gösterildi.

Bu sonuçlar, Hou ve ark. (2011), Xu ve ark. (2022) ve Ferhani ve ark. (2010) gibi çalışmalarla tutarlılık göstermektedir. Özellikle, HMGB1 seviyelerindeki bu düşüş, uygulanan tedavinin KOAH'taki inflamatuvar süreci inhibe etme potansiyeline sahip olabileceğini desteklemektedir.

Kekik türleri ve balın anti-inflamatuvar etkileri, literatürde bildirilen diğer tedaviler (modifiye Erchentang, ulinastatin vb.) ile benzer mekanizmalar üzerinden etki gösterebilir. Bu durum, bitkisel bileşenlerin KOAH tedavisinde tamamlayıcı bir ajan olarak değerlendirilebileceğini düşündürmektedir. Ancak, KOAH'ın kronik doğası göz önüne alındığında, bu etkinin uzun vadeli mekanizmalarını anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Yang ve ark. yaptığı çalışmada, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) modeline sahip sıçanlarda Yu-Ping-Feng-San adlı formülün anti-inflamatuvar etkilerini ve bu etkinin arkasındaki mekanizmayı, özellikle de TGF- β 1 sinyal yolunun baskılanması üzerinden değerlendirmeyi amaçlamıştır. KOAH sıçan modeli sigara dumanına maruz bırakılarak ve lipopolisakkaritin intratrakeal infüzyonu ile oluşturulmuş ve deney grubundaki sıçanlara Yu-Ping-Feng-San uygulanmış. Çalışmada, KOAH model sıçanlarında akciğer dokusundan elde edilen örneklerde IL-

1 β düzeyleri, RT-PCR yöntemiyle ölçülmüştür. Yu-Ping-Feng-San tedavisi uygulanan grupta, sham grubu ile karşılaştırıldığında IL-1 β düzeylerinde anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir. Bu bulgu, formülün TGF- β 1 sinyal yolunu baskılamasıyla bağlantılı olarak IL-1 β aracılı inflamatuvar yanıtı da önemli ölçüde azaltabildiğini göstermektedir (Yang ve ark 2016).

Bizim çalışmamızda kekik türleri ve bal ile tedavi edilen gruplarda benzer şekilde IL-1 α düzeylerinde anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir.

Wang ve ark. yaptığı çalışmada, okaliptüs yapraklarından izole edilen uçucu yağ (EO)'nın, sıçanlarda lipopolisakkarit ve Klebsiella pneumoniae kullanılarak oluşturulan KOAH modelindeki etkileri incelenmiştir. KOAH modeli, LPS ve K. pneumoniae'nin intratrakeal damlatılmasıyla oluşturulmuş; üç hafta maruziyetin ardından sıçanlara dört hafta boyunca intragastrik olarak EO (30, 100 ve 300 mg/kg) verilmiştir. Elde edilen sonuçlar, EO uygulamasının bronkoalveolar lavaj sıvısı (BALF) ve kanda bulunan inflamatuvar hücre sayılarını önemli ölçüde azalttığını; ayrıca bronşiyolit, amfizem ve bronşiol kalınlığında iyileşmeye yol açtığını göstermiştir. EO ile tedavi edilen gruplarda, akciğer homojenatında proinflamatuvar sitokinler TNF- α ve IL- β üretimi belirgin şekilde düşerken, malondialdehit (MDA) seviyeleri azalmış ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi artmıştır. Bu bulgular, EO'nun proinflamatuvar sitokin üretiminin inhibisyonu ve antioksidan savunma mekanizmasının iyileştirilmesi yoluyla LPS ve K. pneumoniae kaynaklı akciğer hasarına karşı koruyucu etkiler gösterdiğini ve dolayısıyla KOAH tedavisinde potansiyel bir aday ilaç olabileceğini ortaya koymuştur (Wang ve ark 2017).

Peng ve ark. yaptığı çalışmada, kronik hava yolu inflamasyonunun KOAH patogenezindeki rolü doğrultusunda, melatoninin koruyucu etkileri ve bu etkinin SIRT1 aracılığıyla gerçekleşip gerçekleşmediği araştırılmıştır. Araştırmanın amacı, melatoninin sigara dumanı ve LPS ile oluşturulan KOAH modelinde hava yolu inflamasyonunu nasıl azalttığını ve SIRT1'in bu süreçteki rolünü ortaya koymaktır. Sıçanlar 28 gün boyunca sigara dumanı ve LPS'ye maruz bırakıldıktan sonra, tedavi gruplarına melatonin veya melatonin ile birlikte EX527 uygulandı. Elde edilen sonuçlar, melatonin uygulamasının KOAH gelişimini önemli ölçüde önlediğini; bunun

NLRP3 inflamazomunun ve IL-1 β üretiminin baskılanması yoluyla hava yolu inflamasyonunun inhibisyonuna bağlı olduğu gösterilmiştir (Peng ve ark 2018).

Bizim çalışmamızda IL-1 α ve IL-33 düzeylerinin YK'de en düşük seviyede bulunması, kekik türlerinin benzer bir mekanizma ile inflamasyonu baskılayabileceği hipotezini desteklemektedir.

Ji ve ark. yaptığı çalışmada, KOAH'ın sıçan modeli üzerinde inflamatuvar yanıtın ve solunum fonksiyon bozukluğunun moleküler mekanizmalarını, özellikle de ICAM-1 ve IL-1 β 'nin rolünü incelemeyi amaçlamışlardır. KOAH modeli, sigara dumanı maruziyeti ve lipopolisakkaritin intratrakeal olarak verilmesiyle oluşturulmuştur. Araştırmada, akciğer homojenatından elde edilen dokularda, hücreler arası yapışma molekülü-1 (ICAM-1) ve IL-1 β protein ekspresyonu immünohistokimya ile, ilgili mRNA düzeyleri ise RT-PCR yöntemiyle belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, KOAH'lı sıçanlarda akciğer dokularında hem ICAM-1 hem de IL-1 β protein ve mRNA düzeyleri sağlıklı gruplara göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bu bulgular, KOAH'lı sıçanlarda inflamatuvar kaskadın dengesizleşmesi ve özellikle ICAM-1 ile IL-1 β 'nin yukarı regülasyonunun, akciğer dokusunda inflamatuvar hasara ve solunum fonksiyonunun azalmasına yol açtığını ortaya koymaktadır (Ji ve ark 2015).

Wang ve ark. yaptığı çalışmanın amacı, KOAH'ın ilerlemesinde ve inflamatuvar yanıtın sürdürülmesinde kritik rol oynayan sitokinlerin düzenlenmesinde, *Fritillaria cirrhosa* soğanlarından izole edilen imperialinin potansiyel terapötik etkilerini araştırmaktır. Sigara dumanı ve LPS'nin intratrakeal damlatılması yoluyla oluşturulan KOAH benzeri sıçan modelinde, mevcut tedavilerin sınırlı etkilerine karşı imperialinin akciğer fonksiyonunu, yapısını ve inflamatuvar yanıtı nasıl iyileştirdiği incelenmiştir. Bulgular, imperialinin KOAH'lı sıçanlarda hava yollarındaki inflamasyonun baskılanması ve akciğer dokusundaki yapısal bozuklukların hafifletilmesiyle ilişkili olduğunu göstermektedir. Özellikle, tedavi sonrası akciğer dokularında IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , NF- κ B, TGF- β 1, MMP-9 ve TIMP-1 gibi inflamasyonla ilişkili sitokinlerin ekspresyon düzeylerinin düzenlendiği, bu durumun da emperyalinin anti-inflamatuvar etkisine katkı sağladığı belirlenmiştir (Wang ve ark 2016).

Osei ve ark. yaptığı çalışmada, astımda hava yolu epitel farklılaşmasının bozulmasıyla ortaya çıkan mediatör salınımının, hava yolu inflamasyonu ve yeniden şekillenmesi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Araştırmanın amacı, birincil hava yolu epitel hücrelerinden farklılaşma süreci sırasında salınan IL-1 ailesi (özellikle IL-1 α/β) ve IL-33'nin, birincil hava yolu fibroblastları (PAF) üzerindeki etkilerini; inflamatuvar mediatör üretimini, hücre dışı matris (ECM) protein sentezini ve kollajen I yeniden şekillenmesini nasıl etkilediğini ortaya koymaktır. Çalışmanın bulgularına göre, kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında, farklılaşmamış astımlı primer hava yolu epitel hücrelerinde IL-1 α üretimi belirgin şekilde artmıştır. Bu artış, epitel hücrelerinden salınan IL-1 α 'nın, hava yolu fibroblastları üzerinde güçlü proinflamatuvar etkiler gösterdiğini ortaya koymaktadır. IL-1 α , fibroblastlarda bazı inflamatuvar mediatörlerin üretimini indükleyerek, hava yolunda inflamasyonun devam etmesine katkıda bulunur. Sonuç olarak, çalışma, IL-1 α 'nın astım patogenezinde hem inflamatuvar yanıtı tetikleyen hem de ECM yeniden düzenlenmesinin bozulmasına yol açan önemli bir etken olduğunu ortaya koyarak, IL-1 α 'nın potansiyel terapötik hedef olabileceğine dair yeni bakış açıları sunmaktadır (Osei ve ark 2020).

Tracy ve ark. yaptığı çalışmada, IL-1 β ve IL-1 α 'nin fotodinamik tedavi (PDT) sonrası doku hasarına ve inflamatuvar yanıtın düzenlenmesindeki rolleri ayrıntılı olarak incelenmiştir. PDT, pyropheophorbide-a aracılığıyla belirli alt hücresele bölgelerde gerçekleştirilmekte ve bu fotoreaksiyon, insan akciğer epitel hücrelerinde alarminlerin salınımını tetiklemektedir. Epitel hücreleri, bazal koşullarda IL-1 β salınımı yaparak fibroblastları uyarır. Bu, IL-1 β 'nin sürekli olarak mevcut olan inflamatuvar medyatörlerden biri olduğunu ve temel düzeyde stromal hücre aktivasyonunu sağlayarak doku homeostazında rol oynadığını göstermektedir. PDT sonrası, hücre içindeki IL-1 α , fotoreaksiyon sonucu dışarı salınır ve bu durum fibroblast aktivasyonunu büyük ölçüde artırır. Yani, IL-1 α , PDT ile tetiklenen doku hasarının akut yanıtı olarak işlev görür ve inflamatuvar sürecin yoğunlaşmasında kritik bir rol oynar. Ayrıca, yüksek doz hücre içi fotoreaksiyon IL-1'i inaktive ederek fibroblast uyarımını azaltır; bu da IL-1 α 'nın salınım miktarı ve etkinliğinin, PDT dozuyla ilişkilendirilebileceğini ortaya koymaktadır (Tracy ve ark 2012).

Suwara ve ark. doğuştan gelen bağışıklık sisteminin kronik akciğer hastalıklarının alevlenmelerinde oynadığı kritik rolü ve bu süreçte akciğer

fibroblastlarının potansiyel katkısını araştırdıkları hücre kültürü çalışmasında, IL-1 α 'nın akciğer fibroblastlarında proinflatuar yanıtı tetikleyen temel bir faktör olduğunu ve bu sürecin çift sarmallı RNA varlığında daha da şiddetlendiğini göstermişlerdir. KOAH gibi kronik akciğer hastalıklarında tekrarlayan doku hasarı ve alevlenmelerle ilişkili inflamasyon süreçlerinde IL-1 α 'nın kritik bir rol oynadığını ve bu mekanizmanın hastalığın ilerlemesine katkı sağlayabileceğini bildirmişlerdir (Suwara ve ark 2014).

Di Stefano ve ark. yaptığı çalışmaya, 23 adet KOAH hastası (KOAH-B), 22 adet amfizemli KOAH hastası (KOAH-E), 9 kontrol sigara içen birey (CS) ve 18 kontrol sigara içmeyen (CNS) birey dahil etmişlerdir. Plazma/serum örneklerinde, interlökin (IL)-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, tümör nekroz faktörü (TNF)- α , interferon (IFN)- γ , epidermal büyüme faktörü (EGF), monosit kemotaktik protein (MCP)-1 ve vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) seviyeleri, ELISA yöntemiyle ölçülmüştür. EGF ve IL-8 seviyeleri, hem KOAH-B hem de KOAH-E gruplarında CNS'ye göre yükselmiştir. IL-6 seviyeleri, KOAH-B, KOAH-E ve CS olmak üzere tüm sigara içen gruplarda, CNS grubuna göre artış göstermiştir. IFN- γ ve IL-1 α seviyeleri, CS grubunda, CNS grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca, IL-1 α seviyesi CS grubunda, hem KOAH-B hem de KOAH-E gruplarına kıyasla daha yüksek bulunmuştur (Di Stefano ve ark 2018).

Botelho ve ark. yaptığı çalışmanın amacı, KOAH hastalarında IL-1 α ve IL-1 β ekspresyonunu değerlendirmek ve bu sitokinlerin sigara dumanına bağlı inflamasyonu sürdürmedeki rollerini araştırmaktır. Elde edilen sonuçlara göre, KOAH'ta IL-1 α ekspresyonunun öneminin yeterince vurgulanmadığını ortaya koymuşlardır. Hastalarda stabil dönem ve alevlenme zamanlarında IL-1 α ile IL-1 β seviyeleri arasında güçlü bir korelasyon bulunmasına rağmen, fare modelinde sigara dumanına maruz kalınması sonucunda gelişen nötrofilik inflamasyon IL-1 α 'ya bağımlı olup, IL-1 β ve kaspaz-1'e bağımlı değildi. Ayrıca hem KOAH hastalarında hem de sigara dumanına maruz bırakılan farelerde IL-1 α , ağırlıklı olarak hematopoietik hücreler tarafından üretilmiştir. Kemik iliği kimerik farelerde yapılan çalışmalar, IL-1 α pozitif hematopoietik hücreler ile IL-1R1 pozitif epitel hücreleri arasındaki iletişimin, sigara dumanına bağlı inflamasyonu düzenlediğini göstermiştir. Buna ek olarak, IL-1 α /IL-1R1 bağımlı hava yolu epitel aktivasyonu, H1N1 influenza virüsü ile enfekte, sigara

dumanına maruz kalmış farelerde inflamatuvar yanıtları şiddetlendirerek KOAH alevlenmelerini da artırmıştır (Botelho ve ark 2011).

Botelho ve ark. (2011) sigara dumanına bağlı gelişen inflamasyonun IL-1 α aracılı olduğunu ve IL-1 β ve kaspaz-1'e bağımlı olmadığını göstermiştir. KOAH alevlenmeleri sırasında hematopoietik hücreler tarafından salınan IL-1 α 'ın, epitel hücreleri ile etkileşime girerek inflamasyonu arttırdığı belirtilmiştir. Buna ek olarak, Di Stefano ve ark. (2018) KOAH hastalarında IL-1 α ve IL-1 β seviyelerinin stabil dönem ve alevlenme döneminde korelasyon gösterdiğini bildirmiştir. Ancak, IL-1 α 'nın KOAH patogenezindeki rolü daha belirgin olup, epitel-fibroblast etkileşimleri üzerinden inflamasyonu kronikleştirebilir.

Bizim çalışmamızda sham grubunda IL-1 α düzeylerinin en yüksek bulunması, KOAH modelinde bu sitokinin rol oynadığını doğrulamaktadır. YK ve BAL'da anlamlı düşüşler elde edilmesi, Yayla kekigi ve balın IL-1 α ' ın yukarı regülasyonunu baskılayarak KOAH'taki inflamasyonu azalttığını göstermektedir. IL-1 β seviyeleri çalışma kapsamında doğrudan ölçülmemiş olmakla birlikte, IL-1 α seviyelerindeki düşüş, inflamatuvar sürecin genel olarak baskılandığını düşündürmektedir.

Fu ve ark. yaptığı çalışmada, akut solunum sıkıntısı sendromunun (ARDS) patogenezinde IL-33'ün rolünü ortaya koymayı amaçlamıştır. LPS kaynaklı akciğer iltihabı ve hasarı oluşturulan fare modelinde, serum, bronkoalveolar lavaj sıvısı (BALF) ve akciğer dokularında IL-33 düzeyleri, kontrol grubuna kıyasla LPS uygulamasından 24 saat sonra anlamlı derecede artmıştır. Bu bulgu, IL-33'ün ARDS'nin gelişiminde proinflamatuvar bir medyatör olarak devreye girdiğini göstermektedir. IL-33 ile HMGB1 arasındaki ilişkiyi daha derinlemesine incelemek amacıyla, fareler LPS uygulamasından önce glisirizin (HMGB1'in inhibitörü) ile tedavi edilmiştir. Bu ön tedavi, hem IL-33 hem de HMGB1 ekspresyonlarının belirgin şekilde düşmesine ve akciğer hasarının düzelmesine yol açmış; aynı zamanda serum ve BALF'deki diğer Th1 sitokin ve kemokin düzeylerinde de önemli azalma gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, elde edilen veriler IL-33'ün ARDS'de muhtemelen önemli bir faktör olduğunu ve HMGB1 salınımının, IL-33 ekspresyonunun yukarı regülasyonu ile ilişkili olabileceğini göstermektedir (Fu ve ark 2016).

Byers ve ark. yaptığı çalışmada, kronik obstrüktif akciğer hastalığında VEGF eksikliği ile IL-33 yükselmesinin birbiriyle nasıl ilişkisi olduğunu ortaya koymayı amaçlamıştır. VEGF, akciğer dokusunun onarımı ve alveolar yapının korunması için kritik bir role sahiptir; KOAH hastalarında VEGF düzeylerindeki düşüklük, alveolar yıkım, doku hasarı ve inflamasyonun artmasına katkıda bulunur. Öte yandan, IL-33, hasarlı epitel hücreleri tarafından salınan bir alarmin olarak işlev görür ve inflamatuvar yanıtın, özellikle tip 2 inflamasyonun, tetiklenmesinde etkili olur. Bu çalışma, VEGF eksikliğinin yarattığı dokusal stresin ve hasarın, hava yolu epitel hücrelerinde IL-33 salınımının artmasına neden olabileceğini öne sürmektedir. Artan IL-33 salınımı, inflamatuvar hücrelerin aktive edilmesini sağlayarak inflamasyonun devam etmesine ve dolayısıyla KOAH patogenezinin ilerlemesine katkıda bulunur (Byers 2019).

Lee ve ark. yaptığı çalışmada, VEGF üretimi kısıtlanmış fare modelinde sigara dumanı maruziyetinin, IL-33 sitokin yanıtını nasıl güçlendirdiğini ve bu artmış IL-33 yanıtının KOAH'ın şiddetli inflamatuvar ilerlemesine nasıl katkıda bulunduğunu ortaya koymayı amaçlamışlardır. Elde ettikleri sonuca göre, KOAH modelinde, sigara dumanı maruziyeti IL-33 yanıtını belirgin şekilde artırmış ve VEGF-knockout farelerde IL-33 ekspresyonu yapan makrofaj ve nötrofillerin akciğerlere yoğun infiltrasyonu gözlemlenmiştir. Normal koşullarda, IL-33, post-translasyonel disülfid bağı oluşumu sayesinde hızla etkisiz hale gelir. Ancak, sigara dumanına maruz kalmış ve VEGF eksikliği olan gruptan elde edilen bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvısında, IL-33'ün aktif, proinflamatuvar formunun etkili olma süresini önemli ölçüde uzadığı görülmüştür (Lee ve ark 2019).

Huang ve ark. yaptığı çalışmanın amacı, sigara dumanına maruz kalmanın neden olduğu hava yolu yeniden şekillenmesinde IL-33/ST2 ekseninin rolünü araştırmaktır. Sigara dumanı maruziyeti sonucunda fibroblastlarda IL-33 translokasyonu artmış, bu da IL-33'nin hücreden salınımını ve sonrasında IL-33/ST2 sinyallemesinin aktive olmasını sağlamıştır. IL-33 salınımı, fibroblastlarda proliferasyon ve artmış protein sentezine yol açarak doku yeniden şekillenmesinin ayırt edici özelliklerini ortaya çıkarmıştır. Bu etki, IL-33/ST2 sinyallemesinin bloke edilmesiyle engellenebilmektedir (Huang ve ark 2021).

IL-33, epitel hücreleri tarafından salınan ve inflamatuvar yanıtı tetikleyen bir alarmin olarak bilinmektedir. Huang ve ark. (2021) IL-33'ün sigara dumanı maruziyeti sonucu fibroblast proliferasyonunu artırarak KOAH'taki hava yolu yeniden şekillenmesine katkı sağladığını göstermiştir. Lee ve ark. (2019) yaptıkları çalışmada VEGF eksikliğinin IL-33 salınımını arttırdığını ve KOAH patogenezinde katkıda bulunduğunu ortaya koymuştur.

Bizim çalışmamızda IL-33 düzeyleri sham grubunda en yüksek iken, YK ve BAL'da belirgin bir azalma gösterdi. Bu bulgu, bal ve kekik türleri ile tedavinin IL-33 ekspresyonunu baskılayarak inflamatuvar yanıtı azaltabileceğini göstermektedir.

Morichika ve ark. yaptığı çalışmada, farelerde domuz pankreas elastazı ve sigara dumanı ekstresi kullanılarak amfizem gelişiminde IL-33'ün rolünü değerlendirmişlerdir. İntratrakeal PPE uygulaması, akciğerlerde amfizem benzeri değişikliklere neden olurken IL-33 düzeylerini de artırmıştır. Elde edilen bulgular, IL-33 eksikliğinin amfizem gelişimini teşvik ettiğini ve bunun KOAH hastaları için potansiyel olarak zararlı olabileceğini göstermektedir. Bu sonuçlar, IL-33'ün akciğer dokusunda koruyucu bir rol oynadığı varsayımını sorgularken, aynı zamanda IL-33 hedefli tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde dikkate alınması gereken önemli bir faktör olduğunu ortaya koymaktadır (Morichika ve ark 2021).

Yaptığımız çalışmada, PPE kullanılarak oluşturulan KOAH modelinde kekik türleri ile balın inflamatuvar yanıt üzerindeki etkilerini araştırdık. Çalışma sonucunda, IL-1 α ve IL-33 düzeylerinde uygulama gruplarında sham grubuna kıyasla anlamlı düşüşler elde edildi. YK'de IL-1 α ve IL-33 seviyelerinin en düşük düzeyde bulunması, bu tedavi grubunun inflamatuvar yanıtı baskılama konusunda en etkili olduğunu göstermektedir.

KOAH patofizyolojisinde IL-1 ailesinin önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. IL-1 ailesi içinde IL-1 α ve IL-1 β , benzer biyolojik işlevlere sahip olmalarına rağmen farklı üretim mekanizmalarına ve salınım dinamiklerine sahiptir. IL-1 β , inflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde önemli bir rol oynayan kaspaz-1 bağımlı bir sitokin olup, genellikle inflamatuvar hücrelerden salınır. Buna karşın IL-1 α , esas olarak epitel hücrelerinde üretilir ve alarmin işlevi görerek doku hasarı durumlarında inflamasyonu hızla başlatır.

Origanum onites L. (Dağ kekiği) ve *Origanum minutiflorum* (Yayla kekiği) içeriğindeki özellikle yüksek seviyelerde bulunan karvakrol, timokinon, timol ve rozmarinik asit, inflamatuvar süreçleri düzenleyerek IL-1 α , IL-33 ve HMGB1 seviyelerinin azalmasına katkıda bulunmuş olabilir. Bu bileşenler öncelikle NF- κ B ve AP-1 sinyal yollarını baskılayarak inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu düşürebilir. NF- κ B'nin aktivasyonunun engellenmesi, IL-1 α , IL-33 ve HMGB1 üretimini azaltırken, inflamasyonun yayılmasını da sınırlandırır. Ayrıca, Nrf2'nin aktivasyonunu artırarak oksidatif stresin ve inflamatuvar sitokin üretiminin baskılanmasını sağlayabilirler. Bunun yanı sıra, TLR4/MYD88/NF- κ B sinyal yolunun inhibe edilmesi, HMGB1'in hücre dışına salınımını engelleyerek inflamatuvar yanıtın şiddetini düşürebilir. IL-33/ST2 sinyal yolunun baskılanması da IL-33 aracılı inflamatuvar süreçleri hafifleterek bağışıklık tepkisini yatıştırabilir. Son olarak, apoptozu artırarak hasarlı hücrelerin temizlenmesini hızlandıran bu bileşenler, inflamatuvar sitokinlerin salınımını azaltarak doku yenilenmesini destekleyebilir. Genel olarak, bu bileşenlerin IL-1 α , IL-33 ve HMGB1 seviyelerinin düşmesinde en etkili mekanizmalarından biri NF- κ B ve TLR4 sinyal yollarının inhibisyonu olurken, Nrf2 aktivasyonu ve apoptozun teşviki de inflamasyonun kontrol altına alınmasına katkı sağlamaktadır.

Bu çalışma, PPE ile KOAH modeli oluşturulmuş ratlarda bal ve kekik türlerinin anti-inflamatuvar etkilerini değerlendiren ilk çalışmalar arasında yer almaktadır. Bulgular, hem IL-1 α hem de IL-33 düzeylerinde anlamlı düşüşler göstererek, KOAH tedavisinde alternatif fitoterapötik yaklaşımların değerlendirilmesi gerekliliğini desteklemektedir.

4.4.MMP-9 ve TIMP-1 Düzeyleri

Matris metalloproteinazlar (MMP'ler), KOAH sıçan modellerinde hücre dışı matrisin (ECM) yeniden şekillenmesinde kritik bir rol oynar. Kronik sigara dumanı maruziyeti veya diğer iritanlara bağlı olarak, MMP'ler ile bunların doğal inhibitörleri (TIMPler) arasındaki dengenin bozulması, elastin ve kolajen gibi ECM bileşenlerinin aşırı yıkımına neden olur. Bu enzimatik dengesizlik, alveolar duvar yıkımı (amfizem) ve hava yolu yeniden şekillenmesi gibi KOAH'a özgü yapısal değişikliklere doğrudan katkıda bulunur.

Özellikle, MMP-9 ve MMP-12 seviyelerinin KOAH sıçan modellerinin akciğer dokularında arttığı bildirilmiştir. Artan MMP aktivitesi, nötrofilik inflamasyon ve ilerleyici alveolar yapı bozulmasıyla ilişkilidir. Bunun yanı sıra, MMP'ler yalnızca ECM yıkımını tetiklemekle kalmaz, aynı zamanda çeşitli sitokin ve kemokinlerin işlenmesi yoluyla inflamatuvar ortamı da modüle eder, böylece akciğer hasarını daha da şiddetlendirir ve iyileşme süreçlerini engelleyebilir.

Bu bulgular, KOAH patogeneğinde MMP'lerin kritik rolünü vurgulamakta ve MMP aktivitesinin hedef alınmasının potansiyel terapötik faydalarını ortaya koymaktadır. MMP/TIMP dengesinin yeniden sağlanması, ECM yıkımını azaltabilir, hastalığın ilerlemesini yavaşlatabilir ve KOAH'ta genel akciğer fonksiyonunun iyileştirilmesine katkıda bulunabilir.

Li ve ark. yaptığı çalışmanın amacı, KOAH sıçan modellerinde hava yolu hücre dışı matris (ECM) yeniden şekillenmesinde matriks metalloproteinazların (MMP-9, MMP-2) ve bunların doğal inhibitörü TIMP-1'in rolünü incelemektir. KOAH sıçan modeli, her iki haftada bir 200 µg lipopolisakkarit intratrakeal infüzyonu (toplam iki kez) ve 4 hafta boyunca günde 0,5 saat %5 sigara dumanı maruziyeti uygulanarak oluşturulmuştur. Modeldeki patolojik değişiklikler gözlemlenmiş, akciğer fonksiyonu ve kan gazı analizleri yapılmıştır. Bronş duvarlarındaki fibroblastlar, lenfositler ve alveolar makrofajlar sayılmış; bronş akciğer doku homojenatlarının hidrokisprolin düzeyleri biyokimyasal yöntemle belirlenmiştir. Ayrıca, bronş ve akciğer dokularında MMP-9, MMP-2 ve TIMP-1'in ekspresyonu immünohistokimya ve ters transkripsiyon-polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) analizleri ile doğrulanmıştır. KOAH model grubunda, bronş ve akciğer dokusunda KOAH hastalarında görülen patolojik değişiklikler, akciğer fonksiyonundaki bozulmalar ve kan gazı analizlerinde anlamlı farklılıklar gözlemlenmiştir. İmmünohistokimyasal analizlerde, model grubunda bronş epitel hücreleri, fibroblastlar, makrofajlar, endotelial hücreler ve pneumositlerde MMP-9, MMP-2 ve TIMP-1 immünoaktivitesi kontrol grubuna göre artmıştır. Elde edilen veriler, KOAH model grubunda akciğer dokusunda MMP-9, MMP-2 ve TIMP-1 ekspresyonlarının yukarı regüle olduğunu göstermektedir. Bu durum, hava yolu yeniden şekillenmesi ve alveolar yapının yıkımı (amfizem) yoluyla akciğer fonksiyonundaki kısıtlılığa katkıda bulunabilir. ECM yıkımı ile depozisyonu arasındaki denge bozulmuş ve anormal şekilde aktive olmuştur. Bu nedenle,

inflamasyon ve doku yıkım sürecinde rol oynayan MMP-9 ve MMP-2'nin yanı sıra, onarım ve yeniden şekillenme süreçlerinde önemli olan TIMP-1'in değerlendirilmesi, KOAH'ta hava yolu ECM yeniden şekillenmesinin anlaşılmasında ve potansiyel terapötik hedeflerin belirlenmesinde kritik bir rol oynayabilir (Li ve ark 2002).

Jiang ve ark. yaptığı çalışmada, kronik obstrüktif akciğer hastalığının patogeneğinde CD146'nın rolünü incelemiştir. Araştırmacılar, LPS ve PPE kullanılarak KOAH benzeri bir fare modeli oluşturmuşlardır. Bu modelde, LPS ve PPE uygulaması sonucunda akciğer dokusunda CD146 ekspresyonunun azaldığı gözlemlenmiştir. Ayrıca, CD146 eksik farelerde makrofajlarda matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9) ekspresyonu ve biyolojik aktivitesinin arttığı tespit edilmiştir. İn vitro deneylerde, LPS makrofajlarda CD146 ekspresyonunu düşürmüştü; CD146-defektif makrofajlar ise LPS varlığına bağlı veya bağımsız olarak daha fazla MMP-9 üretmiştir. Next-generation sequencing (NGS) tabanlı transkriptom analizinde, CD146-defektif makrofajlarda MMP-9 üretiminin S100A9 tarafından düzenlendiği belirlenmiştir. S100A9'un hedeflenmesi, KOAH benzeri farelerde akciğer inflamasyonunu azaltmış ve alveolar yıkımı hafifletmiştir. Sonuç olarak, bu çalışma, CD146'nın makrofajlarda S100A9 yoluyla MMP-9 üretimini negatif yönde düzenlediğini ve böylece KOAH patogeneğine katkıda bulunduğunu ortaya koymaktadır (Jiang ve ark 2024).

Gülhan ve ark. yaptığı çalışma, amfizem ve kronik bronşitin farklı patofizyolojilere sahip olmasına rağmen, her ikisinin de KOAH'ın önemli bileşenleri olduğunu dikkate alarak, bronkoalveolar lavaj sıvısı (BALF) ve serumdaki MMP-9 düzeylerinin amfizem varlığını gösterdiğini belirlemiştir. Ayrıca, adipoz dokudan elde edilen mezenkimal kök hücrelerin (MSC) amfizemi önleyip tersine çevirebileceği öne sürülmüştür. PPE uygulaması, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek amfizem oluşumuna yol açmış ($p=0.008$). Ancak, MSC tedavisi uygulanan grupta amfizem indeksi, PPE uygulanan gruptaki hayvanlardan farklı bulunmamış; yani MSC tedavisi, mevcut amfizem oluşumunu tersine çevirememiştir (Gülhan ve ark 2020).

Vernooy ve ark. yaptığı çalışmada, KOAH hastalarının ve sigara kullanan sağlıklı bireylerin balgam örneklerinde, MMP kolagenaz (MMP-1, MMP-8, MMP-13) ve MMP jelatinaz (MMP-2, MMP-9) aktivitelerini spesifik immünokapürasyon

testleri kullanarak ölçmüşlerdir. KOAH hastalarında, toplam ve aktif MMP-8 ile MMP-9 seviyeleri, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede artmıştır. MMP-8 ve MMP-9 aktiviteleri, her iki grupta da nötrofil ile güçlü bir şekilde ilişkili bulunmuştur. Ayrıca, balgamdaki MMP-8 ve MMP-9 aktiviteleri ile hava yolu tıkanıklığının derecesi arasında pozitif bir korelasyon tespit edilmiştir. Bu çalışma, hafif ila orta şiddette KOAH hastalarının hava yolu bölümünde MMP-8 ve MMP-9 aktivitelerinin artmış olduğunu göstermektedir. Elde edilen bulgular, KOAH hastalarında proteinaz-anti-proteinaz dengesinin bozulduğunu ve bu bozulmanın, artmış MMP-8 ve MMP-9 aktiviteleriyle ilişkilendirilebileceğini ortaya koymaktadır (Vernooy ve ark 2004).

Sigara dumanına (CSE) maruziyet, kronik obstrüktif akciğer hastalığı patogeneğinde önemli rol oynayan matriks metalloproteinazlar (MMP'ler) ve bunların doğal inhibitörleri (TIMP'ler) arasında dengesizliğe yol açabilir. Sun ve ark. yaptığı çalışmada, sıçan akciğer dokularında MMP-8, MMP-9, MMP-12, TIMP-1 ve TIMP-4 ekspresyonunun CSE'ye yanıt olarak nasıl değiştiğini araştırmış ve simvastatin'in bu MMP ve TIMP düzeylerini düzenlemedeki etkisini değerlendirmiştir. Hayvanlar, 16 hafta boyunca, haftada 5 gün, günde iki kez, her seferinde 1 saat olmak üzere sigara dumanına maruz bırakılmıştır. İnflamatuar hücre sayımını değerlendirmek amacıyla bronkoalveolar lavaj sıvısı (BALF) toplanmış, akciğer dokuları morfolojik inceleme için boyanmıştır. MMP-8, MMP-9, MMP-12, TIMP-1 ve TIMP-4'ün mRNA ekspresyonu, gerçek zamanlı ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ile; protein düzeyleri ise immünohistokimya yöntemi ile belirlenmiştir. Sigara dumanına yanıt olarak, MMP-8, MMP-9 ve MMP-12 mRNA düzeyleri yedi kat fazla artarken, TIMP-1 ve TIMP-4 mRNA düzeyleri iki ila beş kat artmıştır. Simvastatin, MMP-8 ve MMP-9'un yukarı regülasyonunu önemli ölçüde engellemiş ($p < 0.01$) ancak MMP-12, TIMP-1 ve TIMP-4 mRNA düzeyleri üzerinde etkili olmamıştır ($p > 0.05$). Ek olarak, simvastatin, CSE kaynaklı MMP-8 ve MMP-9 protein sentezini de önemli ölçüde bloke etmiş, ancak sigara dumanı varlığında bile TIMP-1 ve TIMP-4 protein sentezinde anlamlı bir değişiklik sağlamamıştır. Sigara dumanı maruziyeti, MMP'ler ile TIMP'ler arasında dengesizliğe yol açarak, akciğer dokusunun yetersiz onarımına neden olabilecek mekanizmaları tetiklemiştir. Simvastatin, hava yolu inflamasyonunu ve MMP üretimini kısmen engelleyerek, statinlerin akciğerin

ekstraselüler matris bileşimini düzenlemede potansiyel rol oynayabileceğini göstermiştir (Sun ve ark 2017).

Wang ve ark. yaptığı çalışmada, KOAH'lı akciğer yetersizliği olan sıçan modelinde, Geleneksel Çin Tıbbı'nın bir uygulaması olan Liuweibuqi Kapsülü'nün, Janus kinaz (JAK)/sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü (STAT) yolunu ve matris metalloproteinaz (MMP) ifadelerini nasıl düzenlediğini, dolayısıyla KOAH semptomlarını iyileştirip iyileştiremeyeceğini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Serumdaki sitokin düzeyleri ELISA, JAK/STAT yolu ve MMP-9 ile TIMP1 ifadeleri ise immünohistokimya, RT-PCR ve western blot yöntemleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Sham grubunda, normal grupla karşılaştırıldığında, akciğer dokusunda hasar gözlemlenmiş ve akciğer fonksiyonu azalmıştır. Ayrıca, sham grubunda IL-1 β , IFN- γ ve IL-6 seviyeleri normal gruba göre artarken, IL-4 ve IL-10 düzeyleri düşmüştür. Akciğer dokusunda JAK1, STAT3, p-STAT3 ve MMP-9 mRNA ile protein ifadeleri yükselmiş; buna karşılık TIMP1 mRNA ve protein düzeyleri normal gruba göre azalmıştır. Tedavi uygulandıktan sonra, tüm tedavi gruplarında inflamatuvar sitokin düzeylerinde ve JAK/STAT yoluna bağlı MMP ifadelerinde azalma görülmüştür (Wang ve ark 2015).

Zhang ve ark. yaptığı çalışmanın amacı, sıçanlarda oluşturulan KOAH modelinde simvastatinin, MMP-9, MMP-12 ve TIMP-1 salınımı üzerindeki etkisini ve böylece KOAH tedavisindeki potansiyel rolünü araştırmaktır. Sigara dumanına maruz kalan hayvanlarda, kontrol grubuna kıyasla hem BALF hem de serumda MMP-9, MMP-12 ve TIMP-1 protein düzeylerinde anlamlı artış gözlemlenmiştir ($p < 0,01$). Simvastatin uygulanan CSE grubunda ise hem BALF hem de serumdaki MMP-9, MMP-12 ve TIMP-1 salınımı önemli ölçüde engellenmiştir ($p < 0,05$). Ayrıca, simvastatin, MMP-9'un TIMP-1'e ve MMP-12'nin TIMP-1'e oranını da belirgin şekilde azaltmıştır ($p < 0,01$). Elde edilen veriler, simvastatinin sigara dumanına maruz kalmaya bağlı olarak artan MMP-9 ve MMP-12 salınımını inhibe ederek, düzensiz MMP'leri TIMP-1'e karşı yeniden dengelediğini göstermektedir. Bu mekanizma, simvastatinin sigara dumanının neden olduğu akciğer hasarına yanıt olarak KOAH gelişimini önleyebileceğini düşündürmektedir (Zhang ve ark 2015).

Zhang ve ark. yaptığı çalışmada, KOAH model sıçanlarında hava yolu yeniden şekillenmesinde MMP-9 ve TIMP-1'in rolünü değerlendirmişlerdir. Model grubunda, normal kontrollere kıyasla, hem MMP-9 hem de TIMP-1 protein ifadelerinin anlamlı şekilde arttığı tespit edilmiştir. Bu durum, sigara dumanı maruziyetine bağlı olarak artan MMP-9 üretiminin, hava yolu ekstraselüler matrisinin yıkımına ve dolayısıyla yeniden şekillenmeye katkıda bulunduğunu göstermektedir. Tedavi uygulandıktan sonra (yüksek doz, orta doz ve glukokortikoid tedavi gruplarında), NF-κB aktivitesi ile MMP-9 protein ifadesinde model grubuna göre belirgin azalma gözlemlenmiştir. Glukokortikoid tedavi grubu, MMP-9 düzeylerinin azaltılmasında yüksek doz ve orta doz gruplarına göre daha iyi sonuçlar vermiştir. Ayrıca, yüksek doz ve orta doz tedavi gruplarında TIMP-1 protein ifadesi de model grubuna göre düşmüştür. Bu bulgular, Jiajian Buferi Tang'ın hava yolu yeniden şekillenmesinde MMP-9 ve TIMP-1 ifadelerini düzenleyerek, aşırı ECM yıkımını ve dengesiz ECM deposisyonunu normalize edebileceğini göstermektedir. Dolayısıyla, MMP-9/TIMP-1 eksenindeki düzenleme, KOAH tedavisinde potansiyel terapötik mekanizmalardan biri olarak öne çıkmaktadır (Zhang ve ark 2008).

Zhou ve ark. yaptığı çalışmada, stabil KOAH hastalarının indüklenen balgam örneklerinde PPARγ ekspresyonu ile MMP-9/TIMP-1 dengesizliği arasındaki ilişki incelenmiştir. Bulgular, KOAH hastalarında sağlıklı kontrollere göre PPARγ ve TIMP-1 düzeylerinin azaldığını, MMP-9 düzeyleri ve MMP-9/TIMP-1 oranının ise arttığını göstermiştir. Özellikle, daha kötü akciğer fonksiyonuna sahip veya amfizem varlığı bulunan hastalarda TIMP-1 ve PPARγ ekspresyonundaki azalma, artmış MMP-9 ekspresyonuyla ilişkilendirilmiştir. Bu sonuçlar, PPARγ'nin KOAH'ta MMP-9/TIMP-1 dengesinin korunmasında koruyucu bir rol oynadığını ve potansiyel KOAH tedavilerinin geliştirilmesinde önemli bir hedef olabileceğini ortaya koymaktadır (Zhou ve ark 2017).

Yang ve ark. yaptığı çalışmanın amacı, KOAH model sıçanlarının akciğer dokusunda MMP-9 ve TIMP-1 protein ekspresyonu üzerine Gubenkeli kapsüllerinin etkilerini araştırmaktır. Normal kontrol grubu dışındaki tüm sıçanlarda, sigara dumanı maruziyeti ve intratrakeal lipopolisakkarit damlatılması yoluyla KOAH sıçan modeli oluşturulmuştur. Akciğer dokularındaki MMP-9 ve TIMP-1 protein ekspresyonları, immünohistokimya yöntemiyle tespit edilmiştir. KOAH grubunda, akciğer dokusunda

MMP-9 ve TIMP-1 protein ekspresyonu, normal kontrol grubuna göre anlamlı derecede artmıştır ($p<0,05$). İlaç müdahalesinden sonra, tedavi uygulanan grupların genel durumu büyük ölçüde iyileşmiş ve akciğer dokusundaki MMP-9 ile TIMP-1 protein ekspresyonu azalmıştır. Bu bulgular, Gubenkeli kapsülünün KOAH model sıçanlarının klinik semptomlarını hafiflettiğini, hava yolu yeniden şekillenmesini iyileştirdiğini ve doz-cevap ilişkisine göre proteaz (MMP-9) ve anti proteaz (TIMP-1) arasındaki dengesizliği düzelttiğini göstermektedir (Yang ve ark 2011).

Lei ve ark. yaptığı çalışmanın amacı, Liuwei Buqi Kapsülleri (LBC)'nin, akciğer-Qi eksikliği sendromlu KOAH sıçan modelinde akciğer dokusunun patolojik morfolojik değişiklikleri ve hava yolu yeniden şekillenmesinde MMP-9 ile MMP-12 ekspresyonları üzerindeki etkilerini araştırmaktır. Araştırmacılar, KOAH modelini oluşturmak için lipopolisakkaritin iki kez intratrakeal damlatılması ve sigara dumanına maruziyet yöntemlerini kullanmışlardır. Bulgular, normal kontrol grubuna kıyasla KOAH model gruplarında bronşiyal epitel mukus metaplazisinin arttığını, goblet hücre alanının genişlediğini ve kolajen lifleri ile bazal membran çevresi oranının anlamlı şekilde yükseldiğini göstermiştir ($p<0,01$). Ayrıca, MMP-9 ve MMP-12 ekspresyonlarının da model gruplarında belirgin şekilde arttığı tespit edilmiştir ($p<0,01$). Model grubu ile karşılaştırıldığında, LBC uygulanan önleme ve tedavi gruplarında bronşiyal epitel mukus metaplazisinin ve goblet hücre alanının azaldığı, kolajen lif alanı ile bazal membran çevresi oranının düştüğü ve MMP-9 ile MMP-12 protein ekspresyonlarının anlamlı derecede azaldığı gözlemlenmiştir ($p<0,05$). Sonuç olarak, LBC, KOAH sıçan modelinde hava yolu yeniden şekillenmesini baskılayarak, goblet hücre metaplazisini ve kolajen lif hiperplazisini inhibe etmekte ve MMP-9 ile MMP-12 ekspresyonlarını azaltarak olumlu bir terapötik etki göstermektedir (Lu Lei ve ark 2013).

Yu ve ark. yaptığı çalışmada, KOAH'lı hastalarda pulmoner kan damarlarında TOLL benzeri reseptör 4 (TLR-4) ve MMP-9/TIMP-1 ekspresyonlarının araştırılmasını ve pulmoner vasküler yeniden şekillenme (PVR) ile ilişkilerinin değerlendirilmesini amaçlamıştır. Elde edilen sonuçlara göre, KOAH hastalarının pulmoner vasküler düz kas hücrelerinde TLR-4 ve MMP-9/TIMP-1 ekspresyonları artmıştır. Sonuç olarak, KOAH hastalarında TLR-4 ekspresyonunun artışı, inflamasyonu ve MMP-9 aktivitesini artırarak ekstraselüler matriksin anormal

degradasyonuna yol açabilir. Bu durum, pulmoner vasküler yeniden şekillenme sürecinde önemli bir rol oynayarak KOAH patogenezinin katkıda bulunabilir (Yu ve ark 2018).

Li Ya ve ark. yaptığı çalışma, KOAH'lı sıçanlarda akciğer dokularındaki matris metalloproteinazlar (MMP-2, MMP-9) ve TIMP-1 mRNA ekspresyonları üzerinde üç farklı Tiaobu Feishen terapisinin (Bufei Jianpi, Bufei Yishen ve Yiqi Zishen) etkisini ve uzun vadeli sonuçlarını değerlendirmeyi amaçlamıştır. Bulgulara göre, KOAH model grubundaki sıçanların akciğer dokularında belirgin patolojik bozukluklar gözlemlenmiş ve 20. ile 32. haftalarda MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 mRNA seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ancak, üç geleneksel Çin tıbbi (TCM) tedavisi ve aminofilin ile tedavi edilen gruplarda MMP-9 ve TIMP-1 mRNA seviyeleri, Bufei Jianpi ve Bufei Yishen gruplarında ise MMP-2 mRNA seviyeleri model grubuna kıyasla daha düşük bulunmuştur ($p < 0,05$, $p < 0,01$). Sonuç olarak, üç Tiaobu Feishen terapisi, KOAH'lı sıçanlarda akciğer hasarını önemli ölçüde azaltabilir ve uzun vadeli faydalar sağlayabilir. Bu terapilerin etkisinin, MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 seviyelerinin düşürülmesiyle ilişkili olabileceği ve KOAH tedavisinde potansiyel terapötik ajanlar olarak değerlendirilebileceği bildirilmiştir (Li Ya ve ark 2014).

Xu ve ark. yaptığı çalışmada, sigara dumanıyla oluşturulan KOAH sıçan modelinde hava yolu yeniden şekillenmesine karşı *Scutellaria baicalensis* (SB)'nin erken müdahale etkileri araştırılmıştır. Sprague Dawley sıçanlarında KOAH modeli, haftada 6 gün olmak üzere 12, 24 ve 36 hafta boyunca sigara dumanına maruz bırakılarak oluşturulmuştur. BALF'te IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , TGF- β 1, MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri ELISA ile ölçülmüştür. SB'nin oral uygulanması, KOAH sıçanlarında akciğer fonksiyonlarını önemli ölçüde iyileştirmiş, patolojik hasarı azaltmış ve akciğerlerde inflamatuvar sitokin infiltrasyonunu hafifletmiştir. Bunun yanı sıra, TGF- β 1, MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 seviyelerinde anlamlı bir azalma sağlanmıştır. Ayrıca, PI3K/AKT/NF- κ B sinyal yolunun aktivasyonu SB tedavisi ile baskılanmıştır (Xu ve ark 2018).

Zhou ve ark. yaptığı çalışmada, sigara dumanına (CS) maruz bırakılan sıçanlarda eritromisin'in amfizem ve inflamasyon üzerindeki koruyucu etkileri

incelenmiştir. Elde edilen veriler, CS grubunda belirgin amfizematöz lezyonlar ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunun varlığını ortaya koymuştur. Eritromisin uygulamasının, alveoler genişleme seviyelerini önemli ölçüde azalttığı, Bcl-2 ekspresyonunu artırırken Bax ekspresyonunu ve patolojik apoptozu azalttığı tespit edilmiştir ($p < 0.01$). Ayrıca, MMP-9 ve TIMP-1 protein ekspresyon seviyelerinin inhibe edildiği ve MMP-9/TIMP-1 oranının düşürüldüğü belirlenmiştir ($p = 0.0002$). Eritromisin tedavisinin, inflamasyonu baskıladığı ve hava yolu epitel bütünlüğünü kısmen koruduğu ancak amfizematöz değişiklikleri tamamen geri döndüremediği görülmüştür (Zhou ve ark 2012).

Zhang ve ark. yaptığı çalışma, elektroakupunktur (EA) uyarımının KOAH'lı sıçanların akciğer dokusunda MMP-9 ve TIMP-1 ekspresyonu üzerindeki etkisini inceleyerek olası koruyucu mekanizmaları ortaya koymayı amaçlamıştır. KOAH modeli, sigara dumanı maruziyeti ve 30 gün boyunca lipopolisakkarit (200 µg/100 µL) intratrakeal enjeksiyonu ile oluşturulmuştur. MMP-9 ve TIMP-1 protein ekspresyon seviyeleri immünohistokimya ile analiz edilmiştir. Model grubunda MMP-9 ve TIMP-1 ekspresyon seviyeleri kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). Tedavi gruplarında MMP-9 ve TIMP-1 ekspresyonları model grubuna kıyasla önemli ölçüde düşmüştür ($p < 0,05$) (Zhang ve ark 2014).

Yaptığımız çalışmada, PPE ile oluşturulan deneysel KOAH rat modelinde, kekik türleri ve bal ile tedavinin akciğer dokularında MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerine etkileri değerlendirildi. Elde ettiğimiz bulgular, deneysel KOAH (sham) grubunda MMP-9 seviyesinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığını, ancak uygulanan tedaviler sonrasında MMP-9'un istatistiksel olarak anlamlı şekilde düştüğünü gösterdi. Ayrıca TIMP-1 seviyesinin sham grubunda en düşük, BAL'da ise en yüksek düzeye ulaştığı; sham grubuyla BAL haricindeki diğer gruplar (kontrol, DK, YK) arasında anlamlı bir fark gözlenmediği belirlendi.

Literatürde hem sigara dumanı hem de elastaz veya LPS gibi iritanlarla oluşturulan KOAH modellerinde, akciğer dokusunda MMP-9 düzeylerinin arttığı yaygın biçimde bildirilmektedir (Li ve ark. 2002; Jiang ve ark. 2024; Sun ve ark. 2017; Zhang ve ark. 2015, 2008, 2014). Artan MMP-9 aktivitesinin, özellikle nötrofilik inflamasyon, proteolitik yıkım ve alveolar duvar bütünlüğünün bozulmasıyla ilişkili

olduğu belirtilmektedir (Gülhan ve ark. 2020; Vernooy ve ark. 2004). Çalışmamızda da sham grubunda MMP-9'un kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yükseldiği tespit edildi. Bu durum, KOAH patofizyolojisiyle uyumludur ve literatürdeki bulgularla örtüşmektedir.

Uyguladığımız kekik türleri ve bal tedavilerinin (DK, YK, BAL) çoğunda MMP-9 değerlerinin kontrol grubu seviyelerine yaklaştığı ve sham grubuna kıyasla anlamlı biçimde azaldığı görüldü. Bu sonuç, farklı çalışmalarda rapor edilen diğer tedavi yaklaşımlarıyla (örneğin simvastatin, bitkisel ekstreler, geleneksel Çin tıbbi formülleri veya makrolid antibiyotikler) benzer bir koruyucu/önleyici etki olduğunu düşündürmektedir (Wang ve ark. 2015; Zhang ve ark. 2015; Xu ve ark. 2018; Zhou ve ark. 2012). Tedavi gruplarının MMP-9 düzeylerinin kontrol grubuyla istatistiksel olarak benzer olması, bu doğal ürünlerin proteolitik aktivite üzerinde düzenleyici bir rol oynayabileceğini akla getirmektedir.

Çalışmamızın bir diğer önemli bulgusu ise TIMP-1 düzeyindeki değişimlerdir. Literatürde, KOAH modellerinde genellikle TIMP-1 düzeylerinde de artış görüldüğü, ancak bu artışın MMP-9 artışına kıyasla dengesiz kalarak proteolitik/antiproteolitik dengenin bozulmasına yol açtığı bildirilmektedir (Li ve ark. 2002; Zhou ve ark. 2017; Yu ve ark. 2018). Ancak bazı çalışmalarda, özellikle hastalığın daha erken veya spesifik aşamalarında TIMP-1 düzeylerinin artışından çok azalma ya da değişmeme durumu da rapor edilmiştir (Jiang ve ark. 2024; Gülhan ve ark. 2020). Bu farklılıkların, deney hayvanının cinsi, maruziyet süresi, kullanılan iritan tipi (PPE, LPS, sigara dumanı vb.) ve deney süresinin uzunluğu gibi faktörlere bağlı olabileceği düşünölmektedir.

Bizim modelimizde sham grubunda TIMP-1 seviyesinin kontrol ve diğer tedavi gruplarına kıyasla en düşük düzeyde kalması dikkat çekicidir. Kekik türleri ve bal tedavisi alan gruplardan yalnızca BAL'da TIMP-1 değerleri, sham grubuna göre anlamlı biçimde yüksek bulundu. Kontrol grubu ile sham, DK ve YK arasında TIMP-1 bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Bu durum, BAL tedavisinin TIMP-1 ekspresyonu/aktivitesini yükseltme konusunda daha belirgin bir etki göstermiş olabileceğini akla getirmektedir. Yüksek TIMP-1 düzeylerinin, artmış MMP-9 aktivitesini dengelemede rol oynayacağı düşünöldüğünde, özellikle BAL

tedavisinin proteaz-anti-proteaz dengesini korumaya katkıda bulunabileceği söylenebilir.

KOAH'ta artan MMP aktivitesi ve bozulmuş TIMP dengesi, hava yolu ve alveolar duvarların destrüksiyonunda önemli bir rol oynamaktadır. Deneysel modelimizde elde edilen sonuçlar, kekik türleri ve bal uygulamasının, özellikle MMP-9 seviyelerini düşürmede ve/veya TIMP-1 seviyesini normal veya daha yüksek düzeyde tutmada faydalı olabileceğini göstermektedir.

Bu bulgu, literatürdeki bitkisel ve doğal ürünlere dayalı tedavi çalışmalarını desteklemektedir (Lei ve ark. 2013; Li Ya ve ark. 2014). Örneğin simvastatin (Sun ve ark. 2017; Zhang ve ark. 2015) ve bazı geleneksel Çin tıbbi formüllerinin (Zhang ve ark. 2008; Yang ve ark. 2011) benzer şekilde MMP-9 ve TIMP-1 ekspresyonunu düzenlediği, KOAH'ın ilerleyişini kısmen yavaşlattığı veya proteolitik hasarı hafiflettiği rapor edilmiştir. Bu açıdan bakıldığında, çalışmamız kekik türleri ve bal gibi daha yaygın olarak temin edilebilecek doğal kaynakların, KOAH tedavisinde destekleyici veya tamamlayıcı bir seçenek olabileceğini düşündürmektedir.

Origanum onites L. (Dağ kekiği) ve *Origanum minutiflorumun* (Yayla kekiği) içerdiği özellikle karvakrol, timokinon, timol ve rozmarinik asidin MMP-9 ve TIMP-1 seviyeleri üzerindeki etkileri inflamasyonun düzenlenmesi, doku yeniden şekillenmesi ve ekstrasellüler matriks dengesi üzerinden değerlendirilebilir. Bu biyoaktif bileşenler öncelikle NF- κ B ve AP-1 sinyal yollarının inhibisyonu yoluyla MMP-9 ekspresyonunu baskılayabilir. MMP-9, NF- κ B tarafından indüklenen bir enzim olup, inflamatuvar sitokinlerin artışı ile eksprese edilir. Karvakrol, timokinon, timol ve rozmarinik asit, NF- κ B'nin aktivasyonunu önleyerek MMP-9 üretimini düşürebilir. Bunun yanı sıra, TIMP-1 seviyelerinin artmasını sağlayarak MMP-9 aktivitesinin dengelenmesine katkıda bulunabilirler. TIMP-1'in yükselmesi, ECM yıkımını sınırlandırarak doku hasarının önlenmesine ve iyileşme sürecinin hızlanmasına yardımcı olabilir. Ek olarak, Nrf2/ARE sinyal yolunun aktivasyonu, antioksidan savunma mekanizmalarını artırarak MMP-9 seviyelerinin düşmesine katkı sağlayabilir. Karvakrol, timokinon ve rozmarinik asidin Nrf2'yi stabilize ederek oksidatif stresi azaltması, MMP-9'un inflamatuvar yanıt ile artmasını engelleyebilir. TLR4/MYD88/NF- κ B ekseninin baskılanması da MMP-9'un ekspresyonunu azaltan

önemli bir mekanizmadır, çünkü TLR4 aracılığıyla aktive olan inflamatuvar sinyaller MMP-9'un sentezini tetikleyebilir. Bu sinyal yolunun inhibe edilmesiyle birlikte MMP-9 seviyeleri düşerken, TIMP-1'in korunması sağlanabilir. Ayrıca, TGF- β yolunun aktivasyonu TIMP-1 seviyelerini artırabilir. TGF- β , doku onarım süreçlerini düzenleyen önemli bir büyüme faktörüdür ve TIMP-1'in ekspresyonunu artırarak MMP-9 aktivitesini baskılar. Karvakrol ve timokinonun TGF- β seviyelerini yükseltebileceği gösterilmiştir, bu da ECM stabilitesinin sağlanmasına ve inflamatuvar yanıtın düzenlenmesine katkıda bulunabilir. Son olarak, apoptozun artırılması ve inflamatuvar hücrelerin eliminasyonu, MMP-9 seviyelerinin düşmesini sağlayarak inflamasyonun kontrol altına alınmasını kolaylaştırabilir.

Sonuç olarak, *Origanum onites L.* ve *Origanum minutiflorumun* içeriğindeki biyoaktif bileşenler, NF- κ B ve TLR4 yollarının inhibisyonu, Nrf2 aktivasyonu ve TGF- β sinyalinin desteklenmesi aracılığıyla MMP-9'un azalmasını ve TIMP-1'in korunmasını sağlayarak doku homeostazını ve iyileşme süreçlerini destekleyebilir. Bu mekanizmalar, özellikle inflamasyon ve doku hasarı süreçlerinde MMP-9 ve TIMP-1 arasındaki dengeyi düzenleyerek, bağ dokusunun yeniden yapılanmasını ve doku bütünlüğünün korunmasını sağlamada önemli rol oynayabilir.

4.5.Histopatolojik Değerlendirme

Alshailabi ve ark. yaptığı çalışmada, pasif sigara dumanına maruz kalan sıçanların akciğer dokularında ortaya çıkan akut hasarın, arı balı uygulaması ile azaltılıp azaltılamayacağını araştırmıştır. Deneyde, sıçanlar kontrol grubu, pasif sigara dumanına maruz kalan grup ve pasif sigara dumanına maruz kaldıktan sonra arı balı tedavisi uygulanan grup olarak ayrılmıştır. Akciğer dokusu, histopatolojik inceleme ve inflamasyon parametreleri değerlendirilerek incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, sigara dumanına maruziyetten sonra alveolar duvarlarda incelme ve alveolar boşlukların genişlemesi, amfizem benzeri değişiklikler gözlemlenmiştir. Bronşiyal epitelde hücresel hasar ve dejenerasyon gözlemlenmiş, bu da hava yolu bütünlüğünün bozulduğunu göstermektedir. Akciğer interstisyumunda artmış inflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlemlenmiş. Özellikle nötrofiller ve makrofajların sayısında artış, doku hasarının ve inflamatuvar yanıtın belirgin olduğunu göstermiştir. Arı balı tedavisi uygulanan grupta, bu patolojik değişikliklerin şiddeti belirgin ölçüde azalmış,

dolayısıyla balın akut sigara dumanı kaynaklı akciğer dokusu hasarını hafifletici etkisi desteklenmiştir (Alshailabi ve ark 2024).

Bizim çalışmamızda da benzer şekilde, sham grubuna kıyasla uygulama gruplarında daha düşük inflamasyon skorları elde edilmesi hem kekik bileşenlerinin hem de balın inflamasyonun baskılanmasında rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Sohrabi ve ark. yaptığı çalışmada, elastaz indüklemeli amfizem modelinde gallik asidin inflamatuvar süreç ve sinyal yolları üzerindeki koruyucu etkisi araştırılmıştır. Toplam 48 sıçan, kontrol, gallik asit (7,5, 15 ve 30 mg/kg), domuz pankreas elastazı (PPE) ve PPE+gallik asit 30 mg/kg gruplarına ayrılmıştır. Kontrol grubunda akciğer dokusu normal histopatolojik özellikleri korurken, sham (PPE) grubunda elastaz uygulamasıyla oluşturulan amfizem modeli nedeniyle belirgin hasar gözlemlenmiştir. Sham grubunda, artan hava boşlukları, incelmış alveolar duvarlar ve yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu ile ortalama doğrusal kesişim (MLI) değeri anlamlı şekilde yükselmiştir. Buna karşın, gallik asit tedavi grubunda (PPE + galik asit) akciğer dokusundaki hasarın şiddeti belirgin derecede azalmış; MLI değeri düşerek alveolar yapının kısmen iyileştiğini göstermiştir. Bu bulgular, gallik asidin elastaz kaynaklı amfizemde akciğer dokusundaki histopatolojik bozulmaları hafiflettiğini ortaya koymaktadır (Sohrabi ve ark 2021).

Zhang ve ark. kronik obstrüktif akciğer hastalığı modeli oluşturulmuş sıçanlarda elektroakupunktur müdahalesinin etkilerini araştırmıştır. Elde edilen sonuçlar, histopatolojik açıdan değerlendirildiğinde, KOAH model sıçanlarında akciğer dokusunda belirgin yapısal bozulmalar gözlemlenmiştir. Bu bozulmalar arasında alveolar duvarlarda incelme, hava boşluklarının genişlemesi ve artmış inflamatuvar hücre infiltrasyonu yer almaktadır. Ayrıca, doku yeniden şekillenmesi ve ECM yıkımına bağlı olarak bronşiyol duvar kalınlığında artış ve fibrotik değişiklikler de saptanmıştır. Elektroakupunktur müdahalesi uygulanan grupta ise, histopatolojik incelemeler sonucunda bu yapısal bozulmaların hafiflediği, alveolar duvar bütünlüğünün kısmen korunduğu ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunun azaldığı gözlemlenmiştir. Bu bulgular, elektroakupunkturun KOAH modelinde doku onarım süreçlerini destekleyerek ve hava yolu yeniden şekillenmesini kontrol altına alarak histopatolojik iyileşmeye katkıda bulunduğunu göstermektedir (Zhang ve ark 2014).

Zhang ve ark. yaptığı çalışmada, KOAH sıçan modelinde kurkuminin alveoler epitel hasarını nasıl etkilediğini ve potansiyel mekanizmasını araştırmıştır. KOAH modeli sigara dumanına maruziyet ve lipopolisakkaritin intratrakeal uygulaması ile oluşturulmuş. Elde edilen sonuçlara göre, KOAH model sıçanlarında alveolar epitelde belirgin hasar, artmış alveolar boşluk genişlemesi (amfizem) ve alveolar duvar incelmesi gözlemlenmiştir. Kurkumin tedavisi uygulanan grupta ise, bu hasar bulgularında belirgin iyileşmeler gözlemlenmiştir; alveolar boşluk genişlemesi ve duvar incelmesi azalmış, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve apoptoz indeksi anlamlı derecede düşmüştür. Bu sonuçlar, kurkuminin KOAH modelinde hava yolu ve alveolar epitel onarımını destekleyerek doku hasarını hafiflettiğini göstermektedir (Zhang ve ark 2016).

Wang ve ark. yaptığı çalışmada, resveratrolün KOAH model sıçanlarında inflamasyon ve oksidatif stres üzerindeki etkilerini değerlendirmeyi amaçlamıştır. Bu çalışmada, KOAH model sıçanlarında gerçekleştirilen histopatolojik incelemeler sonucunda, kontrol grubuna kıyasla sigara dumanı ve LPS uygulanan KOAH sıçanlarında akciğer dokusunda belirgin inflamasyon, alveolar boşlukların genişlemesi, alveolar duvar incelmesi ve dokusal hasar gözlemlenmiştir. Resveratrol tedavisi uygulanan grupta ise, bu histopatolojik bozulmalar önemli ölçüde hafifletilmiştir. Özellikle, resveratrol sayesinde alveolar duvar bütünlüğü kısmen korunmuş, inflamatuvar hücre infiltrasyonu azalmış ve genel doku yapısı iyileşmiştir. Bu sonuçlar, resveratrolün KOAH modelinde, inflamasyon ve oksidatif stresin yol açtığı histopatolojik hasarı azaltarak akciğer dokusunun onarımına katkıda bulunduğunu göstermektedir (Wang ve ark 2017).

Yaptığımız çalışma sonucunda amfizem derecesinin sham grubunda en yüksek, BAL'da ise en düşük olduğu ve sham grubuna kıyasla BAL'da istatistiksel olarak anlamlı bir iyileşme gözlemlendi.

Bu bulgular, literatürde elastaz veya sigara dumanı modellerinde çeşitli doğal veya farmakolojik ajanların amfizeme karşı koruyucu etki gösterdiğini bildiren çalışmalarla benzerlik taşımaktadır. Sohrabi ve ark. (2021), PPE ile oluşturulan amfizem modelinde galik asidin alveolar hasarı ve amfizem skorunu azalttığını bildirmiştir. Zhang ve ark. (2016), kurkumin tedavisiyle akciğer dokusundaki alveolar

genişlemenin ve epitel hasarının hafiflediğini göstermiştir. Wang ve ark. (2017) ise resveratrol uygulamasının amfizem derecesini ve inflamasyonu düşürdüğünü ortaya koymuştur. Bu doğrultuda, çalışmamızda kekik türleri ve balın özellikle BAL grubunda amfizemi anlamlı düzeyde azaltması, hem anti-inflamatuar hem de antioksidan mekanizmalarla ilişkili olabilir. Balın içeriğindeki flavonoidler ve fenolik asitler, bitkisel uçucu yağların (ör. karvakrol, timol) antioksidan ve antimikrobiyal özellikleriyle birleşerek alveolar yıkım süreçlerini hafifletmiş olabilir.

Wu ve ark. yaptığı çalışmada, sodyum houthuyfonatın KOAH modeli oluşturulan sıçanlarında akciğer inflamasyonunu azaltmadaki etkilerini araştırmıştır. Çalışmada, sigara dumanı ve lipopolisakkarit uygulaması kullanılarak KOAH modeli oluşturulmuştur. Tedavi grubunda sodyum houthuyfonat uygulandıktan sonra, bronkoalveolar lavaj sıvısı (BALF) ve akciğer dokusu örneklerinde inflamatuvar hücre infiltrasyonu, proinflamatuvar sitokin (örneğin IL-6, TNF- α , IL-1 β) düzeyleri ve histopatolojik doku bozulmaları incelenmiştir. Sonuçlar, KOAH modeli sıçanlarında belirgin inflamasyon, artmış hücre infiltrasyonu ve doku hasarının gözlemlendiğini; ancak sodyum houthuyfonat tedavisi uygulanan grupta, bu inflamatuvar bulguların ve hasarın önemli derecede azaldığını ortaya koymuştur. Bu bulgular, sodyum houthuyfonatın KOAH tedavisinde potansiyel terapötik bir ajan olarak akciğer inflamasyonunu baskılayıp doku hasarını hafifletebileceğini göstermektedir (Wu ve ark 2017).

Yaptığımız çalışmada, PPE ile deneysel olarak KOAH modeli oluşturulan ratlarda, kekik türleri ve bal tedavisinin akciğer dokusundaki histopatolojik değişiklikler (inflamasyon, amfizem, lenfoid birikim, fibrozis ve granülom) üzerindeki etkileri değerlendirildi. Elde ettiğimiz bulgular, sham grubunda inflamasyon ve amfizem derecesinin en yüksek seviyelerde olduğunu, tedavi gruplarında (DK, YK ve özellikle BAL) bu parametrelerin anlamlı veya anlamlıya yakın derecelerde azaldığını göstermiştir. Ayrıca sham grubunda gözlenen lenfoid birikimin, kontrol ve uygulama gruplarında tespit edilmemesi, uygulamanın immün-inflamatuar yanıtı hafifletebileceğini düşündürmektedir. Fibrozis ve granülom oluşumunun hiçbir grupta gözlenmemesi, kullanılan modelin veya izlenen sürenin bu tür kronik değişikliklerin gelişimi için yeterli olmamış olabileceğini akla getirmektedir.

Araştırmamızda, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamış olsa da inflamasyon skor ortalamasının sham grubunda en yüksek çıkması dikkat çekicidir. Tedavi alan gruplarda ise bu ortalama değerlerin sham grubuna kıyasla azalma eğiliminde olması, kekik türleri ve balın anti-inflamatuar potansiyelini destekleyici bir gözlem olarak yorumlanabilir.

Lenfoid birikim yalnızca sham grubunda gözlemlendi, kontrol ve tedavi gruplarında ise saptanmadı. Bu durum, inflamatuvar ve immün yanıtın sham grubunda daha belirgin olduğuna; kekik türleri ve bal tedavisinin ise lenfoid dokuların reaktif hiperplazisini baskılayabilmiş olabileceğine işaret etmektedir. Literatürde, Wu ve ark. (2017) gibi çeşitli çalışmalar, bazı bitkisel veya doğal ajanların immün hücre aktivitesini modüle ederek hava yolu inflamasyonunu azalttığını bildirmiştir. Mevcut bulgularımız da bu sonuçları destekler niteliktedir.

Fibrozis ve granülom oluşumu hiçbir grupta gözlenmemiştir. Bazı KOAH modellerinde, sigara dumanı ya da elastaz maruziyeti uzun süre devam ettiğinde fibrotik değişiklikler ve kronik inflamasyonun ileri evreleri gözlenebilir (Zhang ve ark. 2014). Ancak çalışmamızdaki izlem süresi, fibrozis veya granülom gelişimi için yeterli olmamış olabilir. Ayrıca, PPE uygulamasının dozu ve deney süresi de fibrotik yanıtı indüklemeyecek şekilde düzenlenmiş olabilir.

PPE ile deneysel KOAH modeli oluşturulduğunda, alveolar elastin yıkımı ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu sonucu amfizematöz değişiklikler ve hava yolu inflamasyonu sıklıkla beklenen bulgulardır. Literatürde yer alan benzer çalışmalar (Zhang ve ark. 2014; Wang ve ark. 2017) da benzer patolojik süreçleri doğrulamaktadır. Çeşitli antioksidan, anti-inflamatuar veya immünmodülatör özelliğe sahip doğal ve farmakolojik ajanların (örneğin galik asit, kurkumin, resveratrol, sodyum houttuyfonat, bal, bitkisel özler) bu süreçleri baskıladığı gösterilmiştir.

Bizim çalışmamızda kekik türleri ve bal tedavisinin, sham grubunda gözlemlenen yüksek inflamasyon ve amfizem skorlarını azaltması ve lenfoid birikimin görülmemesi, potansiyel anti-inflamatuar ve doku koruyucu etkilerle örtüşmektedir. Bu etki, muhtemelen şu mekanizmalarla ilişkili olabilir:

1. **Antioksidan etki:** Balın ve kekik türlerinin içeriğindeki fenolik ve flavonoid bileşenler, serbest radikalleri etkisiz hale getirerek oksidatif stresin tetiklediği inflamatuvar yanıtı hafifletebilir.
2. **Antiinflamatuvar sitokin düzenlenmesi:** Bu ürünler, NF-κB gibi proinflamatuvar sinyal yollarını baskılayarak nötrofil ve makrofaj infiltrasyonunu azaltabilir; böylece alveolar duvar yıkımı ve lenfoid agregasyonuna giden süreç engellenebilir.
3. **Doku onarımı ve rejenerasyon:** Bal, geleneksel tıpta yara iyileşmesi ve doku onarımını destekleyici olarak sıkça kullanılmaktadır. Origanum uçucu yağı ise içerdiği karvakrol ve timol gibi aktif bileşenlerle hücre proliferasyonu ve doku bütünlüğünün korunmasında rol oynayabilir.

PPE kaynaklı deneysel KOAH modelinde, sham grubunda belirgin inflamasyon, amfizem ve lenfoid birikim gözlenirken, kekik türleri ve bal ile tedavi uygulanan gruplarda bu patolojik bulguların hafiflediği görülmüştür. Fibrozis ve granülom oluşumunun hiçbir grupta saptanmaması, muhtemelen model ve takip süresi ile ilişkili bir durumdur. Literatürde bal ve bitkisel ekstraktların KOAH dahil olmak üzere çeşitli akciğer hasarı ve inflamasyon modellerinde koruyucu veya iyileştirici etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir. Bizim çalışmamız da bu bulguları desteklemektedir ve kekik türleri ve balın KOAH patogenezinde yapısal hasarı kısmen önleyici veya hafifletici bir potansiyele sahip olabileceğini göstermektedir. İleride daha uzun süreli ve çok yönlü çalışmalarla bu tedavinin etkinliği ve mekanizmaları daha kapsamlı şekilde aydınlatılabilir.

4.6. *Origanum onites* L. ve *Origanum minutiflorum*un Fitokimyasal İçeriği

Birçok çalışma, *Origanum onites* L'in (Dağ kekiği) karakteristik bileşiminin karvakrol olduğunu bildirmiştir. Fakat Ozdemir ve ark. yaptığı çalışmada, *Origanum onites* L'nin gölgede kurutulmuş formunun timol (%56,04) açısından zengin olduğunu tespit etmişlerdir. Karvakrol ise %3,59 oranında tespit edilmiştir (Ozdemir ve ark 2018).

Spyridopoulou ve ark. yaptığı çalışmada, *Origanum onites L.* uçucu yağında en bol bulunan fitokimyasalın karvakrol (%47,99) olduğu saptanmıştır. Tanımlanan diğer önemli bileşikler arasında terp-1-en-4-ol (%6,79), sabinen hidrat (%6,14), γ -terpinen (%5,20), p-simen (%3,85) ve α -terpineol (%3,76) yer almaktadır.

Yaldız ve ark. yaptığı çalışmada, *Origanum onites L.* uçucu yağında karvakrol, linalool, γ -terpinen, α -terpinen, 1,4-sineol, borneol, timol, β -pinen ve α -pinenin ortalama değerleri sırasıyla %47,41-73,65, %2,44-16,62, %2,95-9,40, %1,18-18,63, %1,06-7,31, %1,26-2,77, %1,33-2,97, %0,99-1,97 ve %1,18-1,36 arasında değişim göstermiştir. *Origanum onites L.* uçucu yağının ana bileşeni olan karvakrol, en yüksek değerine (%73,65) kekik bitkisinin tam çiçeklenme döneminde olduğu mayıs ayında ulaşmıştır. Türk kekiğinin tüm uçucu yağ bileşenleri mayıs ve haziran aylarında tespit edilmiştir. Bu bulgular, uçucu yağ içeriğinin en yüksek seviyeye ulaştığı dönemde, uçucu yağ bileşenlerinin sayısının ve miktarının da maksimum seviyede olduğunu göstermektedir (Yaldiz ve ark 2005).

Erenler ve ark. yaptığı çalışmada *Origanum onites L.*'nin uçucu yağlarının ana bileşeninin karvakrol olduğu bildirilmiştir. Karvakrol, iyi bilinen bir monoterpen olup, *O. onites L.* uçucu yağında %88,7 oranında bulunmuştur. Ayrıca *Origanum onites L.*'nin metanol ekstraktında protokateşik asit (8,2 ppm), kafeik asit (176,4 ppm), ferulik asit (9,6 ppm), hesperidin (3,2 ppm) ve rosmarinik asit (320,05 ppm) tespit edilmiştir (Erenler ve ark 2018).

Sarac ve ark. yaptığı çalışmada, *Origanum onites L.*'nin uçucu yağının ana bileşenleri sırasıyla karvakrol (%76,32), p-simen (%4,32), α -terpinen (%3,94), γ -terpinen (%4,82), mirsen (%1,45) ve timol (%2,97) olarak belirlenmiştir (Sarac ve ark 2007).

Özer yaptığı çalışmada, *Origanum onites L.* uçucu yağının ana bileşenlerini karvakrol (%64.5), p-simen (%11.2) ve (E)- β -okimen (%9.1) olarak belirlemiştir (Özer 2020).

Yılar ve ark. yaptığı çalışmada *Origanum onites L.* uçucu yağının ana bileşenini karvakrol (%59.87), γ -terpinen (%17.08) ve p-simen (%8.83) olarak belirlemiştir (Yılar ve ark 2019).

Bitkilerin uçucu yağ bileşimi, toplandıkları bölgeye bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir. Önceki çalışmalarda, *Origanum onites L.* uçucu yağının Balıkesir (Kazdağı) örneğinde karvakrol %77,2 ve p-simen %10,9 olarak tespit edilirken, Antalya (Beycik) örneğinde linalool %90,9 ve karvakrol %1,8 olarak belirlenmiştir (Baser ve ark 1993). Diğer çalışmalarda, *Origanum onites L.* uçucu yağında ana bileşen olarak linaloolün (%50,53) bulunduğu 12 bileşen tespit edilmiştir (Özkan ve Erdoğan 2011). Ayrıca, karvakrol (%79,2) ve timol (%4,4) içeren 53 bileşen tanımlanmıştır (Altıntaş ve ark 2013).

Bunun yanı sıra, *Origanum onites L.* uçucu yağında ana bileşen olarak karvakrol (%57,01) belirlenmiştir (Copur ve ark 2010). Yunanistan'ın İkaria Adası'ndan toplanan yedi farklı *Origanum onites L.* örneğinde, uçucu yağın ana bileşenleri karvakrol (%72,25-89,22), p-simen (%1,43-6,00) ve γ -terpinen (%1,37-6,51) olarak tespit edilmiştir (Economou ve ark 2011).

Farklı bölgelerden toplanan *Origanum onites L.* uçucu yağlarının ana bileşenleri ve bileşen sayıları farklılık gösterebilmektedir. Bitkilerde ikincil metabolitlerin bileşimi üzerinde; çevresel koşullar, gelişim dönemi, hasat mevsimi, toprak yapısı ve uçucu yağın elde edilme yöntemi gibi faktörler etkili olmaktadır (Toncer ve ark 2009).

Vardar-Ünlü ve ark. yaptığı çalışma, *Origanum minutiflorum* (Yayla kekiği) uçucu yağının başlıca bileşenleri arasında karvakrol, linalool, p-simen, γ -terpinen ve (E)-karyofilen gibi bileşiklerin bulunduğunu göstermiştir (Vardar-Ünlü ve ark 2007).

Sökmen ve ark. yaptığı çalışmada, *Origanum minutiflorum* uçucu yağının analizi sonucunda, 64 bileşen tespit edilmiş olup, bu bileşenler toplam belirlenen bileşenlerin yaklaşık %98,9'unu temsil etmektedir. Karvakrol (%64,29) baskın bileşik olarak belirlenmiş, bunu p-simen (%9,56) takip etmiştir (Sökmen ve ark 2020).

Albayrak ve ark. yaptığı çalışmada, *Origanum minutiflorum*'daki toplam uçucu yağın %100'ünü oluşturan 29 bileşik tespit edilmiştir. Yağın ana bileşeni karvakrol (%90,87) olarak belirlenmiş olup, bunu linalool (%2,77), karyofillen (%1,21) ve p-simen (%1,01) takip etmiştir. Diğer bileşikler ise %0,02-0,8 aralığında düşük oranlarda bulunmuştur (Albayrak ve Aksoy 2019).

Yapılan başka bir çalışmada *Origanum minutiflorum* uçucu yağının karvakrol, linalool, p-cymene, γ -terpinene ve (E)-karyofilen gibi biyolojik olarak aktif bileşikler açısından zengin olduğunu göstermiştir (Yıldız ve ark 2023).

Dadalioglu ve ark.ın çalışmasında, *Origanum minutiflorum* uçucu yağlarında sırasıyla karvakrol (%68,23), 1,8-sineol (%60,72), fenkon (%55,79) ve trans -anetol (%85,63)'ün baskın bileşenler olduğu tespit edilmiştir (Dadalioglu ve Evrendilek 2004).

Yıldız ve ark. yaptığı çalışmada, *Origanum minutiflorum* uçucu yağı, %83.3 oranında karvakrol açısından zengin bulunmuş; diğer ana bileşenler ise p-simen (%3.0), β -karyofillen (%1.3), trans-sabinen hidrat (%1.1), γ -terpinen (%1.1), borneol (%1.1) ve terpinen-4-ol (%1.0) olarak belirlenmiştir (Yıldız ve ark 2023).

Origanum onites L. ve *Origanum minutiflorum*'un uçucu yağ bileşenleri incelendiğinde: Karvakrol, her iki türde de ana bileşen olarak bulunmuştur. *Origanum minutiflorum*'da (%77,56) *Origanum onites*'e (%66,75) göre daha yüksek seviyededir. Bu bulgu, Yıldız ve ark. (2023), Sökmen ve ark. (2020) ve Albayrak ve Aksoy (2019) tarafından bildirilen sonuçlarla paraleldir. Ancak bazı çalışmalarda karvakrol yüzdesinin bitkinin yetiştiği bölgeye ve hasat mevsimine bağlı olarak %47,99 ile %88,7 arasında değiştiği rapor edilmiştir.

Timokinon, *Origanum onites L*'de (%29,46) daha yüksek oranda bulunurken, *Origanum minutiflorum*'da (%11,32) daha düşüktür. Literatürde timokinon üzerine çok fazla çalışma bulunmamakla birlikte, bu farklılık türler arasındaki fitokimyasal farklılıkları gösterebilir.

Timol, *O. minutiflorum*'da (%7,69) *O. onites L*'den (%0,83) daha yüksek seviyede bulunmuştur. Ozdemir ve ark. (2018)'in çalışmasında, gölgede kurutulan *O. onites L* bitkisinin timol açısından zengin olduğu bildirilmiştir (%56,04). Ancak birçok çalışmada timol, karvakrol kadar yüksek oranda tespit edilmemiştir. Diğer terpenler arasında 4-Terpineol, Heptadekan, Nonadekan ve Pentakosan her iki türde de düşük seviyelerde bulunmuştur.

Karvakrol, her iki türde de en baskın bileşen olup, *Origanum minutiflorum*'da oranı daha yüksektir. Timokinon, *O. onites L.*'de daha fazla bulunmuştur. Timol oranı *O. minutiflorum*'da belirgin şekilde daha yüksektir. Genel olarak sonuçlar literatürdeki değişkenlikleri desteklemektedir.

Fenolik bileşenler açısından: Rosmarinik asit, her iki türde de en yüksek oranda tespit edilmiştir. *O. onites L.* (2295,4 ppm), *O. minutiflorum*'a (885,8 ppm) kıyasla daha yüksek orandadır. Bu durum, Erenler ve ark. (2018)'in rapor ettiği 320,05 ppm rosmarinik asit sonucundan oldukça yüksektir. Bitkinin yetiştiği bölge ve hasat zamanı bu farklılıklara neden olabilir.

Hesperidin, *O. onites L.*'de (180,3 ppm) daha yüksek seviyededir. Literatürde *O. onites L.*'in flavonoidler açısından zengin olduğu bildirilmektedir. Kateşin, *O. minutiflorum*'da daha düşük (36,3 ppm) ancak *O. onites L.*'de daha yüksek (95,5 ppm) tespit edilmiştir. Luteolin, *O. onites L.*'de (174,8 ppm) *O. minutiflorum*'a (20,3 ppm) göre belirgin şekilde yüksektir. Bu bulgu, luteolin'in bazı çalışmalarda *O. onites L.*'nin flavonoid profiline daha fazla katkı sunduğunu gösteren bulgularla uyumludur.

Kafeik asit, *O. onites L.*'de (52,8 ppm) daha yüksek, *O. minutiflorum*'da (41,8 ppm) daha düşüktür. *O. minutiflorum*'da fenolik bileşenlerin çeşitliliği fazla olsa da miktarları *O. onites L.*'ye kıyasla genellikle daha düşüktür.

Malik asit, *O. minutiflorum*'da (49,717 ppm) *O. onites L.*'ye (12,702 ppm) kıyasla daha yüksektir. Malik asit, bitkinin tat profiline katkı sunan önemli bir bileşendir ve *O. minutiflorum*'da belirgin şekilde fazladır. Laktik asit, *O. minutiflorum*'da (48,677 ppm) *O. onites L.*'ye (36,725 ppm) kıyasla daha yüksektir.

Sitrik asit, *O. onites L.*'de (28,996 ppm) *O. minutiflorum*'a (25,046 ppm) göre biraz daha yüksektir. Formik asit, *O. onites L.*'de (2,945 ppm) *O. minutiflorum*'a (2,483 ppm) kıyasla daha fazladır. Organik asit profilleri benzer olmakla birlikte, miktarlar türler arasında değişkenlik göstermektedir.

Karvakrol, her iki türde de baskın bileşendir, ancak *O. minutiflorum*'da oranı daha yüksektir (%77,56 vs %66,75). Bu sonuç, literatürde bildirilen farklı karvakrol seviyeleri ile uyumludur.

Timokinon, *O. onites L.*'de daha yüksek seviyededir (%29,46 vs %11,32). Bu, *Origanum onites L.*'in potansiyel olarak daha farklı farmakolojik etkilere sahip olabileceğini düşündürülebilir. Timol, *O. minutiflorum*'da belirgin şekilde daha yüksektir (%7,69 vs %0,83).

Fenolik bileşenler açısından, *O. onites L.* daha yüksek rosmarinik asit, hesperidin ve luteolin içerirken, *O. minutiflorum* daha fazla malik asit ve epikateşin içermektedir. Organik asitlerde, *O. minutiflorum* daha yüksek malik asit içeriğine sahipken, *O. onites L.* daha fazla formik asit ve sitrik asit içermektedir.

Sonuçlar, literatürde bildirilen bölgesel ve türler arası farklılıkları desteklemektedir. Özellikle çevresel faktörler, hasat dönemi ve işleme yöntemleri, uçucu yağ ve fenolik bileşen profillerini önemli ölçüde etkileyebilir.

Çalışmamızda, KOAH modeli üzerinde *Origanum* (kekik) türleri ve bal tedavisinin inflamatuvar yanıtı ve doku yıkımını azalttığını gösteren sonuçlar elde ettik. Buna göre karvakrol, timokinon ve rosmarinik asit KOAH tedavisinde inflamasyonu baskılayan, oksidatif stresi azaltan ve doku yıkımını önleyen en güçlü bileşiklerdir. Timol ve hesperidin, hava yolu genişlemesine (bronkodilatasyon) ve mukus hipersekresyonunun kontrolüne katkı sağlayabilir. Sitrik asit ve malik asit, mukolitik ve metabolik destek sağlayarak KOAH'ta solunum fonksiyonlarını iyileştirebilir.

4.7. *Origanum* Türleri ve Balın KOAH Üzerine Olası Etkileri

Fentri ve ark. yaptığı çalışmada, Wistar sıçanlarında sigara dumanına maruz kalma durumunda SOD aktivitesi ve caspase-9 ifadesi üzerindeki arı balı etkisini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Elde edilen sonuçlara göre, arı balı, sigara dumanına bağlı akciğer hasarında, antioksidan savunmayı güçlendirerek SOD aktivitesini artırmakta ve apoptoz sinyalleşmesini azaltarak caspase-9 ifadesini düşürmektedir. Bu sonuçlar, arı balının sigara dumanının neden olduğu oksidatif stres ve apoptoz mekanizmalarını hafifletmede potansiyel terapötik bir ajan olabileceğini desteklemektedir (Fentri ve ark 2024).

Veljovic ve ark. *Origanum minutiflorum* esansiyel yağının (WOEO) akciğer hastalıklarında potansiyel terapötik etkilerini değerlendirmiştir. Araştırmada,

WOEO'nun kimyasal bileşimi GC-MS ve GC-FID ile belirlenmiş; ardından, insan bronşiyal epitel hücreleri kullanılarak, LPS kaynaklı inflamatuvar yanıt ve hidrojen peroksit kaynaklı oksidatif stresin WOEO tedavisi ile nasıl modüle edildiği incelenmiştir. Ayrıca, WOEO'nun *Acinetobacter baumannii* ve dirençli *Klebsiella pneumoniae* gibi akciğer patojenleri üzerindeki antibakteriyel aktivitesi agar difüzyon testi ile test edilmiştir. Sonuçlar, WOEO'nun ana bileşenleri arasında karvakrol, linalool, p-simen, γ -terpinen ve (E)-karyofilen bulunduğunu; WOEO tedavisinin, LPS kaynaklı IL-8 gen ekspresyonunu ve oksidatif stresi belirgin şekilde azalttığını, aynı zamanda patojenlerin büyümesini inhibe ettiğini göstermiştir. Bu bulgular, *Origanum minutiflorum* esansiyel yağının, kronik akciğer hastalıklarında inflamasyonu ve oksidatif stresi azaltarak, lokal tedavi olarak potansiyel bir seçenek sunabileceğini ortaya koymaktadır (Veljovic ve ark 2023).

Mahtaj ve ark. yaptığı çalışma, KOAH modelinde karvakrolün sistemik inflamasyon üzerindeki etkilerini değerlendirmiştir. Bu çalışmada, kobaylara 3 ay boyunca sigara dumanına maruz bırakılarak KOAH modeli oluşturulmuştur. KOAH modelinde, serum IL-8 ve MDA düzeyleri, toplam WBC sayısı ve eozinofil oranları kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede artarken, kilo değişimleri azalmıştır. Yüksek konsantrasyonda karvakrol uygulanan tedavi gruplarında, serum MDA, toplam WBC, eozinofil, nötrofil ve lenfosit yüzdeleri, IL-8 düzeyleri ve kilo değişimleri anlamlı şekilde iyileşmiştir. Bu sonuçlar, karvakrolün KOAH modelinde kullanılan konsantrasyonlarda, deksametazon etkisine benzer şekilde sistemik inflamasyonu azaltarak ve hastalık belirtilerini iyileştirerek koruyucu bir etki sağladığını ortaya koymaktadır (Mahtaj ve ark 2015).

Gholami Mahtaj ve ark. yaptığı çalışmada, KOAH modelinde *Zataria multiflora* ekstraktı ve bileşeni karvakrolün, akciğer dokusundaki patolojik değişiklikler üzerindeki önleyici etkilerini incelemiştir. Çalışmada, hayvanlar 3 ay boyunca sigara dumanına maruz bırakılarak KOAH modeli oluşturulmuştur. Elde edilen sonuçlara göre, KOAH grubunda hem trakeal yanıtın ($p < 0,05$) hem de amfizem göstergelerinin ($p < 0,001$) kontrol grubuna göre önemli derecede arttığını ortaya koymuştur. *Z. multiflora*'nın yüksek konsantrasyonları ve karvakrol tedavisi uygulanan gruplarda ise, trakeal yanıt ve amfizem derecesinde anlamlı iyileşme gözlemlenmiştir. Bu bulgular, *Z. multiflora* ekstraktı ve karvakrolün KOAH

kobaylarında hava yolu patolojik değişikliklerini ve trakeal yanıtı önemli ölçüde düzeltici, önleyici etkiler gösterdiğini ortaya koymaktadır (Gholami Mahtaj ve ark 2015).

Muhamad ve ark. yaptığı çalışmada, KOAH hastalarının yaşam kalitesi üzerindeki bal tedavisinin etkisini değerlendirmeyi amaçlamıştır. Araştırmada, KOAH tanısı almış hastalar rastgele iki gruba ayrılmıştır: Tualang balı tedavi grubu ve plasebo grubu. Belirlenen tedavi süresi boyunca hastalara günlük olarak Tualang balı veya plasebo uygulanmış ve tedavi öncesi ile sonrasında yaşam kalitesi, solunum semptomları, akciğer fonksiyon testleri ve ilgili biyokimyasal parametreler değerlendirilmiştir. Sonuçlar, Tualang balı tedavisi uygulanan grupta, yaşam kalitesi skorlarının (örneğin, St. George's Respiratory Questionnaire gibi ölçekler kullanılarak) anlamlı derecede iyileştiğini, solunum semptomlarının azaldığını ve inflamatuvar belirteçlerde olumlu değişiklikler gözlemlendiğini ortaya koymuştur. Bu bulgular, Tualang balının KOAH hastalarının yaşam kalitesini artırmada potansiyel bir yardımcı tedavi olarak değerlendirilebileceğine işaret etmektedir (Muhamad ve ark 2018).

Zare ve ark. yaptığı klinik çalışma, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) tanısı almış yaşlı hastalarda bal tedavisinin öksürük semptomlarını hafifletmedeki etkisini değerlendirmeyi amaçlamıştır. Araştırmada, KOAH'lı yaşlı hastalar rastgele iki gruba ayrılarak; bir gruba belirli bir süre boyunca günlük bal tedavisi uygulanırken, diğer grup plasebo veya standart tedavi ile izlenmiştir. Tedavi süresi boyunca öksürük şiddeti, akciğer fonksiyon testleri ve yaşam kalitesi gibi klinik parametreler düzenli aralıklarla değerlendirilmiştir. Ayrıca, inflamatuvar belirteçlerde meydana gelen değişiklikler de incelenmiştir. Sonuçlar, bal tedavisi uygulanan grupta öksürük semptomlarında anlamlı azalma, akciğer fonksiyonlarında iyileşme ve genel yaşam kalitesi skorlarında pozitif değişiklikler gözlemlendiğini ortaya koymuştur. Bu bulgular, balın KOAH'lı yaşlı hastalarda öksürüğü hafifletmede ve inflamasyonu azaltarak yaşam kalitesini artırmada potansiyel terapötik bir ajan olarak kullanılabileceğini göstermektedir (Zare ve ark 2016).

Muda ve ark. yaptığı çalışma, sigara dumanına maruz kalan sıçanların akciğerlerinde oluşan inflamatuvar yanıtı modüle etmede balın potansiyel etkilerini

araştırmıştır. Çalışmanın temel amacı, sigara dumanına bağlı olarak artan inflamatuvar hücre infiltrasyonunu azaltmada bal tedavisinin etkisini belirlemektir. Araştırmada, üç gruba ayrılan sıçanlar kullanılmıştır: kontrol grubu (sigara dumanı maruziyeti uygulanmayan), sigara dumanına maruz kalan grup ve sigara dumanına maruz kalıp sonrasında bal tedavisi uygulanan grup. Sigara dumanına belirli süre maruziyet uygulandıktan sonra, bronkoalveolar lavaj sıvısı (BALF) toplanarak inflamatuvar hücrelerin (nötrofiller ve makrofajlar) sayısı belirlenmiş; ayrıca akciğer dokularının histopatolojik incelemesi yapılmıştır. Sigara dumanına maruz kalan sıçanlarda, akciğer dokusunda belirgin şekilde artmış inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve dokusal hasar gözlemlenmiştir. Buna karşın, bal tedavisi uygulanan grupta inflamatuvar hücre sayılarında anlamlı düşüş ve histopatolojik iyileşme elde edilmiştir (Muda ve ark 2014).

Yaptığımız çalışmada, PPE ile KOAH modeli oluşturulan ratlarda, *Origanum onites* L. (Dağ kekiği), *Origanum minutiflorum* (Yayla kekiği) ve bal uygulamalarının akciğer dokusundaki yapısal ve fonksiyonel değişiklikler, immün hücre alt grupları (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺), inflamatuvar belirteçler (IL-1 α , IL-33, HMGB1, MMP-9, TIMP-1) ve kan gazı parametreleri (pH, pCO₂, pO₂, HCO₃⁻, sO₂) üzerindeki etkileri incelendi. Bulgular, KOAH modeli ratlarda sham grubuna kıyasla tedavi gruplarında anlamlı iyileşme eğilimleri olduğunu göstermektedir.

Araştırmamızda CD8⁺ ve CD3⁺ düzeylerinin sham grubunda belirgin şekilde yüksek olduğu, kontrol grubunda ise en düşük seviyede tespit edildiği gözlemlendi. Tedavi gruplarında (özellikle YK ve BAL), sham grubuna kıyasla bu parametrelerin önemli ölçüde düştüğü saptandı. CD4⁺ düzeylerinde ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı.

KOAH gibi kronik inflamatuvar hastalıklarda, CD8⁺ T hücrelerinin akciğer dokusunda artış göstermesi hastalığın progresyonunda önemli bir role sahiptir. Artan CD8⁺ T hücre aktivitesi, alveolar ve bronşiyal epitelyum hasarının derinleşmesine katkıda bulunabilir. Çalışmamızda tedavi gruplarında CD8⁺ düzeylerinin sham grubuna göre azalması, *Origanum* türleri ve balın KOAH patogenezinde yer alan immün hücre aktivitesini baskılayabileceğini düşündürmektedir. Benzer şekilde, literatürdeki bitkisel tedavilerin ve bal uygulamalarının, oksidatif ve inflamatuvar süreci

modüle ederek T hücre alt gruplarını düzenleyebildiği rapor edilmektedir (Mahtaj ve ark. 2015).

Sham grubunda pH değerinin uygulama sonrasında düşmesi ve buna paralel olarak pCO₂ düzeylerinin artması, akciğer ventilasyon kapasitesinin bozulduğunu ve respiratuvar asidoz eğilimi olduğunu göstermektedir. pO₂ ve sO₂ değerlerinde de sham grubunda bir azalma eğilimi gözlenmesi, KOAH patogenezinin karakteristik özelliği olan gaz değişimindeki bozulmaları yansıtmaktadır.

Uygulama gruplarında ise pH'nın yükselmesi, pCO₂'nin düşmesi ve pO₂ ile sO₂'nin artması, akciğer fonksiyonlarında ve gaz değişiminde iyileşme yönünde önemli bir göstergedir. Özellikle DK (*Origanum onites L.*) ve BAL tedavilerinde, pO₂ ve sO₂ artışının istatistiksel olarak anlamlı olması, hava yolu açıklığının ve alveolar gaz değişiminin iyileştiğini düşündürmektedir. YK'de (*Origanum minutiflorum*) pO₂ artışının istatistiksel olarak anlamlı bulunmamasına rağmen, genel eğilim yine pozitif yöndedir.

HCO₃⁻ değerlerinde sham grubunda artış, respiratuvar asidoza karşı böbreklerin telafi mekanizması (metabolik alkaloz yanıtı) olarak yorumlanabilir. Tedavi gruplarında ise HCO₃⁻ seviyelerinin tedavi sonrasında genel olarak düşme eğiliminde olması, solunumsal düzelmelerin beraberinde getirdiği “metabolik kompanzasyon” ihtiyacının azalmasıyla ilişkili olabilir.

Literatürde bal ve bitkisel ekstraktların KOAH ve benzeri akciğer patolojilerinde gaz değişimini iyileştirebildiğine dair çeşitli çalışmalar mevcuttur (Muhamad ve ark. 2018; Zare ve ark. 2016). Özellikle antioksidan ve antiinflamatuvar özellikler, hava yolu rezistansını azaltarak daha etkili bir havalanma ve dolayısıyla gaz değişimi sağlayabilir.

Çalışmamızda, sham grubunda IL-1 α düzeyleri en yüksek bulunmuş, YK'de ise en düşük seviyeye geriledi. Özellikle YK (*Origanum minutiflorum*) tedavisinin IL-1 α üzerinde daha belirgin bir azaltıcı etki gösterdiği dikkat çekmektedir.

IL-33, Sham grubunda en yüksek, YK'de ise en düşük düzey elde edildi. BAL'da da IL-33 seviyelerinin sham grubuna kıyasla anlamlı derecede düştüğü tespit

edildi. IL-33, özellikle Th2 yanıtını tetikleyerek kronik inflamasyona katkıda bulunabilen bir sitokindir.

HMGB1, sham grubunda diğer gruplara kıyasla anlamlı derecede yüksek olup, tüm tedavi gruplarında kontrol seviyelerine yakın değerler saptandı. HMGB1, doku hasarı ve nekroz durumlarında alarmin görevi üstlenerek inflamasyonu artırır. Bulgularımız, tedavi gruplarının hasar ve inflamasyon döngüsünü kırmada etkili olabileceğini düşündürmektedir.

MMP-9, en yüksek sham grubunda, en düşük YK'de saptandı. *Origanum minutiflorum*'un (YK) MMP-9 üretimini belirgin biçimde baskılama potansiyeli dikkat çekicidir. Hava yolu yeniden şekillenmesinde ve doku yıkımında kilit rol oynayan MMP-9, KOAH patogenezinde öne çıkan bir enzimdir.

TIMP-1, en yüksek BAL ve en düşük sham grubunda elde edildi. TIMP-1'in artması, MMP-9 aktivitesini inhibe ederek doku yıkımını sınırlayabilir. Özellikle BAL'daki tedavi protokolünün TIMP-1'i artırarak proteaz-antiproteaz dengesini normale yaklaştırması, KOAH kaynaklı alveolar yıkımı azaltıcı yönde bir mekanizma olarak yorumlanabilir.

Bu veriler, literatürde karvakrol gibi *Origanum*'un ana bileşenlerinden birinin proinflamatuvar sitokinleri ve MMP-9 ekspresyonunu düşürebildiğini gösteren çalışmalarla uyumludur (Veljovic ve ark. 2023; Ghorani ve ark. 2021; Mahtaj ve ark. 2015). Aynı şekilde balın da bilinen antioksidan aktivitesi ile hava yollarında inflamasyonu baskılayarak IL-1 α , IL-6 gibi sitokin düzeylerini azaltabileceği, oksidatif stres parametrelerini iyileştirebileceği bildirilmiştir (Fentri ve ark. 2024; Muda ve ark. 2014).

İnflamasyon skoru, tüm gruplarda istatistiksel olarak benzer çıkmakla birlikte, sham grubunda ortalama skorun en yüksek olması; tedavi gruplarında daha düşük gözlenmesi, tedavilerin inflamatuvar yanıtı azaltma potansiyeline işaret etmektedir.

Amfizem derecesi, sham grubunda en yüksek, BAL'da en düşük amfizem derecesi gözlenmiştir. Özellikle BAL'ın sham grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir iyileşme göstermesi, alveolar hasarın azalması ve akciğer elastik

yapısının korunmasında bal tedavisinin önemli bir rolü olabileceğini düşündürmektedir.

Lenfoid birikim, sadece sham grubunda saptanmış, tedavi gruplarında ve kontrol grubunda görülmemiştir. Bu durum, kronik inflamatuvar yanıtın sham grubunda belirgin olduğunu, tedaviyle ise bu yanıtın baskılanabileceğini göstermektedir.

Fibrozis ve granülom, çalışmanın süresi veya modelin doğası gereği, hiçbir grupta gözlenmemiştir. Farklı çalışmalar, daha uzun süreli maruziyet veya alternatif KOAH modellerinde fibrotik değişiklikleri rapor etmektedir (Zhang ve ark. 2014); ancak bu parametrelerin gözlenmemesi, erken/orta evredeki KOAH modeline işaret ediyor olabilir.

Histopatolojik sonuçlar, Fentri ve ark. (2024) ve Muda ve ark. (2014) gibi bal tedavisinin akciğer dokusundaki inflamasyon ve oksidatif stresi hafiflettiğini gösteren çalışmalarla, ayrıca Veljovic ve ark. (2023) bulgularıyla paralel olarak Origanum türlerinin inflamasyon ve doku hasarını baskılayan etkisini doğrulamaktadır.

Literatürde, karvakrol, timol, p-simen, linalool gibi Origanum türlerinin temel bileşenlerinin antiinflamatuvar, antioksidan ve antimikrobiyal etkiler gösterdiği çeşitli in vitro ve in vivo çalışmalarla ortaya konmuştur (Veljovic ve ark. 2023; Ghorani ve ark. 2021; Gholami Mahtaj ve ark. 2015). Benzer şekilde, balın içerdiği fenolik bileşenler, flavonoidler ve enzimlerin (örneğin glikoz oksidaz) antiinflamatuvar ve doku onarıcı etkileri farklı hayvan modelleri ve klinik çalışmalarda desteklenmektedir (Muda ve ark. 2014; Muhamad ve ark. 2018; Zare ve ark. 2016). Çalışmamızda elde edilen veriler de bu bulgularla uyum içinde olup, şu mekanizmaların işlediğini düşündürmektedir:

Antioksidan Koruma: Origanum türleri ve bal, reaktif oksijen türlerini (ROS) azaltarak hücrel hasarı engelleyebilir, böylece MMP-9 gibi proteolitik enzimlerin aşırı salınımını engeller.

Sitokin ve Proteaz İnhibisyonu: Karvakrol ve benzeri bileşenler, IL-1 α , IL-33 gibi proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu ve HMGB1 gibi doku hasar

sinyallerini baskılayabilir. Bal ise TIMP-1'i artırarak MMP-9 aktivitesini sınırlayabilir.

İmmün Modülasyon: Tedavi gruplarında CD8⁺ ve CD3⁺ düzeylerindeki düşüş, origanum türleri ve balın T hücre aracılı inflamasyonu hafifletebileceğini göstermektedir.

Gaz Değişiminin İyileştirilmesi: İnflamasyon ve mukus hipersegmentasyonu azalınca alveoler havalanma artabilir; böylece pO₂ ve sO₂ değerlerinde gözlenen yükselme ve pCO₂'deki düşme gerçekleşir.

Bu çalışmada, PPE ile oluşturulan KOAH modelindeki sham grubunda belirgin şekilde artan inflamasyon, doku yıkımı, immün hücre aktivasyonu (CD3⁺, CD8⁺), ve bozulan gaz değişimi parametrelerinin, *Origanum onites L.* (DK), *Origanum minutiflorum* (YK) ve BAL tedavileriyle önemli ölçüde hafiflediği tespit edildi. Özellikle: YK'de, MMP-9 ve IL-1 α , IL-33 düzeylerinde belirgin düşüş sağlandı. BAL, TIMP-1 düzeylerini yükselterek proteaz-antiproteaz dengesine katkıda bulundu; amfizem skorunu istatistiksel olarak en çok iyileştiren grup oldu. DK ise kan gazı parametrelerinde (pO₂ ve pCO₂) anlamlı iyileşmeler gösterdi.

Bulgular, literatürde bildirilen *Origanum* türlerinin antimikrobiyal ve antiinflamatuvar etkileri ile balın antioksidan ve doku onarıcı özelliklerinin KOAH patogenezinde önemli koruyucu/önleyici mekanizmalar oluşturabileceğini işaret etmektedir. Sonuç olarak, *Origanum* türleri ve bal, KOAH tedavisinde tamamlayıcı veya destekleyici bir seçenek olarak düşünülebilir; ancak bu etkinin ayrıntılı mekanizmalarını ve uzun vadeli klinik yansımalarını aydınlatmak için daha kapsamlı çalışmalar gereklidir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez kapsamında, PPE ile deneysel olarak KOAH modeli oluşturulan ratlarda, üç farklı tedavi yaklaşımının (*Origanum onites L.*, *Origanum minutiflorum* ve bal) akciğer dokusu ve sistemik inflamasyon üzerindeki etkileri incelendi.

Sham grubunda alveolar yıkım, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, artmış proinflamatuvar belirteç düzeyleri (IL-1 α , IL-33, HMGB1), yüksek MMP-9 ve düşük TIMP-1 seviyeleri gözlemlendi; ayrıca kan gazlarında pH düşüşü, pCO₂ artışı ve pO₂, sO₂ düşüşü belirgin hale geldi.

Tedavi uygulanan gruplarda, özellikle *Origanum minutiflorum* ve bal, MMP-9 seviyelerinin azalması, TIMP-1 seviyesinin (özellikle BAL'da) yükselmesi ve inflamatuvar medyatör düzeylerinin sham grubuna kıyasla düşmesi dikkat çekicidir. Bu durum, proteaz-anti proteaz dengesinin yeniden sağlanmasına ve hava yolu inflamasyonunun baskılanmasına katkıda bulunmuştur.

Kan gazı parametrelerinde tedavi gruplarında belirgin düzelme gözlemlendi, pH ve pO₂ düzeyleri artarken pCO₂ değerleri azaldı. Bu iyileşme eğilimi, akciğer fonksiyonlarındaki toparlanmanın ve doku oksijenlenmesinin arttığına bir göstergesi olarak değerlendirilebilir.

Histopatolojik olarak, amfizem derecesi sham grubunda en yüksek, bal tedavisi alan grupta en düşük bulundu. Lenfoid birikim yalnızca sham grubunda görülürken, tedavi gruplarında bu patolojik bulguya rastlanmadı. Tedaviler sonrasında, fibrozis ve granülom bulgusu gözlenmedi; ilave olarak inflamasyon skorları sham grubuna göre daha düşük değerlere ulaştı.

Origanum türleri ve bal ile yapılan tedavi protokolleri, kronik inflamatuvar süreç, immün modülasyon ve oksidatif hasar bakımından KOAH modelini kısmen iyileştirebilme potansiyeline sahiptir. Bu etki, doğal ürünlerin içerdiği fenolik, flavonoid ve uçucu yağ bileşenlerinin antiinflamatuvar, antioksidan ve immünmodülatör özellikleriyle ilişkilendirilebilir.

Daha sonraki çalışmalar için öneriler;

Daha uzun süreli deneyler: Fibrotik değişiklikler ve kalıcı doku yeniden şekillenmesi gibi KOAH'ın ileri dönem patolojik özelliklerini incelemek için tedavi ve izlem süresini uzatan çalışmalar yapılabilir.

Farklı doz ve kombinasyon çalışmaları: Origanum türlerinin ve balın optimum etki gösterdiği doz ve uygulama sıklığını belirlemek, ayrıca bu tedavileri farklı farmakolojik ajanlarla (örn. bronkodilatörler, kortikosteroidler) birlikte uygulayarak kombine etkilerini değerlendirmek yararlı olabilir.

Ayrıntılı mekanizma çalışmaları: Özellikle karvakrol, timol, p-simen gibi Origanum bileşenlerinin ve balın antiinflamatuvar ve proteaz-inhibitör etkilerini moleküler düzeyde (ör. NF- κ B, MAPK, PI3K/AKT gibi sinyal yolları) inceleyen in vitro ve in vivo araştırmalar yapılabilir.

Klinik çalışmalara geçiş: Elde edilen olumlu sonuçlar doğrultusunda, Origanum türleri ve balın KOAH hastalarında tamamlayıcı tedavi olarak kullanım potansiyeli değerlendirilebilir. Randomize kontrollü klinik çalışmalarda hastaların yaşam kalitesi, semptom skorları, akciğer fonksiyon testleri ve inflamatuvar belirteçler takip edilmelidir.

Çok boyutlu veri analizi: Gelecekte, histopatoloji, biyokimyasal parametreler, oksidatif stres göstergeleri, mikrobiyota profili ve immünmodülatör etkilerin hepsini kapsayacak bütüncül yaklaşımlar benimsenerek KOAH patogenezinin yönelik daha kapsamlı sonuçlar elde edilebilir.

Sonuç olarak, bu çalışma Origanum türleri ve balın, deneysel KOAH modelinde antiinflamatuvar, antioksidan ve proteaz dengeleyici etkiler ortaya koyabileceğini göstermiştir. Veriler, KOAH patogenezinin temel mekanizmalarında iyileşme sağlayabilecek doğal ajanlara yönelik araştırmaların sürdürülmesinin yararlı olacağını vurgulamaktadır. Uzun vadeli ve daha kapsamlı çalışmalarla, bu tedavilerin klinikte yararlı bir destek/yardımcı seçenek olarak kullanılıp kullanılmayacağı netleştirilebilir.

6. KAYNAKLAR

- Albayrak S, Aksoy A, 2019. Phenolic contents and biological activity of endemic *Origanum minutiflorum* grown in Turkey. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 53, 1.
- Albayrak S, Aksoy A, Sagdic O, Albayrak S, 2012. Antioxidant and antimicrobial activities of different extracts of some medicinal herbs consumed as tea and spices in Turkey. *Journal of Food Biochemistry*, 36, 5, 547-54.
- Alshailabi EM, Al-Zail NI, Alsalhin AA, 2024. Attenuation Acute Effects of Passive Smoking on Pulmonary Tissues in Rats by Bee Honey. *Ibn AL-Haitham Journal For Pure and Applied Sciences*, 37, 4, 86-96.
- Altintas A, Tabanca N, Tyihák E, Ott PG, Móricz ÁM, Mincsovcics E, Wedge DE, 2013. Characterization of volatile constituents from *Origanum onites* and their antifungal and antibacterial activity. *Journal of AOAC International*, 96, 6, 1200-8.
- Altundag S, Aslim B, Ozturk S, 2011. In vitro Antimicrobial Activities of Essential Oils from *Origanum minutiflorum* and *Sideritis erytrantha* subsp. *erytrantha* on Phytopathogenic Bacteria. *Journal of Essential Oil Research*, 23, 1, 4-8.
- ANLAŞ C, ALKAN FÜ, Sari A, Üstüner O, Bakirel T, 2017. *Origanum minutiflorum* O. Schwarz et. PH Davis' in terapötik potansiyelinin değerlendirilmesi. *FÜ Sağ. Bil. Vet. Derg*, 31, 1, 27-32.
- Balahbib A, El Omari N, Hachlafi NE, Lakhdar F, El Menyiy N, Salhi N, Mrabti HN, Bakrim S, Zengin G, Bouyahya A, 2021. Health beneficial and pharmacological properties of p-cymene. *Food and Chemical Toxicology*, 153, 112259.
- Baraldo S, Turato G, Saetta M, 2012. Pathophysiology of the small airways in chronic obstructive pulmonary disease. *Respiration*, 84, 2, 89-97.
- Baranauskaite J, Kubiliene A, Marksa M, Petrikaite V, Vitkevičius K, Baranauskas A, Bernatoniene J, 2017. The influence of different oregano species on the antioxidant activity determined using HPLC postcolumn DPPH method and anticancer activity of carvacrol and rosmarinic acid. *BioMed research international*, 2017, 1, 1681392.
- Barnes PJ, 2008. Immunology of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Nature Reviews Immunology*, 8, 3, 183-92.
- Barnes PJ, 2014. Cellular and molecular mechanisms of chronic obstructive pulmonary disease. *Clinics in chest medicine*, 35, 1, 71-86.
- Barnes PJ. Identifying molecular targets for new drug development for chronic obstructive pulmonary disease: what does the future hold? *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 508-22.
- Barnes PJ, 2016. Inflammatory mechanisms in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 138, 1, 16-27.
- Baser K, Özek T, Tümen G, Sezik E, 1993. Composition of the essential oils of Turkish *Origanum* species with commercial importance. *Journal of Essential Oil Research*, 5, 6, 619-23.
- Becer E, Mutlu Altundag E, Başer KHC, Vatansever HS, 2022. Cytotoxic activity and antioxidant effects of *Origanum onites* essential oil and its two major contents, carvacrol and p-cymene on human colorectal (HCT116) and hepatocellular carcinoma (HepG2) cell lines. *Journal of essential oil research*, 34, 6, 514-23.
- Borzone G, Liberona L, Olmos P, Sáez C, Meneses M, Reyes T, Moreno R, Lisboa C, 2007. Rat and hamster species differences in susceptibility to elastase-induced pulmonary emphysema relate to differences in elastase inhibitory capacity. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 293, 3, R1342-R9.
- Botelho FM, Bauer CM, Finch D, Nikota JK, Zavitz CC, Kelly A, Lambert KN, Piper S, Foster ML, Goldring JJ, 2011. IL-1 α /IL-1R1 expression in chronic obstructive pulmonary disease

- and mechanistic relevance to smoke-induced neutrophilia in mice. *PLoS One*, 6, 12, e28457.
- Brashier BB, Kodgule R, 2012. Risk factors and pathophysiology of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *J Assoc Physicians India*, 60, Suppl, 17-21.
- Byers DE, (2019). Linking VEGF deficiency and IL-33 upregulation in chronic obstructive pulmonary disease, *American Thoracic Society*. **61**: 550-1.
- Can Baser K, 2008. Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. *Current pharmaceutical design*, 14, 29, 3106-19.
- Canli K, Bozyel ME, Turu D, Benek A, Simsek O, Altuner EM, 2023. Biochemical, Antioxidant Properties and Antimicrobial Activity of Steno-Endemic *Origanum onites*. *Microorganisms*, 11, 8, 1987.
- Canli K, Bozyel ME, Turu D, Benek A, Simsek O, Altuner EM, 2023. Biochemical, Antioxidant Properties and Antimicrobial Activity of Steno-Endemic *Origanum onites*. *Microorganisms*, 11, 8.
- Cazzola M, Rogliani P, Stolz D, Matera MG, 2019. Pharmacological treatment and current controversies in COPD. *F1000Research*, 8.
- Celli B, Fabbri L, Criner G, Martinez FJ, Mannino D, Vogelmeier C, Montes de Oca M, Papi A, Sin DD, Han MK, 2022. Definition and nomenclature of chronic obstructive pulmonary disease: time for its revision. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 206, 11, 1317-25.
- Chen HY, Ma CH, Cao K-J, Chung-Man Ho J, Ziea E, Wong VT, Zhang Z-J, 2014. A systematic review and meta-analysis of herbal medicine on chronic obstructive pulmonary diseases. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014, 1, 925069.
- Chua LS, Rahaman NLA, Adnan NA, Eddie Tan TT, 2013. Antioxidant activity of three honey samples in relation with their biochemical components. *Journal of analytical methods in chemistry*, 2013, 1, 313798.
- Clarke R, Lundy FT, McGarvey L, 2015. Herbal treatment in asthma and COPD—current evidence. *Clinical Phytoscience*, 1, 1-7.
- Copur G, Arslan M, Duru M, Baylan M, Canogullari S, Aksan E, 2010. Use of oregano (*Origanum onites* L.) essential oil as hatching egg disinfectant. *African Journal of Biotechnology*, 9, 17, 2531-8.
- Corlateanu A, Mendez Y, Wang Y, Garnica RdJA, Botnaru V, Siafakas N, 2020. Chronic obstructive pulmonary disease and phenotypes: a state-of-the-art. *Pulmonology*, 26, 2, 95-100.
- Curtis JL, 2023. Understanding COPD Etiology, Pathophysiology, and Definition. *Respiratory Care*, 68, 7, 859-70.
- Dadalioglu I, Evrendilek GA, 2004. Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (*Origanum minutiflorum*), bay laurel (*Laurus nobilis*), Spanish lavender (*Lavandula stoechas* L.), and fennel (*Foeniculum vulgare*) on common foodborne pathogens. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52, 26, 8255-60.
- Di Stefano A, Coccini T, Roda E, Signorini C, Balbi B, Brunetti G, Ceriana P, (2018). Blood MCP-1 levels are increased in chronic obstructive pulmonary disease with prevalent emphysema, *Eur Respiratory Soc*.
- Dimic-Janjic S, Hoda MA, Milenkovic B, Kotur-Stevuljevic J, Stjepanovic M, Gompelmann D, Jankovic J, Miljkovic M, Milin-Lazovic J, Djurdjevic N, 2023. The usefulness of MMP-9, TIMP-1 and MMP-9/TIMP-1 ratio for diagnosis and assessment of COPD severity. *European journal of medical research*, 28, 1, 127.

- Doz E, Noulin N, Boichot E, Guénon I, Fick L, Le Bert M, Lagente V, Ryffel B, Schnyder B, Quesniaux VF, 2008. Cigarette smoke-induced pulmonary inflammation is TLR4/MyD88 and IL-1R1/MyD88 signaling dependent. *The Journal of Immunology*, 180, 2, 1169-78.
- Economou G, Panagopoulos G, Tarantilis P, Kalivas D, Kotoulas V, Travlos I, Polysiou M, Karamanos A, 2011. Variability in essential oil content and composition of *Origanum hirtum* L., *Origanum onites* L., *Coridothymus capitatus* (L.) and *Satureja thymbra* L. populations from the Greek island Ikaria. *Industrial Crops and Products*, 33, 1, 236-41.
- Erenler R, Demirtas I, Karan T, Gul F, Kayir O, Karakoc O, 2018. Chemical constituents, quantitative analysis and insecticidal activities of plant extract and essential oil from *Origanum onites* L. *Trends in Phytochemical Research*, 2, 2, 91.
- Erlund I, 2004. Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutrition research*, 24, 10, 851-74.
- Esa SA, Rawy AM, EL-Behissy MM, Kamel MH, El-Hwaity HMMM, 2014. Study of the level of sputum matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and tissue inhibitor metalloproteinase-1 (TIMP-1) in COPD patients. *Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis*, 63, 4, 861-7.
- Fallahzadeh A, Sharifnejad Tehrani Y, Sheikhy A, Ghamari S-H, Mohammadi E, Saedi Moghaddam S, Esfahani Z, Nasserinejad M, Shobeiri P, Rashidi M-M, 2022. The burden of chronic respiratory disease and attributable risk factors in North Africa and Middle East: findings from global burden of disease study (GBD) 2019. *Respiratory Research*, 23, 1, 268.
- Fentri E, Isradji I, Trisnadi S, 2024. The Effect Honey Has on SOD and Caspase9 Levels with Exposure to Cigarette Smoke in Wistar Rats. *Jurnal Profesi Medika: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 18, 2, 139-48.
- Ferguson GT, 2006. Why does the lung hyperinflate? *Proceedings of the American Thoracic Society*, 3, 2, 176-9.
- Ferhani N, Letuve S, Kozhich A, Thibaudeau O, Grandsaigne M, Maret M, Dombret M-C, Sims GP, Kolbeck R, Coyle AJ, 2010. Expression of high-mobility group box 1 and of receptor for advanced glycation end products in chronic obstructive pulmonary disease. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 181, 9, 917-27.
- Fu J, Lin S-h, Wang C-j, Li S-y, Feng X-y, Liu Q, Xu F, 2016. HMGB1 regulates IL-33 expression in acute respiratory distress syndrome. *International immunopharmacology*, 38, 267-74.
- Gabryelska A, Kuna P, Antczak A, Białasiewicz P, Panek M, 2019. IL-33 mediated inflammation in chronic respiratory diseases—understanding the role of the member of IL-1 superfamily. *Frontiers in immunology*, 10, 692.
- Gholami Mahtaj L, Boskabady M, Mohamadian Roshan N, 2015. The effect of *Zataria multiflora* and its constituent, carvacrol, on tracheal responsiveness and lung pathology in guinea pig model of COPD. *Phytotherapy Research*, 29, 5, 730-6.
- Ghorani V, Boskabady MH, Khazdair MR, Kianmeher M, 2017. Experimental animal models for COPD: a methodological review. *Tobacco induced diseases*, 15, 1-13.
- GOLD, 2021. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease 2021 report.- GOLD. (2021). .
- GOLD, 2023. Global Strategy For Prevention, Diagnosis And Management of COPD: 2023 Report.
- GOLD, 2024. GLOBAL STRATEGY FOR THE DIAGNOSIS, MANAGEMENT, AND PREVENTION OF CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE (2024 REPORT).

- Göze I, Göze Ö, Yelkovan I, Çetinus Ş, Saygin H, Ercan N, 2017. The Review of Certain In Vivo Antioxidant Effects on Essential Oils of *Origanum Minutiflorum* O Schwarz-Ph Davis, *Juniperus Excelsa* Bieb. subsp. *Excelsa* and Histopathologic Changes. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, 19, 2, 333-8.
- Göze İ, Alim A, Ercan N, Vural N, 2016. In vitro antimicrobial and antioxidant activities and chemical composition of essential oils of the leaf and flower of *Origanum minutiflorum* O. Schwarz et. PH Davis. *Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 1, 2, 19-24.
- Guo Y, Baschieri A, Amorati R, Valgimigli L, 2021. Synergic antioxidant activity of γ -terpinene with phenols and polyphenols enabled by hydroperoxyl radicals. *Food Chemistry*, 345, 128468.
- Gülhan PY, Ekici MS, Niyaz M, Gülhan M, Erçin ME, Ekici A, Aksoy N, 2020. Therapeutic Treatment with Abdominal Adipose Mesenchymal Cells Does Not Prevent Elastase-Induced Emphysema in Rats. *Turkish Thoracic Journal*, 21, 1, 14.
- Güllü İB, Albayrak S, Kaymak E, Yay A, 2023. Antidiabetic and antioxidant effect of *Origanum minutiflorum* O. Schwarz & PH Davis in streptozotocin-induced diabetic rats. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 51, 3, 259-70.
- Harris HE, Andersson U, Pisetsky DS, 2012. HMGB1: a multifunctional alarmin driving autoimmune and inflammatory disease. *Nature Reviews Rheumatology*, 8, 4, 195-202.
- Hodge G, Mukaro V, Reynolds P, Hodge S, 2011. Role of increased CD8/CD28null T cells and alternative co-stimulatory molecules in chronic obstructive pulmonary disease. *Clinical & Experimental Immunology*, 166, 1, 94-102.
- Hogg JC, Timens W, 2009. The pathology of chronic obstructive pulmonary disease. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 4, 1, 435-59.
- Hou C, Zhao H, Liu L, Li W, Zhou X, Lv Y, Shen X, Liang Z, Cai S, Zou F, 2011. High mobility group protein bl (HMGB1) in asthma: comparison of patients with chronic obstructive pulmonary disease and healthy controls. *Molecular medicine*, 17, 807-15.
- Huang Q, Li CD, Yang YR, Qin XF, Wang JJ, Zhang X, Du XN, Yang X, Wang Y, Li L, 2021. Role of the IL-33/ST2 axis in cigarette smoke-induced airways remodelling in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*, 76, 8, 750-62.
- İsmail S, Dönmez G, Özkan O, Aydemir İ, Özbey C, Tuğlu Mİ, 2020. Apoptotic and cytotoxic effect of *Origanum minutiflorum* on NB2A neuroblastoma cells. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 44, 2, 281-92.
- Ji M, Wang Y, Li X, Qian Z, 2015. Up-regulation of ICAM-1mRNA and IL-1 β mRNA in lung tissues of a rat model of COPD. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 8, 11, 21956.
- Jiang J, Wang M, Shen W, Wu J, Ma Q, Wang Z, Chen Z, Bian T, Ji N, Huang M, 2024. CD146 deficiency aggravates chronic obstructive pulmonary disease via the increased production of S100A9 and MMP-9 in macrophages. *International Immunopharmacology*, 127, 111410.
- Johnson SR, (2016). Untangling the protease web in COPD: metalloproteinases in the silent zone, *BMJ Publishing Group Ltd.* **71**: 105-6.
- Kaplan M, Yilmaz MM, Say R, Kopru S, Karaman K, 2020. Bioactive properties of hydroalcoholic extract from *Origanum onites* L. as affected by glycerol incorporation. *Saudi J Biol Sci*, 27, 8, 1938-46.
- Kim RY, Oliver BG, Wark PA, Hansbro PM, Donovan C, 2021. COPD exacerbations: targeting IL-33 as a new therapy. *The Lancet Respiratory Medicine*, 9, 11, 1213-4.
- Kitir Sen N, Duran A, 2023. A new approach on essential oil production of *Origanum onites* L.: Microbial fertilization and microwave extraction. *Heliyon*, 9, 9, e20211.

- Koç AU, Atakan Y, Küçüker H, Küçüker H, 2023. Some Physicochemical Characteristics of Denizli Thyme (*Origanum onites*) Honey. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20, 1, 127-33.
- Kordali S, Cakir A, Ozer H, Cakmakci R, Kesdek M, Mete E, 2008. Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. *Bioresource technology*, 99, 18, 8788-95.
- Kordis-Krapez M, Abram V, Kac M, Ferjancic S, 2001. Determination of organic acids in white wines by RP-HPLC. *Food Technology and Biotechnology*, 39, 2, 93-100.
- Kostić M, Ivanov M, Markovic T, Sanković Babić S, Barros L, Calhelha R, Sokovic M, Ciric A, 2022. An in vitro study of the *Origanum minutiflorum* O. Schwarz & PH Davis and *Coriandrum sativum* L. essential oils as chronic tonsillitis therapeutics: Antibacterial, antibiofilm, antioxidant, and cytotoxic activities. *Journal of Essential Oil Research*, 34, 6, 533-43.
- Kubiliene A, Munius E, Songailaite G, Kokyte I, Baranauskaite J, Liekis A, Sadauskiene I, 2023. A Comparative Evaluation of Antioxidant Activity of Extract and Essential Oil of *Origanum onites* L. In Vivo. *Molecules*, 28, 14, 5302.
- Lafraxo H, Bakour M, Laaroussi H, El Ghouzi A, Ousaaid D, Aboulghazi A, Lyoussi B, 2021. The synergistic beneficial effect of thyme honey and olive oil against diabetes and its complications induced by alloxan in wistar rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, 1, 9949056.
- Lee JH, Hailey KL, Vitorino SA, Jennings PA, Bigby TD, Breen EC, 2019. Cigarette smoke triggers IL-33-associated inflammation in a model of late-stage chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 61, 5, 567-74.
- Lee S-H, Goswami S, Grudo A, Song L-z, Bandi V, Goodnight-White S, Green L, Hacken-Bitar J, Huh J, Bakaeen F, 2007. Antielastin autoimmunity in tobacco smoking-induced emphysema. *Nature medicine*, 13, 5, 567-9.
- Li H, Cui D, Tong X, Ma N, Gao Y, Cui X, Lu L, Wang D, Liang Y, 2002. The role of matrix metalloproteinases in extracellular matrix remodelling in chronic obstructive pulmonary disease rat models. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi*, 41, 6, 393-8.
- Li P, Han J, Zhang D, Cao S, Su C, 2020. Effects of dexmedetomidine on oxidative stress and inflammatory response in lungs during mechanical ventilation in COPD rats. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 19, 2, 1219-24.
- Li Q, Sun J, Cao Y, Liu B, Li L, Mohammadtursun N, Zhang H, Dong J, Wu J, 2020. Bu-Shen-Fang-Chuan formula attenuates T-lymphocytes recruitment in the lung of rats with COPD through suppressing CXCL9/CXCL10/CXCL11-CXCR3 axis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 123, 109735.
- Li Y, Lu Y, Zhao Z, Wang J, Li J, Wang W, Li S, Song L, 2016. Relationships of MMP-9 and TIMP-1 proteins with chronic obstructive pulmonary disease risk: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Research in Medical Sciences*, 21, 1, 12.
- Li Ya LY, Wang Ying WY, Li JianSheng LJ, Li SuYun LS, Tian YanGe TY, Jiang SuLi JS, Deng Li DL, Wang YuanYuan WY, 2014. Influence and long-term effect of Tiaobu Feishen therapies on expressions of MMP-2, MMP-9 and TIMP-1 mRNAs in lungs in rats with COPD.
- Lin L, Li J, Song Q, Cheng W, Chen P, 2022. The role of HMGB1/RAGE/TLR4 signaling pathways in cigarette smoke-induced inflammation in chronic obstructive pulmonary disease. *Immunity, inflammation and disease*, 10, 11, e711.
- Liu J, Zhong X, HE Z, YA L, Qin X, Zhang J, Chen G, 2015. The value of CD8+ T cell expression in rats with chronic bronchitis. *Journal of Medical Postgraduates*, 16-9.

- Liu W, Liu Z, Zhang W, Cai S, 2018. Ulinastatin protects the lungs of COPD rats through the HMGB1/TLR4 signaling pathway. *Oncology Letters*, 16, 3, 4057-63.
- Lu Lei LL, Wang ChengYang WC, Liu XiangGuo LX, 2013. Effects of Liuwei Buqi capsule on pathological morphology of lung tissue and expressions of MMP-9, MMP-12 in airway remodeling of COPD rat model with lung-Qi deficiency syndrome.
- Maeno T, Houghton AM, Quintero PA, Grumelli S, Owen CA, Shapiro SD, 2007. CD8+ T Cells are required for inflammation and destruction in cigarette smoke-induced emphysema in mice. *The Journal of Immunology*, 178, 12, 8090-6.
- Mahtaj LG, Feizpour A, Kianmehr M, Soukhtanloo M, Boskabady MH, 2015. The effect of carvacrol on systemic inflammation in guinea pigs model of COPD induced by cigarette smoke exposure. *Pharmacological Reports*, 67, 140-5.
- Malhotra D, Thimmulappa R, Vij N, Navas-Acien A, Sussan T, Merali S, Zhang L, Kelsen SG, Myers A, Wise R, 2009. Heightened endoplasmic reticulum stress in the lungs of patients with chronic obstructive pulmonary disease: the role of Nrf2-regulated proteasomal activity. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 180, 12, 1196-207.
- Martinez-Garcia MA, Miravittles M, 2017. Bronchiectasis in COPD patients: more than a comorbidity? *International journal of chronic obstructive pulmonary disease*, 1401-11.
- Matera MG, Cardaci V, Cazzola M, Rogliani P, 2015. Safety of inhaled corticosteroids for treating chronic obstructive pulmonary disease. *Expert opinion on drug safety*, 14, 4, 533-41.
- Matera MG, Cazzola M, Page C, 2021. Prospects for COPD treatment. *Current Opinion in Pharmacology*, 56, 74-84.
- Menezes AMB, Hallal PC, Perez-Padilla R, Jardim J, Muiño A, Lopez M, Valdivia G, De Oca MM, Talamo C, Pertuze J, 2007. Tuberculosis and airflow obstruction: evidence from the PLATINO study in Latin America. *European Respiratory Journal*, 30, 6, 1180-5.
- Mercer P, Shute J, Bhowmik A, Donaldson G, Wedzicha J, Warner J, 2005. MMP-9, TIMP-1 and inflammatory cells in sputum from COPD patients during exacerbation. *Respiratory research*, 6, 1-9.
- Molan PC, 1992. The antibacterial activity of honey: 1. The nature of the antibacterial activity. *Bee world*, 73, 1, 5-28.
- Morichika D, Taniguchi A, Oda N, Fujii U, Senoo S, Itano J, Kanehiro A, Kitaguchi Y, Yasuo M, Hanaoka M, 2021. Loss of IL-33 enhances elastase-induced and cigarette smoke extract-induced emphysema in mice. *Respiratory Research*, 22, 1, 150.
- Muda TFMT, Ismail ZIM, Abdullah S, Simbak NB, Haque M, 2014. The Effects of Honey on Inflammatory Cells in Cigarette Smoke Affected Lungs in Rats: A Preliminary Study. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 7, 12, 1382-6.
- Muhamad R, Draman N, Aziz AA, Abdullah S, Jaeb MZM, 2018. The effect of Tualang honey on the quality of life of patients with chronic obstructive pulmonary disease: a randomized controlled trial. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 13, 1, 42-50.
- Murray KN, Parry-Jones AR, Allan SM, 2015. Interleukin-1 and acute brain injury. *Frontiers in cellular neuroscience*, 9, 18.
- Nabissi M, Marinelli O, Morelli MB, Nicotra G, Iannarelli R, Amantini C, Santoni G, Maggi F, 2018. Thyme extract increases mucociliary-beating frequency in primary cell lines from chronic obstructive pulmonary disease patients. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 105, 1248-53.
- O'donnell D, Laveneziana P, 2006. Physiology and consequences of lung hyperinflation in COPD. *European Respiratory Review*, 15, 100, 61-7.

- Osei ET, B. Mostaçõ-Guidolin L, Hsieh A, Warner SM, Al-Fouadi M, Wang M, Cole DJ, Maksym GN, S. Hallstrand T, Timens W, 2020. Epithelial-interleukin-1 inhibits collagen formation by airway fibroblasts: Implications for asthma. *Scientific Reports*, 10, 1, 8721.
- Osei ET, Brandsma C-A, Timens W, Heijink IH, Hackett T-L, 2020. Current perspectives on the role of interleukin-1 signalling in the pathogenesis of asthma and COPD. *European Respiratory Journal*, 55, 2.
- Ozdemir N, Ozgen Y, Kiralan M, Bayrak A, Arslan N, Ramadan MF, 2018. Effect of different drying methods on the essential oil yield, composition and antioxidant activity of *Origanum vulgare* L. and *Origanum onites* L. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12, 820-5.
- Özer Z, 2020. Chemical composition and antioxidant activities of leaf and flower essential oils of *Origanum onites* L. growing in mount Ida-Turkey. *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*, 7, 3, 813-20.
- Özkan A, Erdoğan A, 2011. A comparative evaluation of antioxidant and anticancer activity of essential oil from *Origanum onites* (Lamiaceae) and its two major phenolic components. *Turkish Journal of Biology*, 35, 6, 735-42.
- Özkök A, Koru Ö, Sorkun K, 2016. Microbiological analysis and antibacterial effects of Turkish thyme honey. *Bee World*, 93, 4, 98-101.
- Pehlivan T, Gül A, 2016. Türkiye’de üretilen keçiyoynuzu, kekik ve sütleğen ballarının kimyasal özellikleri. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21, 1.
- Peng X, Zhang X, Sharma G, Dai C, 2024. Thymol as a Potential Neuroprotective Agent: Mechanisms, Efficacy, and Future Prospects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72, 13, 6803-14.
- Peng Z, Zhang W, Qiao J, He B, 2018. Melatonin attenuates airway inflammation via SIRT1 dependent inhibition of NLRP3 inflammasome and IL-1 β in rats with COPD. *International Immunopharmacology*, 62, 23-8.
- Peter S, Sotondoshe N, Aderibigbe BA, 2024. Carvacrol and Thymol Hybrids: Potential Anticancer and Antibacterial Therapeutics. *Molecules*, 29, 10, 2277.
- Pierre A, Lemaire F, Meghraoui-Kheddar A, Audonnet S, Héry-Huynh S, Le Naour R, 2019. Impact of aging on inflammatory and immune responses during elastin peptide-induced murine emphysema. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 316, 4, L608-L20.
- Saetta M, Baraldo S, Turato G, Beghé B, Casoni GL, Bellettato CM, Rea F, Zuin R, Fabbri LM, Papi A, 2003. Increased proportion of CD8+ T-lymphocytes in the paratracheal lymph nodes of smokers with mild COPD. *Sarcoidosis, vasculitis, and diffuse lung diseases: official journal of WASOG*, 20, 1, 28-32.
- Safarian N, Shakib P, Rajabzadeh A, Zarei L, 2023. The effect of thyme honey on the histopathological changes of the testis in relation to the side effects of Valproic acid in adult male Wistar rats. *Andrologia*, 2023, 1, 9913454.
- Salvi S, Kumar GA, Dhaliwal R, Paulson K, Agrawal A, Koul PA, Mahesh P, Nair S, Singh V, Aggarwal AN, 2018. The burden of chronic respiratory diseases and their heterogeneity across the states of India: the Global Burden of Disease Study 1990–2016. *The Lancet Global Health*, 6, 12, e1363-e74.
- Sandelowsky H, Weinreich UM, Aarli BB, Sundh J, Høines K, Stratelis G, Løkke A, Janson C, Jensen C, Larsson K, 2021. COPD—do the right thing. *BMC family practice*, 22, 1, 244.
- Sarac N, Ugur A, Duru M, Varol O. Antimicrobial activity, antioxidant activity and chemical composition of *Origanum onites* L. and *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) ietswaart from Mugla (Turkey). I International Medicinal and Aromatic Plants Conference on Culinary Herbs 826, 397-404.

- Shang L, LI Y, JI S, XIE W, SHANG H, CHEN Z, LIU G, WANG Q, 2023. Effect of modified Erchentang on bronchioles of rats with chronic obstructive pulmonary disease by HMGB1/RAGE/NF- κ B signaling pathway. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 44-54.
- Sharifi-Rigi A, Heidarian E, Zal F, 2024. Protective Effects of Hydroalcoholic Leaf Extract of *Origanum Vulgare* against Paraquat-induced Lung Toxicity in Rats: The Role of the Inflammation-related Markers and Oxidative Stress. *The Natural Products Journal*, 14, 7, 1-9.
- Shiraishi M, Yoshida M, Aritomi T, Murakami H, Toyoshima H, Senju S, Ishibashi M, Watanabe K, 1996. Levels of α -elastin and of Desmosine as Indexes of Elastase-Induced Lung Injury in Rats. *The Japanese journal of thoracic diseases*, 34, 4, 404-12.
- Silverman EK, 2020. Genetics of COPD. *Annual review of physiology*, 82, 1, 413-31.
- Sohrabi F, Dianat M, Badavi M, Radan M, Mard SA, 2021. Gallic acid suppresses inflammation and oxidative stress through modulating Nrf2-HO-1-NF- κ B signaling pathways in elastase-induced emphysema in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 40, 56822-34.
- Sokmen A, Abdel-Baki A-AS, Al-Malki ES, Al-Quraishy S, Abdel-Haleem HM, 2020. Constituents of essential oil of *Origanum minutiflorum* and its in vitro antioxidant, scolicidal and anticancer activities. *Journal of King Saud University-Science*, 32, 4, 2377-82.
- Spyridopoulou K, Fitsiou E, Bouloukosta E, Tiptiri-Kourpeti A, Vamvakias M, Oreopoulou A, Papavassilopoulou E, Pappa A, Chlichlia K, 2019. Extraction, chemical composition, and anticancer potential of *Origanum onites* L. essential oil. *Molecules*, 24, 14, 2612.
- STOCKLEY RA, 1999. Neutrophils and protease/antiprotease imbalance. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 160, supplement_1, S49-S52.
- Stockley RA, 2002. Neutrophils and the pathogenesis of COPD. *Chest*, 121, 5, 151S-5S.
- Sun J, Bao J, Shi Y, Zhang B, Yuan L, Li J, Zhang L, Sun M, Zhang L, Sun W, 2017. Effect of simvastatin on MMPs and TIMPs in cigarette smoke-induced rat COPD model. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, 717-24.
- Suwara M, Green N, Borthwick L, Mann J, Mayer-Barber K, Barron L, Corris P, Farrow S, Wynn T, Fisher A, 2014. IL-1 α released from damaged epithelial cells is sufficient and essential to trigger inflammatory responses in human lung fibroblasts. *Mucosal immunology*, 7, 3, 684-93.
- Sze MA, Dimitriu PA, Suzuki M, McDonough JE, Campbell JD, Brothers JF, Erb-Downward JR, Huffnagle GB, Hayashi S, Elliott WM, 2015. Host response to the lung microbiome in chronic obstructive pulmonary disease. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 192, 4, 438-45.
- Şarer E, *Origanum minutiflorum* O. Schwarz et PH Davis Uçucu Yağının Bileşimi ve Antimikrobiyal Aktivitesi: Chemical Composition and Antimicrobial Properties of the Essential Oil of *Origanum minutiflorum* O.
- Şarer E, Pançalı S, Yıldız S, 1996. *Origanum minutiflorum* O. Schwarz et PH Davis uçucu yağının bileşimi ve antimikrobiyal aktivitesi. *Ankara Ecz. Fak. Der*, 25, 1, 29-38.
- Tasdemir D, Kaiser M, Demirci B, Demirci F, Baser KHC, 2019. Antiprotozoal Activity of Turkish *Origanum onites* Essential Oil and Its Components. *Molecules*, 24, 23.
- Tepe B, Cakir A, Sihoglu Tepe A, 2016. Medicinal uses, phytochemistry, and pharmacology of *Origanum onites* (L.): A Review. *Chemistry & Biodiversity*, 13, 5, 504-20.
- Toker R, Gölükcü M, Tokgöz H, 2017. Effects of distillation times on essential oil compositions of *Origanum minutiflorum* O. Schwarz Et. and PH Davis. *Journal of Essential Oil Research*, 29, 4, 330-5.

- Toncer O, Karaman S, KIZIL S, Diraz E, 2009. Changes in essential oil composition of oregano (*Origanum onites* L.) due to diurnal variations at different development stages. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 37, 2, 177-81.
- Tracy E, Bowman M, Henderson B, Baumann H, 2012. Interleukin-1 α is the major alarmin of lung epithelial cells released during photodynamic therapy to induce inflammatory mediators in fibroblasts. *British journal of cancer*, 107, 9, 1534-46.
- Tungmunnithum D, Thongboonyou A, Pholboon A, Yangsabai A, 2018. Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: An overview. *Medicines*, 5, 3, 93.
- Uh S-T, Koo SM, Kim Y, Kim K, Park S, Jang AS, Kim D, Kim YH, Park C-S, 2017. The activation of NLRP3-inflammasome by stimulation of diesel exhaust particles in lung tissues from emphysema model and RAW 264.7 cell line. *The Korean Journal of Internal Medicine*, 32, 5, 865.
- Vanti G, Tomou EM, Stojkovic D, Ciric A, Bilia AR, Skaltsa H, 2021. Nanovesicles Loaded with *Origanum onites* and *Satureja thymbra* Essential Oils and Their Activity against Food-Borne Pathogens and Spoilage Microorganisms. *Molecules*, 26, 8.
- Vardar-Ünlü G, Ünlü M, Dönmez E, Vural N, 2007. Chemical composition and in vitro antimicrobial activity of the essential oil of *Origanum minutiflorum* O Schwarz & PH Davis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87, 2, 255-9.
- Veljovic K, Tesevic V, Mitrovic H, Stankovic M, 2023. Essential oil of *Origanum minutiflorum* exhibits anti-inflammatory and antioxidative effects in human bronchial cells and antimicrobial activity on lung pathogens. *Journal of Herbal Medicine*, 39, 100651.
- Vernooy JH, Lindeman JH, Jacobs JA, Hanemaaijer R, Wouters EF, 2004. Increased activity of matrix metalloproteinase-8 and matrix metalloproteinase-9 in induced sputum from patients with COPD. *Chest*, 126, 6, 1802-10.
- Vieira GC, De Lima JF, De Figueiredo RC, Mascarenhas SR, Bezerra-Santos CR, Piuvezam MR, 2013. Inhaled *Cissampelos sympodialis* Down-Regulates Airway Allergic Reaction by Reducing Lung CD3+ T Cells. *Phytotherapy Research*, 27, 6, 916-25.
- Wang C, Li Z, Liu X, Peng Q, Li F, Li D, Wang C, 2015. Effect of Liuweibuqi capsule, a Chinese patent medicine, on the JAK1/STAT3 pathway and MMP9/TIMP1 in a chronic obstructive pulmonary disease rat model. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 35, 1, 54-62.
- Wang D, Du Q, Li H, Wang S, 2016. The isosteroid alkaloid imperialine from bulbs of *Fritillaria cirrhosa* mitigates pulmonary functional and structural impairment and suppresses inflammatory response in a COPD-like rat model. *Mediators of inflammation*, 2016, 1, 4192483.
- Wang G, Mohammadtursun N, Lv Y, Zhang H, Sun J, Dong J, 2018. Baicalin Exerts Anti-Airway Inflammation and Anti-Remodelling Effects in Severe Stage Rat Model of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018, 1, 7591348.
- Wang L, Sun J, Li W, Lv Y, Shi W, Wang G, Zhao C, 2017. Protective effect of eucalyptus oil on pulmonary destruction and inflammation in chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in rats. *Journal of Medicinal Plants Research*, 11, 6, 129-36.
- Wang X-L, Li T, Li J-H, Miao S-Y, Xiao X-Z, 2017. The effects of resveratrol on inflammation and oxidative stress in a rat model of chronic obstructive pulmonary disease. *Molecules*, 22, 9, 1529.
- Wen C, Yu Z, Wang J, Deng Q, Deng J, Sun Z, Ye Q, Ye Z, Qin K, Peng X, 2024. Inhalation of *Citrus Reticulata* essential oil alleviates airway inflammation and emphysema in COPD rats through regulation of macrophages. *Journal of Ethnopharmacology*, 320, 117407.

- WHO, 2020. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD): Fact sheet. World Health Organization.
- Wu W, Chen X, Liu X, Liu C, Lu G, 2016. Heliox-driven nebulization has a positive effect on the lung function in lipopolysaccharide-induced chronic obstructive pulmonary disease rat model. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 22, 4100.
- Wu Z, Tan B, Zhang H, Guo Y, Tu Y, Qiu F, Yang A, 2017. Effects of sodium houthuyfonate on pulmonary inflammation in COPD model rats. *Inflammation*, 40, 2109-17.
- Xu F, Lin J, Cui W, Kong Q, Li Q, Li L, Wei Y, Dong J, 2018. *Scutellaria baicalensis* Attenuates Airway Remodeling via PI3K/Akt/NF- κ B Pathway in Cigarette Smoke Mediated-COPD Rats Model. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018, 1, 1281420.
- Xu W, Wu J, Feng Y, Zhu J, Cui R, 2022. Clinical significance of serum HMGB1 in COPD and correlation with severity of airflow restriction and immune function. *Revista Romana de Medicina de Laborator*, 30, 2, 173-81.
- Yaldiz G, Sekeroglu N, Özgüven M, Kirpik M, 2005. Seasonal and diurnal variability of essential oil and its components in *Origanum onites* L. grown in the ecological conditions of Cukurova. *Grasas y Aceites*, 56, 4, 254-8.
- Yang X-p, Zhou Z-s, Hu H-b, Wang P-l, Yin B, 2011. Effects of Gubenkeli capsule on matrix metalloproteinase 9 and tissue inhibitor of metalloproteinase1 levels in lung tissue of a rat model of chronic obstructive pulmonary disease. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 15, 11, 2087.
- Yang YiBao YY, Feng YuQing FY, Liang AiWu LA, Pan Ling PL, Liang Wei LW, Yang HongMei YH, Luo MeiQun LM, Tan YuPing TY, 2018. Effects of Ginkgo biloba Extract on T cell subsets in rats with chronic obstructive pulmonary disease.
- Yang Z-S, Yan J-Y, Han N-P, Zhou W, Cheng Y, Zhang X-M, Li N, Yuan J-L, 2016. Anti-inflammatory effect of Yu-Ping-Feng-San via TGF- β 1 signaling suppression in rat model of COPD. *Iranian journal of basic medical sciences*, 19, 9, 993.
- Yanqing W, Nina S, Zhaozhong C, Li T, Mouyue W, 2014. Optimal time to use low molecular weight heparin on prethrombotic state of rat chronic obstructive pulmonary disease model. *Chinese Medical Journal*, 127, 3, 518-21.
- Yılar M, Bayar Y, Onaran A, 2019. Chemical composition and allelopathic effect of *Origanum onites* L. essential oil. *Plant Protection Bulletin*, 59, 3, 71-8.
- Yıldız G, Demirci B, TEMEL HE, Kirimer N, 2023. *Origanum minutiflorum* O. Schwarz et PH Davis essential oil: enzyme inhibitory activities and chemical composition. *Journal of Research in Pharmacy*, 27, 5.
- Yıldız G, Temel HE, Ağalar HG, Kirimer N, 2023. *Origanum minutiflorum*: phytochemical profile and inhibitory effects on key enzymes associated with inflammation. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 157, 4, 858-64.
- Yu W-C, Cong J-P, Mi L-Y, 2018. Expressions of TOLL-like receptor 4 (TLR-4) and matrix metalloproteinase 9 (MMP-9)/Tissue inhibitor of metalloproteinase 1 (TIMP-1) in pulmonary blood vessels with chronic obstructive pulmonary diseases and their relationships with pulmonary vascular remodelling. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 64, 4, 361-7.
- Zare Z, Balouchi A, Shahdadi H, Bandadni E, 2016. The effect of honey on relieving coughs in elderly patients diagnosed with chronic obstructive pulmonary disease: A clinical trial. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 8, 8, 1218-21.
- Zhang H, Guo H, Zhang Y, Liu M, Ai K, Su Y, Li M, Li T, 2014. Effects of electroacupuncture intervention on expression of pulmonary metalloproteinase-9 and tissue inhibitor-1

- proteins in rats with chronic obstructive pulmonary disease. *Zhen ci yan jiu= Acupuncture Research*, 39, 5, 367-71.
- Zhang K, Zhang Y, Cheng Y-J, Lu L, 2008. Effects of Shenqi Bufe Tang on expressions of NF-kappaB, MMP-9 and TIMP-1 in airway remodeling of COPD rat model with lung-Qi deficiency syndrome. *Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo Zhongyao Zazhi= China Journal of Chinese Materia Medica*, 33, 18, 2129-32.
- Zhang L, Shi Y, Yuan L, Li X, Wang Y, Wang L, Zhang B, Sun W, 2015. Simvastatin re-balance the dis-regulated MMP-9 and MMP-12 versus TIMP-1 in rat chronic obstructive pulmonary disease model. *Journal of Biomaterials and Tissue Engineering*, 5, 11, 909-13.
- Zhang M, Xie Y, Yan R, Shan H, Tang J, Cai Y, Yin J, Chen M, Zhang J, Yang X, 2016. Curcumin ameliorates alveolar epithelial injury in a rat model of chronic obstructive pulmonary disease. *Life sciences*, 164, 1-8.
- Zhou X-M, Hou G, Gu D-X, Wang Q-Y, Zhao L, 2017. Peroxisome proliferator-activated receptor- γ in induced sputum is correlated with MMP-9/TIMP-1 imbalance and formation of emphysema in COPD patients. *Journal of Thoracic Disease*, 9, 10, 3703.
- Zhou Y, Tan X, Kuang W, Liu L, Wan L, 2012. Erythromycin ameliorates cigarette-smoke-induced emphysema and inflammation in rats. *Translational Research*, 159, 6, 464-72.