

**KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**PROPOLİSİN KRONİK ÖNGÖRÜLEMİYEN HAFİF STRES
UYGULANAN ERKEK WİSTAR ALBİNO SIÇANLARININ
HORMON VE ANTIOKSİDAN ENZİMLERİNE ETKİLERİ**

RABİA KELOĞLAN

KOCAELİ 2020

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PROPOLİSİN KRONİK ÖNGÖRÜLEMİYEN HAFİF STRES
UYGULANAN ERKEK WİSTAR ALBİNO SIÇANLARININ
HORMON VE ANTİOKSİDAN ENZİMLERİNE ETKİLERİ

RABİA KELOĞLAN

Dr. Öğr. Üyesi Fevzi UÇKAN

Danışman, Kocaeli Üniversitesi

.....

Prof. Dr. Sibel TAŞ

Jüri Üyesi, Uludağ Üniversitesi

.....

Doç. Dr. Halim Aytekin ERGÜL

Jüri Üyesi, Kocaeli Üniversitesi

.....

Tezin Savunulduğu Tarih: 13.07.2020

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek öğretim tez çalışmam süresince bana yol gösteren ve bilgisini esirgemeyen danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Fevzi UÇKAN'a,
Tez çalışmam boyunca yardım ve desteğini her zaman hissettiğim ve birlikte çalışmaktan memnuniyet duyduğum sevgili Biyolog ZülbiyeDEMİRTÜK'e,
Tüm yüksek öğrenim sürecinde yanımda yer alan değerli Biyoloji Anabilim Dalı'nın öğretim üyelerine,
Araştırmamda kullanmak üzere deney hayvanlarından örnek almama izin veren Veteriner Hekim Cüneyt ÖZER'e,
Hayatımın her döneminde yanımda olan, eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, sevgilerini daima hissettiğim Annem Perihan KELOĞLAN ve Babam Yusuf KELOĞLAN'a ve kardeşlerime,
En samimi duygularıyla teşekkürlerimi sunarım...
Bu tez, Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinasyon Birimi tarafından 2019/041 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Temmuz – 2020

Rabia KELOĞLAN

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iii
TABLolar DİZİNİ.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ÖZET.....	vii
ABSTRACT	viii
GİRİŞ	1
1. GENEL BİLGİLER	4
1.1. Major Depresif Bozukluk	4
1.2. Major Depresif Bozukluk Temel Türleri	5
1.2.1. Majör depresif bozukluk alt tipleri.....	5
1.3. Major Depresif Bozukluğun Epidemiyolojisi	7
1.4. Monoamin Hipotezi ve Antidepresan Tedavi	8
1.5. Stres	10
1.5.1. Stresin hipotalamo-pituiter-adrenal eksenin ve otonom sinir sisteminin rolü.....	12
1.5.2. Stresin steroid rolü	14
1.6. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller	16
1.7. Propolis.....	25
1.7.1. Propolisin kimyasal özellikleri.....	27
2. GEREÇ VE YÖNTEM	31
2.1. Gereçler	31
2.2. Deney Hayvanları ve Deney Grupları	31
2.4. Karaciğer ve Böbrek Dokusunda Yapılan İncelemeler.....	33
2.5. Serumda Yapılan İncelemeler	39
2.6. İstatiksel İncelemeler.....	40
3. BULGULAR	41
3.1. Karaciğerde Elde Edilen Bulgular.....	41
3.2. Böbrekde Elde Edilen Bulgular.....	43
3.3. Serumda Elde Edilen Bulgular	43
4. TARTIŞMA	42
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	63
KAYNAKLAR.....	64
EKLER	73
KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER	74
ÖZGEÇMİŞ	76

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Kortizol salınımı negatif ve pozitif	14
Şekil 1.2. Kolesterolde kortizol (insan veya sıçanlarda kortikosteron)	15
Şekil 1.3. Kortizolün genel etkileri	16
Şekil 1.4. Oksidatif denge	17
Şekil 1.5. O ₂ 'nin univalent redüksiyonu sonucu serbest oksijen radikali üretimi.....	21
Şekil 1.6. Hidroksil radikali ve hücredeki çeşitli moleküllere etkileri	19
Şekil 1.7. Serbest radikal türlerine bağlı gerçekleşen lipit.....	23
Şekil 1.8. Gıda teknolojisinde propolis kullanımı	27
Şekil 3.1. Stres ve propolis uygulanan sıçanlarda karaciğer (B), böbrek (A) dokularında ve serumda (C) proteinlerin ileri oksidasyon ürünleri (AOPP) düzeyleri üzerine etkisi (Ortalama±SD)	47
Şekil 3.2. Stres ve propolis uygulanan sıçanlarda karaciğer (B) ve böbrek (A) dokularında superoksitdismutaz (SOD) aktiviteleri üzerine etkisi (Ortalama±SD).....	48
Şekil 3.3. Stres ve propolis uygulanan sıçanlarda karaciğer (B) ve böbrek (A) dokularında glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktiviteleri üzerine etkisi (Ortalama±SD).....	49
Şekil 3.4. Stres ve propolis uygulanan sıçanların karaciğer (B), böbrek (A) dokuları ve serumda (C) malondialdehit (MDA) düzeyleri üzerine etkisi (Ortalama±SD).....	50
Şekil 3.5. Stres ve propolis uygulanan sıçanların karaciğer, böbrek dokularında glutatyon (GSH) düzeyleri üzerine etkisi (Ortalama±SD)	51
Şekil 3.6. Stres ve propolis uygulanan sıçanların karaciğer (B), böbrek (A) dokuları ve serumda (C) antioksidan aktivite (FRAP) düzeyleri üzerine etkisi (Ortalama±SD).....	52

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1.1. Major depresyon risk faktörler	8
Tablo 1.2. Oksijen ve azot kaynaklı reaktif özellikli bileşikler	18
Tablo 1.3. Organizmadaki antioksidan sistem elemanları	23
Tablo 1.4. Propolisin kimyasal yapısı	28
Tablo 3.1. Stres ve propolis uygulanan sıçanlarda karaciğer melanoaldehit (MDA), proteinlerin ileri oksidasyon ürünleri (AOPP), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve superoksit dismutaz (SOD) aktiviteleri üzerine etkisi	42
Tablo 3.2. Stres ve propolis uygulanan sıçanlarda karaciğer katalaz (KAT) antioksidan aktivite (FRAP) değerleri üzerine etkisi	42
Tablo 3.3. Stres ve propolis uygulanan sıçanlarda böbrek melanoaldehit (MDA), proteinlerin ileri oksidasyon ürünleri (AOPP) ve superoksitdismutaz (SOD) aktiviteleri üzerine etkisi.....	44
Tablo 3.4. Stres ve propolis uygulanan sıçanlarda böbrek glutatyon (GSH) düzeyleri, antioksidan aktivite (FRAP) ve glutatyonperoksidaz (GSH-Px) aktiviteleri üzerine etkisi	45
Tablo 3.5. Stres ve propolis uygulanan sıçanlarda Adrenokortikotropik hormon (ACTH) düzeyi, Kortizol (KORT) değerleri ve Katalaz (KAT) aktivitesi böbrek dokusu üzerine etkisi.....	45
Tablo 3.6. Stres ve propolis uygulanan sıçanlarda serum melanoaldehit (MDA), proteinlerin ileri oksidasyon ürünleri (AOPP) ve antioksidan aktivite (FRAP) değerleri üzerine etkisi	46
Tablo 3.7. Stres ve propolis uygulanan sıçanlarda serum adenokortikotropik hormon (ACTH) ve kortizol (KORT) düzeyleri üzerine etkisi	46

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar

ACTH	: Adrenokortikotropik Hormon
ANOVA	: Tek Yönlü Varyans Analizi
AOPP	: Proteinlerin İleri Oksidasyon Ürünleri
BCA	: Bişinkoninik Asit
CAPE	: Kafeik Asit
CRH	: Kortikotropik Hormon
DETAB	: Deneş Hayvanları Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi
DHAP	: Dihidroksiaseton Fosfat
DNPH	: 2,4-dinitrofenilhidrazin
DTNB	: 2-nitro-5 tiyobenzoik asit
EKT	: Elektrokonvulzif Terapi
FRAP	: Ferric Reducing Antioxidant Power (Antioksidan Kapasite)
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
GSH-R	: Glutasyon Redüktaz
GSH-T	: Glutasyon Transferaz
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
HO [•]	: Hidroksil
HPA	: Hipotalamo Pitüiter Adrenal Eksen
KAT	: Katalaz
KI	: Potasyum İyodür
KORT	: Kortizol
KÖHS	: Kronik Öngörülemeyen Hafif Stres
LDL	: Düşük Dansiteli Kolesterol
LH	: Doymamış Yağ Asidi
LOOH	: Lipit Hidroperoksit
MBD	: Majör Depresif Bozukluk
MDA	: Malondialdehit
MOA	: Monoamin Oksidaz
NO [•]	: Nitrik Oksit
O ₂ ^{•-}	: Süperoksit
ONOO ⁻	: Peroksi Nitrit
POMC	: Propiomelanokortin
PSS	: Presinaptik Kol
RO [•]	: Alkoksil
ROO [•]	: Peroksil
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SAM	: Sempato- Areno Medulla
SNRI	: Serotonin/ Nöradrenalin Geri Alım İnhibitörü
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SOR	: Serbest Oksijen Radikalleri

PROPOLİSİN KRONİK ÖNGÖRÜLEMİYEN HAFİF STRES UYGULANAN ERKEK WİSTAR ALBİNO SIÇANLARIN HORMON VE ANTIÖKSİDAN ENZİMLERİNE ETKİLERİ

ÖZET

Major depresyon; ciddi fiziksel ve psikososyal yeti kaybına neden olan ruhsal bozukluktur. Dünya popülasyonunun %10 bu hastalık ile mücadele ettiği bilinmektedir. Stres ise, sürekli olarak değişiklik gösteren hayat şartlarına karşı yaşanan adaptasyon sorunu olarak tanımlanır. Bu iki etmenin bir arada olması ise gerek hormonal gerekse oksidan dengenin bozulmasına sebep olmaktadır. Propolis, balırları tarafından savunma ve koruma amacıyla üretilen bir kovan ürünüdür. Yapısındaki doğal bileşenleri ile antioksidan, nöroprotektif, antibakteriyel ve antiinflamatuvar etki göstermektedir. Çalışmamızda erkek Wistar sıçanlar dört gruba (n=10) ayrıldı. Propolis ekstresi (100mg/kg/gün) stres periyodu boyunca yalnızca propolis ve stres+propolis gruplarına oral yoldan uygulandı. Biyokimyasal ve moleküler analizler için serum, karaciğer ve böbrek dokuları toplandı. Hormonal aktivasyonun ölçülmesi amacıyla kortizol ve adrenokortikotropik hormon düzeyleri serum ve böbrek dokularında incelendi. Bununla birlikte karaciğer ve böbrek dokularındaki stres ve propolisin etkilerini anlamak için; proteinlerin ileri oksidasyon ürünleri, malondialdehit, antioksidan kapasite, glutatyon, glutatyonperoksidaz, katalaz ve süperoksitdismutaz seviyeleri incelendi. Ayrıca oluşan etkileri daha iyi gözlemlemek için serumda da proteinlerin ileri oksidasyon ürünleri, antioksidan kapasite ve malondialdehit düzeyleri de saptlandı. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda propolisin genel olarak stresin oluşturduğu etkileri azalttığı yada inhibe ettiği sonucuna varıldı. Sonuçlarımız, propolisin stresin oluşturduğu oksidatif hasarı ve hormonal bozukluğu azaltması için etkili bir farmasötik ajan olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: İleri Oksidasyon Ürünleri, Kortizol, KÖHS, Oksidatif Sistem, Propolis.

EFFECTS OF PROPOLIS ON HORMONE AND ANTIOXIDANT ENZYMES OF MALE WISTAR ALBINO RATS CRONIC UNIMAGINABLE MILD STRES

ABSTRACT

Major depression; is a mental illness that causes serious physical and psychosocial disabilities. It is known that 10% of the world population is struggling with this disease. So (likewise), stress is defining as the problem of adaptation to constantly changing life conditions. The combination of these two factors causes imbalance to both hormonal and oxidant. Propolis is a hive product produced by honeybees for defense and protection. It is effected antioxidant, neuroprotective, antibacterial, and anti-inflammatory with its structural ingredient. In our study, male Wistar rats (n= 10) separated into four groups. Propolis extract (100mg/kg/day) was applied orally only to propolis and stress+propolis groups during the stress period. Serum, liver and kidney tissues were collected for biochemical and molecular analyzes. Cortisol and adrenocorticotropic hormone levels examined in serum and kidney tissues for measure to hormonal activation. However, to understand the effects of stress and propolis on liver and kidney tissues; advanced oxidation products of proteins, malondialdehyde, antioxidant capacity, glutathione, glutathione peroxidase, catalase and superoxide dismutase levels were examined. In addition, advanced oxidation products, antioxidant capacity and malondialdehyde levels of protein were determined in the serum to the better observation of the effects. As a result of the statistical analysis, it was concluded that propolis generally reduces or inhibits the effects of stress. Our results show that propolis can be used as an effective pharmaceutical agent to reduce the oxciscative damage and hormonal disorder caused by stress.

Keywords: Advanced Oxidation Products, Cortisol, KÖHS, Oxidative System, Propolis.

GİRİŞ

Depresyon ve diğer duygu durum bozukluklarının varlığı hem bireysel hem de toplumsal olarak dikkat çekici ölçüde artış göstermektedir. Oluşan bu negatif durumun varlığı sosyal hayatın yanında ekonomik dalgalanmalarada sebep olmuştur. Dünya Sağlık Örgütü'nün konuya ilişkin yaptığı çalışmada 300 milyondan fazla insanın psikolojik hastalıklar ile mücadele ettiğini göstermiştir. Majör depresyon (MDB); değişken ruh hali, öz saygının azalması, depresifliğin ve sinirin artması, yeme ve uyku bozuklukları gibi bir dizi semptomla birlikte genellikle aylarca sürebilen duygudurum bozukluğu ile karakterize edilir. MDB'nin artan intihar vakalarının %15'inden sorumlu olduğu bildirilmiştir [1]. MDB 20.yüzyılın son çeyreği itibariyle kolayca tanımlanan ve tedavisi yapılamayan bir bozukluktur. Psikiyatristlerin hastalara kullanmasını önerdiği antidepresanlara rağmen depresyon hastalarının 1/3 ile 2/3'ü antidepresanlara karşılık vermediği görülmüştür. Dirençli hastaların %42'si 30 gün içerisinde antidepresan tedavisini bıraktıkları analiz edilmiştir [2]. Bu durumun kaynağı olarak asırlar boyu monoamin hipotezi kabul görmüştür fakat günümüzde bu hipotez bazı noktaları açıklamakta yetersiz kalmaktadır. Yapılan çalışmalarda depresyonun endokrin sistemde bozulma, oksidatif parametrelerin düzeyinde ve inflamasyonda yaptığı artış alternatif ilaç geliştirme olgusunu ortaya atmıştır [3].

Stres ise gerek günlük hayatımızda gerekse travmatik olarak ele alınan bir olgudur. Periferik organ sistemi ve santral sinir sistemi üzerinde bir hastalık etki sebebi kabul edilmektedir ve depresyonun gelişmesine alt yapı hazırlamaktadır [4]. Homeostaziyi etkilediği için ise hipotalamo-pitüiter adrenal (HPA) eksenine doğrudan etkisi vardır. Bu etkinin depresyondaki eksenini ise hipotalamo-pitüiter- kortizol eksen olarak olarak etki göstermektedir [5]. Vücutta oluşan stres veya depresyon tepkilerine bağlı olarak artan hidroksil iyonu, süperoksit vb. reaktif oksijen türlerine (ROS) sebep olduğuna dair kanıtlar vardır. ROS, genel bağışıklık sistemi, lipid peroksidasyonu, travma, yaşlanma vb. birçok farklı mekanizma ile zaman içerisinde üretilebilir [6,7]. Tüm

bunlara rağmen depresyon ve strese bağlı olarak değişen düzey ve aktivitelerin doğal ilaç ile tedavi edici etkisinin arttırılacağı düşünülmektedir.

Bal arıları (*Apis mellifera*), kovan içinde homeostazın uygun şekilde korunmasını sağlamak için birçok benzersiz mekanizma geliştirmiştir. Bunlardan biri karmaşık bitki reçineleri toplanarak propolisi oluşturmak için balmumu ile birleştirilmesidir. Propolisin, antimikrobiyal ve antiseptik özellikleri nedeniyle kolonideki hastalık yükünün azaltılmasında önemli bir rol oynadığına inanılmaktadır. Bununla birlikte, propolisin arı ile ilişkili mikrobiyal simbiyontlarla nasıl etkileşime girebileceği ve propolisin mikrobiyal topluluk yapısını değiştirip değiştirmediği hakkında çok az şey bilinmektedir. Propolis kararlı bir mikrobiyal topluluk kompozisyonu koruduğunu ve bal arısı mikrobiyomunun genel taksonomik çeşitliliğini azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca propolis sadece toplumsal bağışıklık savunması olarak da işlev görür - bireylerin kolektif davranışı nedeniyle ortaya çıkan patojenlere ve parazitlere karşı koloni düzeyinde bir savunma mekanizması olarak işlev görmekle kalmayıp, mimari bir yapım aracı olarakta işlevsellik göstermektedir. Bu bilgilere ek olarak son çalışmalar ile beraber doğal bir antibakteriyel, antiseptik, antioksidan, antikanser gibi birçok etkisinin var olduğu gösterilmiştir [8,9, 112]. Her bir propolis tipinin kimyasal bileşimi, toplama süresi, coğrafi orijinli ve sırayla toplama alanındaki yerel bitki örtüsü, arı türleri ve ekstraksiyon yöntemleri gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Örneğin, kafeik asit (CAPE) fenetil ester, Yeni Zelanda propolisinde ana biyoaktifbileşen olarak kabul edilir [10]. Bu bilgilerin ışığında, çalışmamızda öncelikle kronik öngörülmeleyen hafif strese bağlı depresyon (KÖHS) modeli ile propolis uygulanan sıçanlarda serum, karaciğer dokusu ve böbrek dokusundakilipit ve proteinlerdeki oksidatif değişimler, hormon düzeyleri ve antioksidan göstergeler incelendi.

Doğal olarak savunma ve korunma amaçlı arılar tarafından üretilen propolisin kronik öngörülemez hafif stres uygulanan erkek Wistar albino sıçanların hormon ve antioksidan enzimlerine etkileriincelemek amaçlandı. Bunun için; herbir grup rastgele seçilen 10 erkek Wistar albino sıçanlardan oluşturulan dört eş gruba ayrıldı. Oluşturulan stresin ve propolisin tedavi edici etkisini gözlemek amacı ile malondialdehit (MDA),proteinlerin ileri oksidasyon ürünleri (AOPP), glutatyon (GSH) düzeyleri, antioksidan kapasite (FRAP) ve süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktiviteleri, adrenokortikotropik

hormon (ACTH) ve kortizol(KORT) hormon düzeylerindeki değişimlerin incelendi. Çalışmanın son aşamasında elde edilen tüm veriler analiz edilerek, gruplar arasındaki farklılıklar ve propolis özütünün depresyon üzerindeki etkisi belirlendi. Propolisin depresyon hastaları için doğal farmasötik ilaç olarak kullanılabilmesi kanıtına varıldı.



1. GENEL BİLGİLER

1.1. Major Depresif Bozukluk

Major depresyon; sık görülen, uzun süreli atakları olan, yüksek oranda süregelen depresif ruh hali ve yenilenme oranına sahip ciddi fiziksel ve psikososyal yeti kaybına sahip olan ruhsal bozukluktur [11,12]. 20.yy ile başlayarak aktif bir şekilde artış gösteren aynı zamanda da kozmopolitik yayılımı ile en önemli sorunlardan biri hiç şüphesiz depresyondur. Bu hastalığın insanlar tarafından tanımlanması ve neden-sonuç ilişkisinin keşfi yaklaşık 2500 yıl öncesine kadar uzanmaktadır ve hastaların intihar eğilimini arttırıcı özelliğinin olduğu, bazı hastaların ise durumunun ölüm ile sonuçlandığı da gözlemlenmiştir [34]. Bu durum kişinin:

- Aile yaşantısı
- Sosyal hayatı
- Gün boyu düşük ruh hali
- Uyku ve yeme bozuklukları
- Mesleki performansı ve
- Ekonomik durumunda negatif yönlü dalgalanmalar gibi birden fazla olumsuz semptomu sebep olur [12].

Majör depresyon, yaşayan dünya nüfusunun yaklaşık %10'unda, farklı coğrafyalarda ve birbirinden bağımsız oranlarda yayılım göstermektedir. Aynı zamanda bilinmelidir ki depresyon kavramı tek bir hastalık değil bir psikiyatrik hastalıklar kümesidir ve bu durumu en iyi biçimde gruplandırma, tanı ve tedavi veya önleyici durum faktörlerinin belirlenmesi gibi keskin çerçeveyi Amerikan Psikiyatri Birliği'nin sınıflandırması olan DSM-IV sunmaktadır [13]. DSM-IV'e göre belirlenen tanı ölçütleri aşağıdaki şekilde sıralanmakta ve bu semptomlardan en az beşinin bulunması major depresif epizodun bireyde olduğunu göstermektedir. Ancak kesin tanının konula bilmesi için belirlenen bu semptomlardan birinin ya depresif duyu durumu ya da ilgi kaybı olması gerekmektedir [14].

Ölçütler aşağıdaki gibi sıralanmaktadır;

- a) Hasta ya da hasta yakınlarının gözlemlerine göre: devamlılık gösteren duygu durum bozukluğu (üzgün olma, boşlukta hissetme)
- b) Hemen hemen hergün devamlılık arz eden tüm sosyal veya fiziksel faaliyetlere karşı zevk alamama
- c) Görülecek derecede bir kilo alımı veya kilo kaybı
- d) Devamlılık gösteren uykusuzluk (insomnia), aşırı uyku (hipersomnia) isteği
- e) Sürekli olarak kişide psikomotor ajitasyona daretardasyon gözlenmesi
- f) Yoğun bir biçimde enerji kaybı, bitkinlik hissi gözlenmesi
- g) Kendini kınama, suçluluk duygusu, aşırı değersizlik vb. duyguların olması
- h) Kararsızlık, dikkat dağınıklığı ve odaklanma sorunlarının baş göstermesi
- i) Ölüm fikrinin devamlılığı ve bir özgünlüğe bağımlı olamadan gerçekleşen intihar düşüncesinin varlığı [14].

1.2. Major Depresif Bozukluk Temel Türleri

Major depresif bozukluk tek dönem: Tek dönem majör depresif bozukluğu diğer depresyon tiplerinden ayıran, kişinin geçirdiği atak sayısıdır. Kişinin atak sayısı iki ya da daha fazla ise bu kişi artık tek dönem hastası olarak değerlendirilemez, bu konuda kesin yargıya varılmıştır. Bu nedenle, bu kategoride değerlendirilmesinin ayırıcı özellikleri; tek defaya mahsus olması, hastanın daha önceden manik, karma veya hipomanik dönem geçirmemiş olmasıdır [14].

Major depresif bozukluk yenileyici (rekürren): Geçirilen depresyon ataklarının iki veya daha fazla olması olarak tanımlanır. Depresyon atağı olarak tanımlanması için bir atağın etkilerinin iki ay ya da daha fazla etki göstermesi gerekmektedir [14].

Kronik Majör Depresif Bozukluk (Distimi): Yirmi dört ay boyunca süreklilik gösteren ve hastanın iyileşme sürecinin yok denebilecek kadar az olduğu depresyon tipidir [14].

1.2.1. Majör depresif bozukluk alt tipleri

Yapılan araştırmalar sonucunda bilim insanları majör depresif bozukluğun beş alt tipinin olduğunu belirtmektedir. Bunlarında genel olarak iki yönlü olup prognozun

kötü ya da iyi olması durumuna bağlı değerlendirilmesi, sonuçlarında hastanın durumu hakkındaki genel yargıların şekillenmesi, tedavi olmaması durumunda da oluşacak hasarın büyüklüğünün önceden tahmin edilmesi gibi birçok öncül hakkında bilgi verir.

Psikotik özelliklere bağlı: Duygu ve düşüncelerin ağır oranda tahrip olduğu (psikoz) ve kötü yönlü prognozun varlığının da kanıt olarak sunulması durumudur. Semptomları ise duygu duruma uygun olan depresif bozukluk ve duygu duruma uygun olamayan olarak değerlendirilmeye alınır. Duygu duruma uygun olmayan vakalar için şizofreni veya şizoaffektif gibi ciddi hastalık ihtimalleri bulunmaktadır [15].

Melankolik: “Bedensel belirtilerle karakterize olan ve özellikle farmakoterapiyle ve elektrokonzulziv terapi (EKT)’ye cevap verdiği inanan majör depresyonun şiddetli bir formu” olarak Amerikan Psikiyatri Derneği tarafından tanımlanmıştır [16]. Melankolik depresyon, depresif duygu durum bozukluğunun yanında kişilerde uyku ve iştah bozukluğu kilo alıp verme sırasında aşırı sayılabilecek değişimler ve nedenleri tam belli olmayan duygu patlamaları ile birlikte suçluluk duygusu gibi semptomların en az üç tanesinin de bulunması halindemelankolik MDB’nin kesin tanısı konulmuş olur [15].

Atipik depresyon: 1959 yılında West ve Dally tarafından ilk kez ortaya atılmıştır [17]. MBD tanısı konulmuş olan hastaların %28-38 oranları arasında değişim gösterir ayrıca atipik depresyon en yaygın görülen depresyon türü olarak ta kabul edilmektedir [17,18]. Tip A (anksiyete) ve Tip V (vejetatif) olmak üzere iki ana başlıkta incelenir. En tipik tanı semptomları iştah ve uyku artışı olup bu semptomlar ters vejetatif belirtiler olarak adlandırılır [19]. Ayrıca diğer depresyon hastaları ile kıyaslandığında semptomların daha erken gözlenmeye başladığı, anhedonia, letarji ve anerjinin daha belirgin gözlemlendiği ve somatizasyon bozuklukları da görülür [15, 17].

Pospartum başlangıcı: Toplumda doğum sonrası depresyonu olarak da bilinir. Doğum sonrası annelerin %13’ü yani her yüz kadından 12’sinde görülür [20, 21]. DSM-IV’de tanımlanan depresyon ölçütlerinin ve bebeğe karşı baş gösteren anksiyetenin doğumdan sonraki ilk ay içinde başlaması halinde kişinin pospartum olduğu kanısına varılır [22,23,24].

Katatonik özelliği: Katatoni kelimesi Philip Brarrough tarafından 1953 yılında literatüre kazandırılmıştır [25]. Katatonik özellikli majör depresif bozukluk; kişinin toplu ortamlarda konuşma sorunu yaşaması, itaate karşı direnmesi ya da karşıt eylemde bulunması, bazı davranışların (ayak sallama vb.) anlamsız bir biçimde tekrar edilmesi, yüksek oranda jest-mimik kullanması, yapmacıklık hali ve stupor hali gibi semptomların bir arada bulunması sonucunda görülen sendromdur [15, 26]. Bu sendromu uzun yıllar boyunca bilim insanları yalnızca şizofreni ile ilişkilendirilmiştir fakat son yapılan araştırmalar ortaya koymuştur ki bipolar bozukluk, major depresyon ve genel tıbbi hasarlara bağlı da ortaya çıkabilmektedir [27, 28, 29].

1.3. Major Depresif Bozukluğun Epidemiyolojisi

Epidemiyolojik çalışmaların psikiyatrik çalışmalara yönelmesi diğer bilim dallarına oranla daha geç olmuştur. Bunun sebeplerinden biri hiç şüphesiz ruh sağlığı dayalı etiyojisi ile ilgili eksikliğin 20.yy'a kadar devam eden bir sorun olmasıdır [30,31]. 1950 sonrasında ise bu durumun kapsamlı bir şekilde, ayrıntılar dikkate alınarak incelendiği ve risk faktörlerinin kategorize edildiği bilinmektedir [32,33].

Depresyonun meydana gelmesinde; genetik faktörler, obezite, medeni durum, yaş, ekonomik durum, alkol/madde bağımlılığı, geçmişe dayalı travmatik olaylar gibi birçok durum söz konusudur. Ortaya çıkış faktör veya faktörlerine bağlı olarak tedaviye cevap verme şekillerinin de değişkenlik gösterdiği ispatlanmıştır [38]. Ayrıca yapılan araştırmalar göstermektedir ki,

MDB'nin ömür boyu prevalansı %15 olarak belirlenmekle birlikte bu oranın kadınlarda %25'e kadar yükselebildiği bulunmuştur. İnsidans oranı ise yatarak tedavi gören hastalarda %15 ve ayakta tedavi gören hastalarda bu oran %10'dur (Tablo 1.1) [36].

Geçmişte yapılan çalışmalar incelendiğinde elde edilen veriler toplumda depresyona genellikle 30'lu yaşlarda aktif olarak rastlandığı, daha genç yaşlarda ise görülme sıklığının artacağı yönündeydi. Fakat zaman içerisinde yapılan daha kapsamlı araştırmaların sonucunda depresyonun daha erken yaşlarda başlayabileceği ve sıklıkla 20'li yaşlarda başlayarak orta yaş grubunda yüksek yaygınlık gösterdiği

bildirilmektedir. “Türkiye Ruh Sağlığı Profili” araştırmasında, depresyon nöbet yaygınlığı %4,0 kadınlarda görülme sıklığı %5,4 ve erkeklerde %2,3 olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada ayrıca kırsal merkeze kıyasla şehir merkezinde depresyonun görülme sıklığının daha yüksek olduğu gösterilmektedir [41].

Tablo 1.1. Major depresyon risk faktörleri [22,35,36,37]

Risk Faktörleri	Açıklamalar
Yaş	20- 50 yaş grubunda daha yüksek
Cinsiyet	Kadınlarda erkeklerden iki kat fazladır
Medeni durum	Boşanma ve eşlerden birinin kaybı riski arttırıyor
İrk ve etnik köken	Anlamli bir farklılık bulunmamıştır
Ailesel geçmiş	Birinci derece akrabalarda var olan MDB riski iki-üç kat arttırıyor
Kültürel farklılık	Anlamli fark bulunmamıştır
Çocukluk dönemi yaşantısı	Taciz, istismar, anne-baba kaybı vb. riski arttırıyor
Olumsuz yaşam koşulları	Riski arttırıyor
Stresli yaşam olayları	Riski arttırıyor
Hamilelik ve loğusalık dönemi	Riski arttırıyor
Sosyoekonomik durum	İşsizlik riski iki-üç kat arttırıyor ve düşük sosyoekonomik durum kronikleşme riski barındırıyor
Ek tanının varlığı	Riski arttırıyor

1.4. Monoamin Hipotezi ve Antidepresan Tedavi

1950 yıllarının sonuna doğru antidepresanlarının keşfi ile patofizyolojik çalışmalar ve tedavi yaklaşımları monoamin hipotezine yönelmiştir. Yaşanan depresyon olaylarının biyolojik alt yapısı incelendiğinde, monoaminnörotransmitterlerinin eksiliğinin depresyona neden olduğu varsayılmaktadır [39]. Buna ilave olarak dopamin ve noradrenalin prekürsörleri olan ve gıda ile alınan fenilalanin ve triptofandaki düşüş ve serotonin prekürsörü olan triptofandaki düşüşlerin depresif durum semptomlarında artışa sebep olmuştur [42]. Monoamin hipotezinin ilk tanımı depresyona sebep olarak gösterilen ve nörotransmitterlerin seviyesini düşüren, antidepresan ilaç tedavisi ve takibi ile bu nörotransmitterlerden bir kaçının seviyesinin tekrar attığının bulunması ile yapılmıştır [39,40]. Fakat şunda hastanın göstermiş olduğu semptomların baz alınması ile başka nörotransmitterlerin de bu karmaşık olaya dahil olabileceği ve işlev bozukluklarına sebep olması ihtimali öne sürülmektedir. Ayrıca halen bu hipotez ve duygu durum bozukluğu arasındaki ilişki direkt olarak kanıtlanamamakla beraber monoaminlerin sinaptik yarıktaki düzeyinin artışının hücrenin yaşam süresini, nöroplastisiteyi ve yeni hücre oluşumunu gerçekleştiren intraselüler yolları aktive etmekte olduğu bilinmektedir [43].

Günümüzde yaygın bir biçimde varlığını gösteren depresyon için genellikle antidepresan ilaç ile tedavi yöntemi uygulanmaktadır. Bu tedavilerin çoğunluğu ise monoamin sistemleri hedef alarak geliştirilmektedir. Antidepresan kullanımının odak olarak belirlenmesini ise 1950'lerde tüberkülozhastalığının tedavisinde kullanılan monoaminoksidaz inhibitörü (MOA) olan iproniazidin duygu durum bozukluğu üzerindeki pozitif etki göstermesi üzerine monoaminler üzerindeki ilgiyi arttırmış ve antidepresan tedavisinin de temelini atmıştır.

MOA, monoaminlerin oksidasyonunu katalizleyen enzim grubudur ve inhibisyonu sırasında monoamin düzeyi artmaktadır. İlk olarak karaciğer hücrelerinde tespit edilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarda geliştirilen bileşikler, günümüz depresyon tedavisinde kullanılmaktadır [40].

Trisiklikantidepresanlar (TSA), depresyon tedavisinde kullanılan ilk antidepresan grubudur. Serotonin ve nöradrenalin geri alınımını inhibe etmek üzere presinaptik taşıma grubuna bağlanır ancak dopamin üzerine etki etmemektedir ve MOA inhibitörleri ile kullanılması sonucunda alerjik reaksiyon tehlikesi ve kardiovasküler yan etkilerinin bilinmesinden dolayı dikkat edilmesi gerekir [44]. İmipramin, doksepin ve trisiklikantidepresanlargubunda bulunan başlıca ilaçlardır.

Selektifserotonin geri alım inhibitörleri (SSRI), 5-HT geri alım pompasını inhibe ederek serotoninin hücre içine geçişini selektif olarak inhibe ederler. SSRI grubu, TSA grubu antidepresanlara kıyasla daha az yan etki gösterirler ancak yine de bulantı, kusma gibi yan etkiler gözlemlenmiştir. Ayrıca P-enzimini inhibe ederek bu enzim tarafından vücuda alınan ilaçların kandaki seviyelerini arttırmaları [45]. Paroksetin, sitalopram ve sertraline SSRI grubunda yer alan ilaçlardır.

Nöradrenalin geri alım inhibitörleri, seçici olarak nöradrenalin alınımını inhibe ederek etki göstermektedir. Serotonin/Nöradrenalin geri alım inhibitörleri (SNRI) ise serotonin ve nöradrenalin geri alınımını durdurarak antidepresan etki göstermektedir. Bu inhibitörler, anksiyete bozuklukları, MDB, hiperaktivite gibi tedavide kullanılır fakat uzun süreli kullanımda yoksunluk sendromu oluşma ihtimali oluşturduğu için doz giderek azaltılarak ilacın kullanımı hekim kontrolü ile kesilir [46,47].

Bunların dışında; ketamin, amineptin ve tianeptin gibi kullanılan yukarıdaki gruplardan bağımsız antidepresanlardır. Örneğin: ketamin kuvvetli bir aneljezik olmakla birlikte narkotik özellikler barındırmasından dolayı depresyon tedavilerinde kullanılır ve bu etkileri beyinde uyarımlımelondialdehit(NMDA), nikotinic, kolinerjik ve muskarinik reseptörleri etkileyerek göstermektedir ve en sık rastlanan yan etkisi ise taşikardidir [48]. EKT şuanda da kullanılmakta olan ilaçsız bir tedavi tekniğidir. Hastanın ilaca karşı direnmesi veya yanıt vermemesi halinde uygulanır. Bunun dışında transkraniyal manyetik rezonans tedavisideilaçsız tedavi yaklaşımı olarak 1990'lı yıllarda öne atılan tedavilerden biridir.

Klinik uygulamalarda, bazı antidepresan tedavilerinin doğuştan gelen bağışıklık sistemi aktivasyonu üzerinde düzenleyici etkisi bulunduğu ileri sürülmüştür. Amitriptilinantidepresan kullanımının majör depresyon hastalarında IL-1 β ve IL-18 üretimini ve NLRP3 ve kaspaz-1 aktivasyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir [94]. Bunun yanı sıra bir antidiyabetik olan gliburidin stresle indüklenen depresyonda kaspaz-1 aktivasyonunu ve IL-1 β sekresyonunuinhibe ettiği, NLRP3 inflamazomu oluşumunda da etkili bir inhibitör rolü olduğu da gösterilmiştir.

Warner-Schmidt ve arkadaşları ise depresyon hastalarında antidepresan ilaçlar ve antidepresanlar arasında antagonistik bir ilişkinin varlığını öne sürmüşleridir [95]. Yaptıkları çalışmada selektifSSRI'nın depresyon hastalarının frontal kortekslerinde antiinflamatuvar ilaçlar tarafından normal koşullarda inhibe edilen TNF- α ve IFN- γ seviyelerinde yükselmelere neden olduğu bulunmuştur. Ancak bu durum TSA için geçerli değildir. Buradan TSA ve SSRI'nınantiinflamatuvar ilaçlarla farklı mekanizmalar üzerinden etkileşim gerçekleştirdiğini ortaya koymuştur [96].

1.5. Stres

Stres, sürekli olarak değişiklik gösteren hayat şartlarına uyum sağlayamama, devamlı artan sosyal ve ekonomik ihtiyaçların rahatsız edici boyuta ulaşmasıdır. Tekrar eden ve devamlılık gösteren stressinir sisteminde hasara, hormonal değişimlere, astım, kronik yorgunluk, bellek bozukluğu ve depresyon gibi hastalıklara neden olur. Ayrıca strese maruziyetin devamlılığı depresyonun oranının da artmasına neden olarak görülmüştür [49]. Bunun nedeni ise, fiziksel stres etmenlerinin yanı sıra psikolojik stres etmenlerinin de etkisi ile bağışıklık ve inflamatuvar süreçlerinin

aktivasyonu sitokin seviyesinde artışa sebep olur ve nöronlarda gerek yapısal gerekse fonksiyonel değişimlere sebep olur.Sonuç olarak bu MBD'nin gelişmesi için alt yapının oluşmasına sebep olması şeklinde açıklanabilmiştir [50,51].

Stresin aşamaları: Kısacası ortama uyum sağlama becerisinin bulunmaması olarak tanımlanabilen stres; canlının uyarıları stres etmeni olarak algılaması ile vücutta değişimlere yol açar. Canlıda hızla tansiyonun değişmesi, solunum zorluğu veya hızının artması, adrenalin salınımının başlaması yani canlının ilk anomalileri göstererek savaş başlatması halinde stresin birinci aşaması olan “alarm aşaması” başlamış kabul edilir.

Bu aşama ile birlikte stres hormonlarının salınımı başlar. Ancak organizma daima bu stres etmenlerini kabul etmez ve direnerek maruz kaldığı duruma karşı direnişe geçerek, normal fonksiyonlarına devam eder. Parasempatik sinir sistemi aktivasyonunun başladığı aşama ise ikinci aşama yani “direnme aşaması” olarak kabul edilir.

Stresin son aşaması ise “tükenme aşaması” olarak bilinir ve bu aşamada organizma gerek sosyal gerekse fiziksel stresörlere yenik düşmektedir. Direnç mekanizmasının kırılması ileyoksunlaşma ve tükenme gibi semptomlar gözlenmeye başlanmaktadır [52,53].

Ancak bilinmelidirki her canlının kendine ait bir direnç eşiği bulunmaktadır, buda bize hiçbir organizmanın strese ve oluşturduğu semptomlara aynı zamanda veya benzer düzeyde tepki vermediğini göstermektedir.

Stresörlerin sınıflandırılması:Stres etmenleri oluşumlarına göre genellikle üç ana başlık altında toplanmaktadır.

1. Fiziksel stresörler; canlının devamlı olarak yoğun bir tempoya maruz bırakılması, uygun olmayan iklim koşullarına mağruz kalma (sıcaklık, nem vb.), cerrahi operasyon sonrası oluşan travmalar (sünnet sonrası sendromu vb.) ve aşırı egzersiz yapmak fiziksel stresörleri olarak kabul edilmektedir.
2. Sosyal stresörler; kişinin bulunduğu sosyal çevre tarafından yok sayılması, uzaklaşması, istenmediği bir yerde zorunlu olarak bulunmak/ikamet etmek,

ekonomik durumun kötü olması gibi sorunların varlığı organizma için sosyal stres etmeni kabul edilir.

3. Psikolojik stresörler; fiziksel ve sosyal stresörlerin oluşturduğu tüm psikolojik sorunlar olarak tanımlanmaktadır [52].

1.5.1. Stresin hipotalamo-pituiter-adrenal eksenin ve otonom sinir sisteminin rolü

Stresin vücutta tanımlanmasının ardından iki eksen aktifleşerek stresin organizmaya verdiği zararı engellemek için önlemler alırlar. Bu eksenlerden ilki sempato-adrenomedulla eksenini (SAM) olup tehlike anında “savaş ya da kaç” yanıtını oluşturarak homeostaziyi koruma odaklı harekete geçer.

Eksenin sinaptik kolu (SSS) vücut fonksiyonlarını kontrol etmek ile görevlidir. Bunun için organizmada: nörotransmitter olarak adrenalin-noradrenalin salgılanması, kalp kası gücünün ve atım hızının artması, bronşiyollerde genişleme, yaralanma vb. istenmeyen durumlardan korunmak amacıyla kas kasılması, ter salgısının artması gibi yanıtlar oluşturur.

Eksenin preempatik kolu (PSS) ise vücudun dinlenmesini ve sindirim aktivitesinin artmasında etkili olur. Bununla birlikte: nörotransmitter olarak astilkolin salgılanmakta, kalp atım hızı azalmakta, sindirim ve boşaltımda hızlanma, kasların gevşemesi, idrarda artma ve pupillerin kasılması ile birlikte gözün yakını görmek amacı ile ayarlanması gibi tepkiler oluşturur [54,55].

Tüm bunlar değerlendirilirken stresin akut ya da kronik olup olmadığı göz önüne alınmalıdır. Bu nedenle, akut streste, stresörlerin ortamdaki uzaklaştırılması ile oluşturduğu etkiler ortadan kalkarken; kronik streste, stresörün uzun vadede vücuda uyguladığı baskı artar ve oluşturulan tepkiler ortamda arttıkça istenmeyen tahribatlara neden olur.

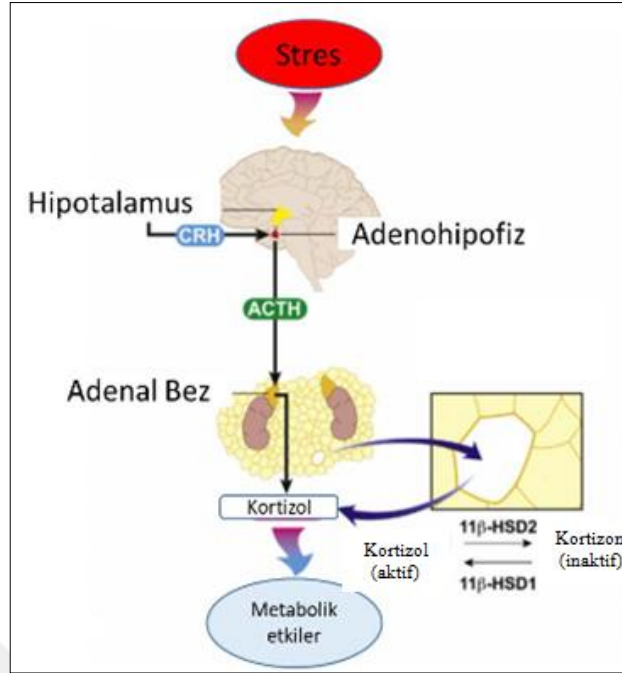
Örneğin; kas kasılmasının uzun süre devam etmesine bağlı olarak iskelet- kas sisteminde uzun süreli kas ağrıları ve baş ağrıları oluşurken, bağışıklık sisteminde zayıflamasına neden olduğundan enfeksiyon riskini arttırmaktadır.

Hiç kuşkusuz en önem verilen etkileri üreme sistemine verdiği zararlarıdır. Kronik stres kadınlarda menstural döngüde bozulma, ağrılı bir sürece ve menopoz döneminin daha zor geçmesine sebep olurken, erkeklerde cinsel arzuların azalmasına/kaybolmasına, testis ve prostat hastalıklarına sebep olmaktadır [56].

İkinci eksen ise hipotalamik-pitüiter-adrenal eksen olup hipotalamustan stresörler karşısında endokrin yanıtın oluşmasında etkilidir. HPA ekseninin önemini ilk defa Hans SELVE “Genel adaptasyon sorunu” olarak 1936 yılında tanımlamıştır ancak endokrin-davranış arasındaki ilişkinin temelleri 1849 yılında ilk ciddi denemeleri yapan Berthold tarafından atılmış daha sonrasında 1930’da Canon’un yaptığı çalışmalar ışığında organizmanın stresörlere karşı adrenal bezlerin yanıt oluşturduğunu belirlemiştir [59].

HPA ekseninin aktiflemesi ile ilgili yapılan çalışmalar gerek iç gerekse dış sinyallerin aktifleşmeyi başlattığını göstermektedir. Bu eksenin devamlı olarak aktif olması ise depresyon patogenezi olarak değerlendirilir. Bu eksen aktive olduğunda hipotalamustankortikotropik hormon (CRH) salınımı başlar ve bu olay kan beyin bariyerleri tarafından korunmayan eminans bölgesinde gerçekleşir. CRH buradan hipofizer-portal dolaşım yolağı ile beraber hipofizin ön lobuna gelir. Burada CRH’ın oluşturduğu ileti ile beraber ACTH hormonu pulsatil tarzda salınımını başlatır. Aynı zamanda da kandaki glukoz seviyesinde de artış meydana getirir.

ACTH salınımının ardında adrenal bezlere ilerleyerek kortizol hormonunun salınımını sağlar. Bu döngüde salınımı sağlanan kortizolün hipofiz ve hipotalamus üzerinde geri bildirim ve baskılama gibi özelliklerinin var olması sebebi ile pozitif geri bildirim stres ve depresyonun oluşturduğu etkileri azaltacağı düşünülmektedir ve bunlarla birlikte bu nöroendokrin salınım mekanizmasında yer alan tüm doku ve hücreler üzerinde kortikotropin miktarının artışına bağlı olarak etki bıraktığı düşünülmektedir (Şekil 1.1) [57].



Şekil 1.1.Kortizol salınımı negatif ve pozitif geribildirim yoluyla düzenlenmesi [58]

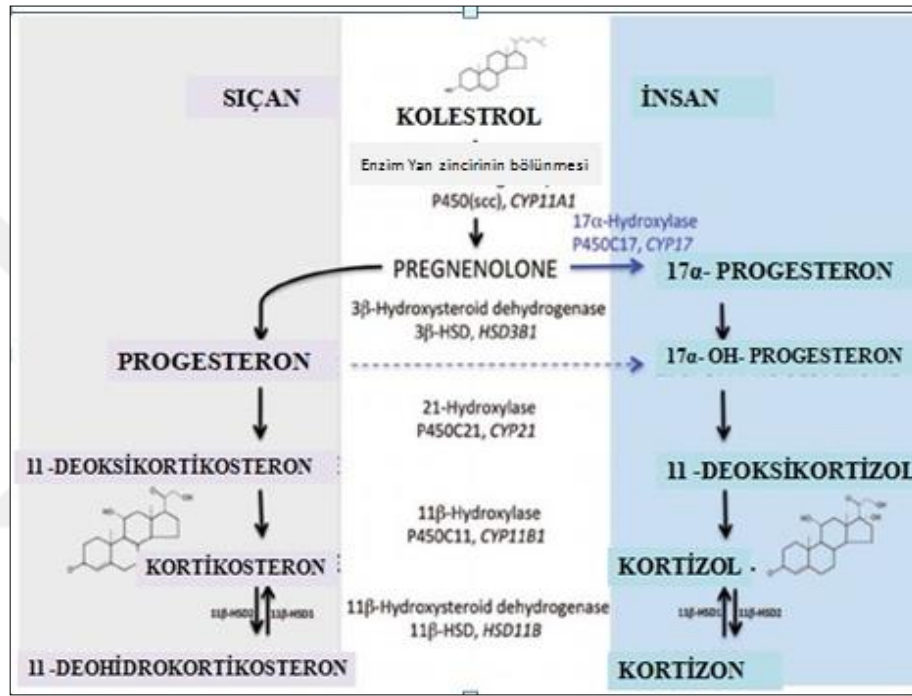
1.5.2. Stresin steroid rolü

Amigdala, hipokampus ve prefrontal korteksin orta bölümünde HPA eksenini kontrol eden paraventrikülnöronlar oldukça fazla bulunmaktadır. Bununla beraber bu bölgeler glikokortikoidler bakımından da oldukça zengindir. Hipokampus odaklı uyarılar sonucunda insan/sıçan beyinde meydana gelen sinyaller sonucunda kortizol hormonu ve ACTH hormonu salınımı artarken, glikokortikoid salınımı azalır. Yaşanan bu olay uzun dönem kronik strese yanıt ile ilişkilendirilir (60). Fortunato ve ark. tarafından 2010 yılında gerçekleştirilen çalışmada KÖHS modeli ile depresyon geliştirilen sıçanlara harmin verilmesinin anhedoniyi iyileştirdiği gösterilmiştir. Ayrıca bu sıçanlarda harmin verilmesi ile adrenal bezlerdeki hipertrofilerde azalma, kandaki ACTH miktarında da belirgin bir düşüş olduğu saptanmıştır [97].

1.5.2.1. Adrenokortikotropik hormon ve kortizol

Kortizol, HPA ekseninin uyarılması sonucunda böbrek üstü bezlerden salgılanan, lipofilik yapıda steroid yapılı bir hormondur. Oldukça küçük bir yapıya sahip olmasının (562Da) yanında adrenal bezlerde kolestrolde sentezlenir. İnsanlarda günlük olarak sentezlenen kortizol yaklaşık $5,7 \text{ mg/m}^2/\text{gün}$ olarak

belirlenmiştir. ACTH'ın adenohipofizden salınımı ve adrenal bezlere ulaşması ile beraber adrenokortikol hücrelerdeki düşük dansiteli lipoprotein (LDL) reseptörlerini uyarak sayılarının artmasını, hücre içindeki kolesterol miktarının artmasını sağlamaktadır. Kolesterolün hücre içindeki mitokondriye aktarılması kolestrol dismutaz enzimleri tarafından parçalanması ile birlikte birtakım reaksiyonlar gerçekleşir ve sonucunda ise kortizol sentezi gerçekleşir (Şekil 1.2)[61]. Dokularda bulunan enzimler aracılığıyla kortizol aktif/inaktif hale getirilebilmektedir.



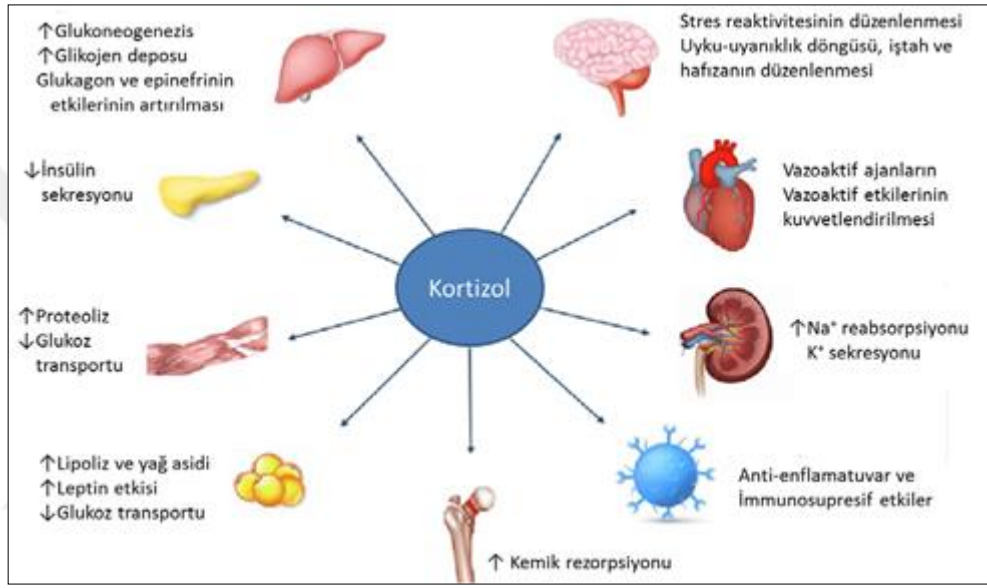
Şekil 1.2. Kolesterolden kortizol (insan veya sıçanlarda kortikosteron) sentezlenme aşamaları [99]

Glikokortikoidler genel olarak stresin belirteçleri olarak kullanılırlar ve en önemli glikokortikoidlerden biri hiç şüphesiz kortizoldür. Gerek beyin gerekse vücudun diğer üyelerini direkt olarak etkileyen, fonksiyonlarının düzenli olarak gerçekleştirilmesini sağlayan hayati bir önemi bulunmaktadır [62].

Kortizolün genel anlamda etkileri şunlardır:

- Karaciğerdeki glikojen miktarını yükseltir, glikoz düzeyinin yükselmesine sebep olur
- Kortizolün kısa süreli artışı hafızanın oluşumunu tetiklerken, uzun süreli kortizol artışı hipokampüsteki hücrelere hasar verir

- Canlının uyuma periyodunu düzene sokar
- İştah ve hafızanın düzenli çalışmasında etkilidir
- Lipitmetabolizasyonun artmasını, leptinin etkisinin artmasını sağlar
- Boşaltım sisteminin hızını ve idrar miktarının yükselmesini sağlar. Na/K pompasının hızlanmasına sebep olur bu durum iskelet yapısına zarar verir
- Bağışıklık sisteminin etkinliğinin azalmasına sebep olur. Ayrıca T- lenfositlerin çoğalmasının engellenmesine neden olur (Şekil 1.3)[63].



Şekil 1.3. Kortizolün genel etkileri [100]

Adrenokortikotropin hormon, birçok hormonun öncüsünü oluşturan hipofiz ön lobtaki POMC (propiomelanokortin) isimli öncül proteinlerden sentezlenen, CRH tarafından salınımı kontrol edilen 39 aminoasitten oluşan polipeptit yapıdaki hormondur. En önemli görevi organizmadaki kortizol salınımını tetiklemesidir. Yukarıda anlatıldığı üzere kortizol organizmadaki gerek bağışıklık gerekse sindirim gibi birçok hayati öneme sahip sistemin doğru ve düzenli çalışmasında görev almaktadır. Ayrıca hipofizden salgılanan başka bir hormon olan arjininvazopressin hormonu CRH varlığında ACTH salınımını az miktarda da olsa uyarmaktadır [64].

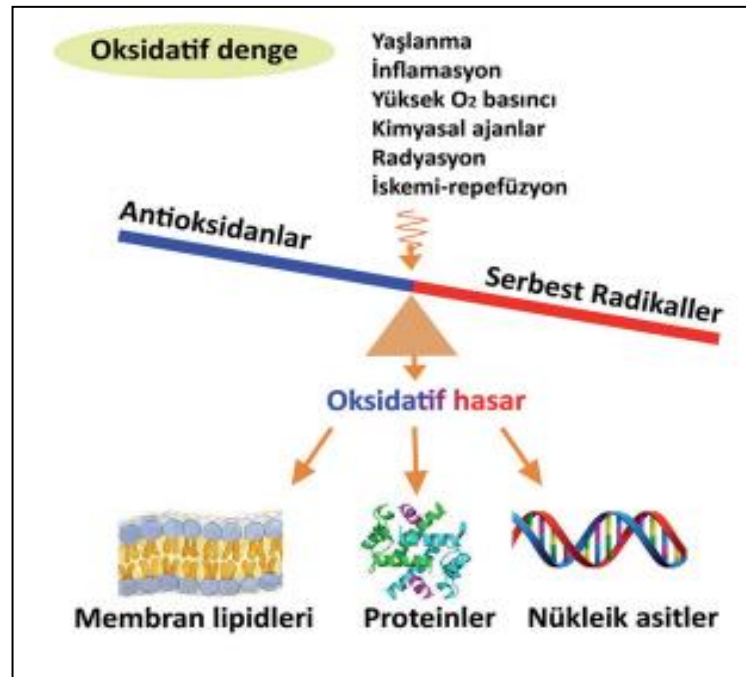
1.6. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller

Aerobik canlılar için oksijen molekülü hayati öneme sahip olmakla beraber hücre içi enerji üretim mekanizmalarında da aktif rol almaktadır. Serbest oksijen radikalleri (SOR) doğal bir yan ürün olup aynı zamanda aşırı reaktiviteye sahiptirler. Bu

özellikleri yörüngelerinde çiftleşmemiş elektron barındırmaları ve buna bağlı olarak kararsızlık durumu oluşmasıdır. Kararsız olan SOR'lar kararlı hale gelmek için bağ yapma isteğindedirler, dolayısıyla potansiyel zararlı madde olarak değerlendirilirler [65,66]. SOR organizmada, biyolojik işlemler (oksijenli solunum, anabolizma/ katabolizma), miyokardinfaktüsü, stres ülserleri,toksit doku yaralanmaları, yaşlanma, radyasyon, periferik dönem ve strese bağlı olarak üretilir. Aynı zamanda başta kardiyovasküler ve nörolojik hastalıklar olmak üzere birçok hastalığın altında yatan neden olarak görülmektedir [98].

Organizma bu zararlı etkilerden kurtulmak amacıyla antioksidan sistemden yardım alır fakat SOR oluşum hızının nötralize hızından daha yüksek olması halinde SOR hücre içinde birikmeye başlar. Bu nedenle vücudun yapı bileşenleri olarak isimlendirilebilecek olan DNA, karbohidrat, lipit ve proteinlere saldırırlar. Kısacası organizmada denge oksidan-prooksidan maddelerin lehine gerçekleşir. Bu durum karşısında hem hücre hem de organlarda meydana gelen hasara "oksidatif stres" denir(Şekil 1.4)[65,66].

Aerobik canlılarda serbest radikallerin geneli oksijen ve azot kaynaklıdır (Şekil 1.5). Bu radikallerin bir kısmı doğal radikal nitelik taşıırken bir kısmı ise gerçekleşen reaksiyonlar sonucunda radikal özellik kazanırlar (Tablo 1.2) [66].



Şekil 1.4. Oksidatif denge [103]

Tablo 1.2. Oksijen ve azot kaynaklı reaktif özellikli bileşikler [66]

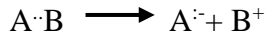
Radikaller		Radikal olmayanlar	
Süperoksit	O_2^-	Singlet oksijen	O_2
Nitrik oksit	$NO\cdot$	Ozon	O_3
Azot dioksit	$NO_2\cdot$	Hidrojen peroksit	H_2O_2
Hidroksil	$HO\cdot$	Hipoklorid asit	$HOCl$
Alkoksil	$RO\cdot$	Lipit hidroperoksit	$LOOH$
Peroksil	$ROO\cdot$	Peroksinitrit	$ONOO^-$

Organizmada serbest radikaller üç temel mekanizma ile oluşmaktadır:

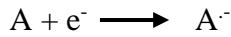
1. Yüksek enerjili elektro manyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık bağ kırılımına neden olur. Kovalent bağın hemolitik kırılımı sonucunda ise serbest radikaller oluşur;



2. Bir molekülden tek bir elektron kaybı ya da bir molekülün kovalent bağındaki iki elektronun bir atomda kalacak biçimde bölünmesi sonucu oluşur;

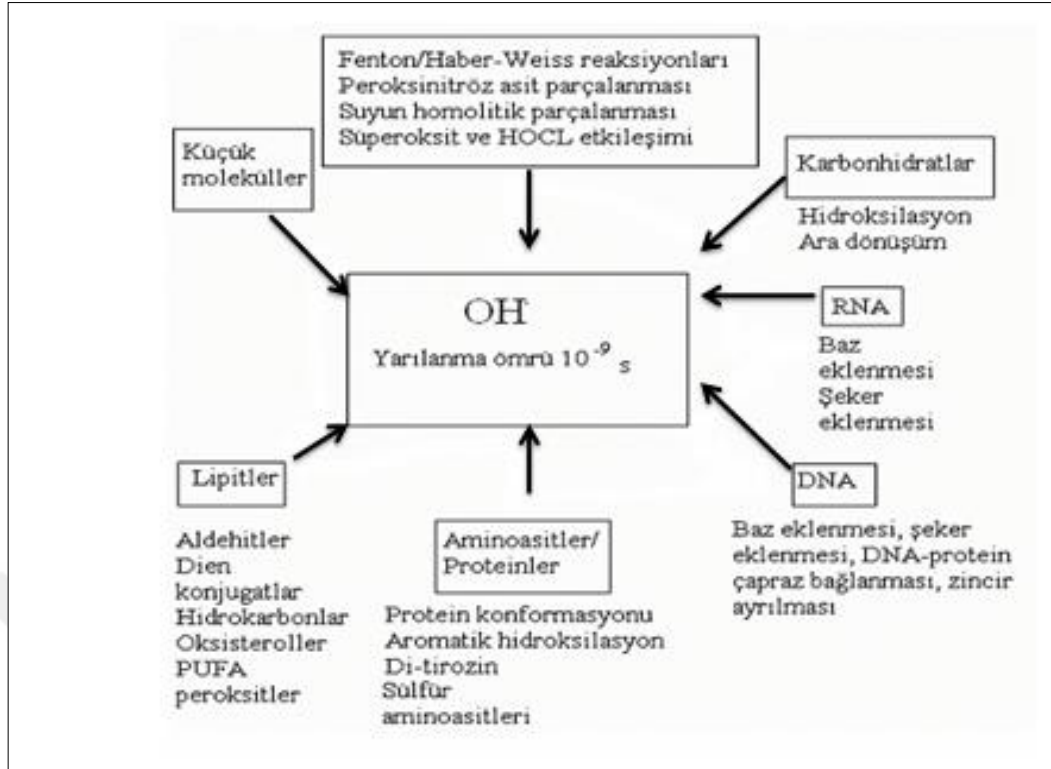


3. Bir moleküle tek bir elektron eklenmesiyle oluşur;



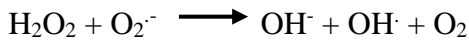
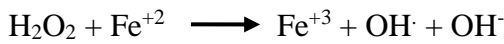
Gerçekleşen reaksiyonlar sonrasında radikal olan moleküllere örnek olarak; süperoksit radikali kuvvetli bir elektron alıcısıdır. Süperoksit dismutaz (SOD) etkisiyle, süperoksit radikali hidrojen peroksit (H_2O_2)e dönüşmektedir. Ortamda geçiş metalleri bulunmaksızın oluşan H_2O_2 zararlı olmamakla birlikte radikal özellik taşımamaktadır.

Ancak Fenton ve Haber- Weiss reaksiyonları olarak tanımlanan reaksiyon dizini sonrasında son derece dikkat edilmesi gereken ve yüksek reaktif özellikteki hidroksil radikaline ($HO\cdot$) dönüşmektedir (Şekil 1.6)[67,68].



Şekil 1.5. Hidroksil radikali ve hücredeki çeşitli moleküllere etkileri [102]

Dolaylı yoldanda olsa zarar miktarı azami olan ve radikal özellik taşımayan molekülün zararlı hale gelmeden uzaklaştırılması organizma için önemlidir. Ayrıca yukarıda bahsedilen Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları için demir elementi oldukça önemli bir role sahiptir [67,68].



Serbest radikaller reaktif özellikleri nedeniyle öncelikle lipitler, DNA, proteinler, karbohidratlar ve nükleik asitler olmak üzere tüm hücre bileşenlerine zarar verme niteliği taşımaktadır.

Serbest radikallerin hücre bileşenlerinde oluşturduğu zararlı etkilerden bazıları:

- Lipit peroksidasyonu
- DNA tahribatı
- Enzimatik aktivitelerin değişikliği

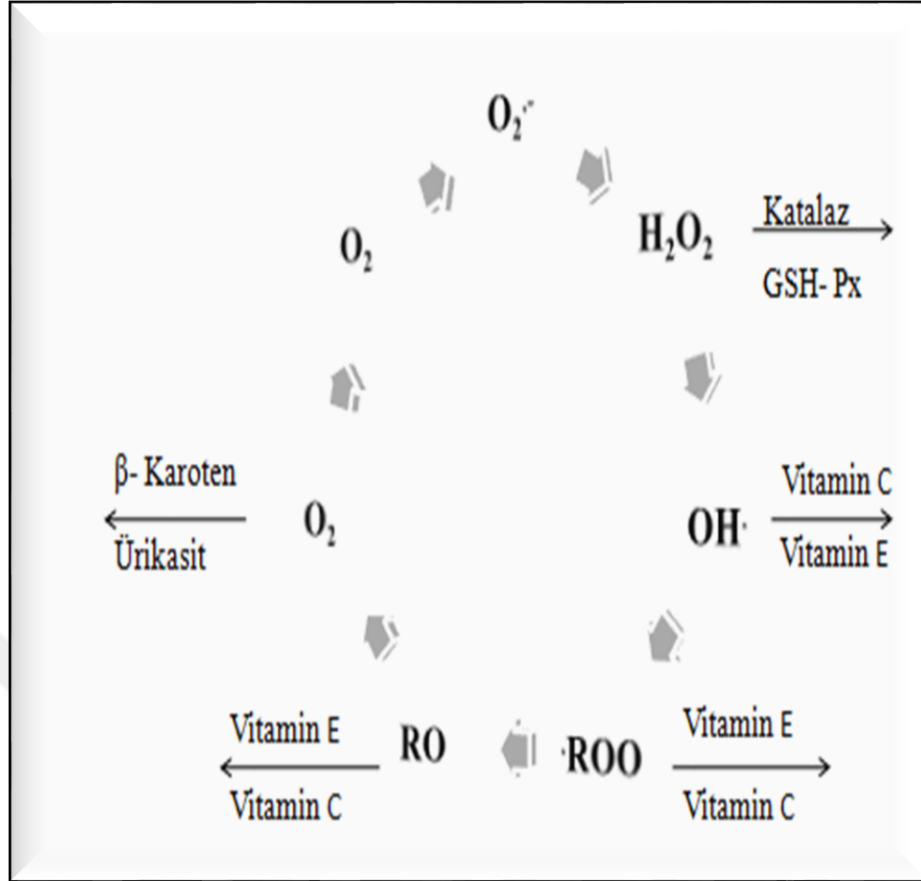
- Zar proteinlerinde hasar
- Nükleotid yapıli koenzimlerin yıkımı
- Protein ve lipitlerle kovalent bağlar
- Zar yapısında ve işlevlerinde değışimler
- Protein “turnover”inin artması
- Tiyollere bağımlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulması
- Mukopolisakkaritlerin yıkımı
- Hücre tiyol/disülfid oranının değışimi olarak sıralanabilir [65, 68].

Serbest radikallerin nükleik asitler ve DNA üzerindeki etkileri: DNA ve nükleik asitler OH gibi serbest radikallerinin kolayca saldırısına maruz kalarak zarar görürler. Serbest radikaller özellikle pirimidin bazlarının C4-C5 çift bağı hidroksil grubuna karşı hassasiyet göstermektedir. Ayrıca DNA’da yer alan şekerle de reaksiyona girerek hidrojen bağlarının yıkımına ya da konfigürasyonunda değışiklikler meydana getirir.

Pirimidinlerin hasara uğraması ile idantoin, 5- Hidroksideoksiüridin gibi hasar sonrası ürünler meydana getirir. DNA hasarı yalnızca pirimidin bazlarında değil pürin bazlarında da meydana gelebilmektedir. Tüm bunların sonucunda oluşan hasar polsientaz enziminin (ADP- riboz) aktivasyonuna neden olur. Sonuç olarak programlanmış hücre ölümleri (apoptoz), DNA parçalanması gibi organizma için önemli dejenerasyonlara yol açmaktadır [65, 67 ,68].

Serbest radikallerin proteinler üzerindeki etkileri: Serbest radikaller proteinler üzerine doğrudan ya da dolaylı olarak zararlı etkilerde bulunabilirler. Peptid bağları ve sülfid içeren proteinlerden doymamış olan moleküller serbest radikaller ile daha yüksek reaktiviteye sahip olduklarından dolayı daha kolay reaksiyona girebilmektedir. Burada reaksiyonun oluşumu ya da reaksiyondan etkilenme derecesi proteinlerin birincil yapısına (aminoasit dizini) göre belirlenir.

Protein oksidasyonu ise özellikle; histidin, trozin, fenilalanin vb. aminoasitlerde karbonil gruplarının oluşumu şeklinde meydana gelir. Reaksiyon sonucunda proteinler kararlı ve yüksek derecede reaktif yan ürünler oluştururlar. Oluşan yan ürünler ile geçiş metallerinin tepkimeleri sonucunda da radikaller ortaya çıkar.



Şekil 1.6. O_2 'nin univalent redüksiyonu sonucu serbest oksijen radikali üretimi ve uzaklaştırılması [101]

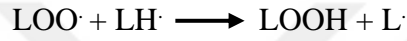
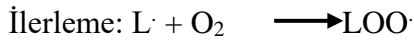
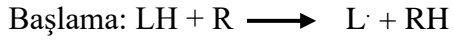
Tüm bu olaylar değerlendirildiğinde oksitlenen proteinler genellikle fonksiyonel olarak inaktifleşir ve hızlı bir biçimde uzaklaştırılmaya çalışılsa bile zamanla, kademeli olarak birikimi sonucunda proteinlerde hasara neden olur. Bu durum sonucunda, çeşitli hastalıkların yanı sıra yaşlılıkla beraber ortaya çıkması muhtemel hastalıklar ile ilişkilendirilir [68,70].

Lipit peroksidasyonu, serbest radikallerin hücre zarındaki LH'ların oksidasyonuna yol açan kimyasal bir reaksiyon dizini olarak tanımlanabilmektedir. $O_2^{\cdot-}$, HO^{\cdot} , ROO^{\cdot} ve RO^{\cdot} radikallerin varlığı organizmada lipit peroksidasyonunu tetikleyen başlıca radikallerdendir. Lipit peroksidasyonu LH zincirindeki α -metilen (CH_2) grubundan bir hidrojen (H) uzaklaşması ile başlar ve yağ asidi radikal özellik taşır.

Böylelikle ortaya çıkan karbon radikali, moleküllerin yeniden düzenlenmesi ile konjugedien'e sabitlenir. Daha sonra yağ asidi radikaline hızlı bir şekilde oksijen eklenmesi ile peroksil radikali (LOO^{\cdot}) meydana gelir. Lipit peroksil radikali zarın

yapısında bulunan diğ er LH molek ullerinde yeniden reaksiyon başlatır. LOO·ise bu arada ortama salınan hidrojen atomlarını alarak lipit hidroperoksitlerine (LOOH) dönüşür.

LOOH'ın aldehit ve diğ er karbonil bileşiklerine dönüşmesiyle lipit peroksidasyonu tamamlanır. Lipit peroksidasyonunu başlama, ilerleme ve sonlanma olarak aşağıdaki gibi kısaca özetleyebiliriz (şekil 1.7) [67,68,69];

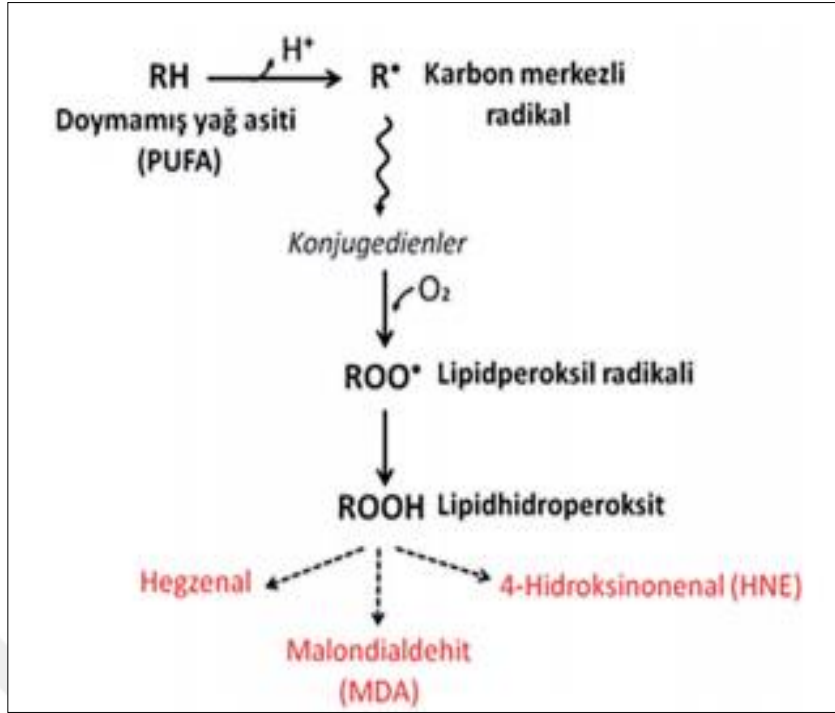


Sonlanma: LOOH \longrightarrow Malondialdehit (MDA) gibi aldehitler ve karbonil bileşikleri, Eton, Penton gibi.

Lipit peroksidasyonu sonucunda hücre içinde zar transportunun etkilenmesi, hücre içi ve hücre dışı iyon dengelerinin bozulması gibi önemli sorunlara neden olmaktadır. Bunun sonucunda hücre içi kalsiyum miktarı artarak proteazları aktive etmektedir. Ayrıca son ürün olarak aldehitlerin varlığı sitotoksik etki göstermektedir [70].

Organizmada devamlı olarak gerçekleşen ve sonucunda serbest radikaller üreten metabolik olaylara ev sahipliği yapmaktadır. Fakat bu serbest radikallerin birikmesi organizma açısından zararlı olacağından, birikimin sürekliliğini engellemek ya da birikmesini engellemek için g cl  bir savunma sistemi bulunmaktadır [67]. Antioksidan sistem, serbest radikal oluşumunu sınırlandırma, tetiklenen biyokimyasal reaksiyoları kısıtlama/durdurma, oluşan serbest radikalleri ortamdan uzaklaştırma ve hasar gören molekülleri tamir etme ve/veya eleme gibi çeşitli görevleri olan sistemdir.

Antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olabilmekte ve enzimler, suda  oz nen radikal tutucular, lipitte  oz nen radikal tutucular ve metal iyonlarını bağlayan proteinler olarak sınıflandırabilmektedir (Tablo 1.3) [68,70].

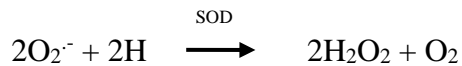


Şekil 1.7. Serbest radikal türlerine bağlı gerçekleşen lipid peroksidasyon mekanizması [70]

Tablo 1.3.Organizmadaki antioksidan sistem elemanları [68,70]

Enzimler	Suda çözünen radikal tutucuları	Yağda çözünen radikal tutucuları	Metal iyonlarını bağlayan proteinler
➤ Süperoksit dismutaz	➤ Askorbik asit	➤ β - Karoten	➤ Ferritin
➤ Katalaz	➤ Ürik asit	➤ Ubikinol	➤ Albumin
➤ Glutasyon peroksidaz	➤ Sistein	➤ Flavonoidler	➤ Transferrin
➤ Glutasyon redüktaz	➤ Glutasyon	➤ Vitamin E	➤ Haptogloblin
➤ Glutasyon transferaz	➤ Glikoz	➤ Bilirubin	➤ Seruloplazmin

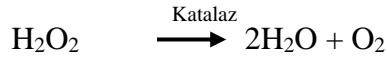
Süperoksit dismutaz (SOD): Organizma içinde oluşan süperoksit radikalini dismutasyona uğratarak H_2O_2 ve moleküler oksijene dönüşmesini sağlayan hücre içi enzimdir. Organizmalarda substrat olarak serbest radikal kullanan tek enzim olmakla birlikte birinci derece savunma sistemi oluşturur. İçeriğinde yer alan metal grubuna göre farklılık göstermektedir yapılan araştırmalar Cu/Zn-SOD'un ökaryotik canlılara spesifik olduğunu göstermektedir [65,67].



Oksijeni metabolite eden tüm dokularda özellikle endotel ve düz kas hücrelerinde yoğun miktarda bulunmaktadır.

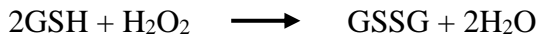
Katalaz (KAT): Glikoprotein yapıda ve dört hem grubuna sahip birhemoproteindir. Karbonik asit ile birlikte bilinen en hızlı enzim olma özelliğine sahiptir.

Peroksizomlarda bulunmakla beraber hücre dışında bulunmaz, en fazla miktarda bulunduğu organ ise karaciğerdir. Oksidaz aktivitesi (SOD) ile oluşan H_2O_2 'yi su ve oksijene katalize eder [65,65].



Glutasyon (GSH): Zehirsizleştirme reaksiyonlarında doğrudan rol alması ya da diğer enzimlerin kofaktörü olarak görev yapması yönünden hücre için en önemli enzimdir. Glutamat, sistein ve glisinden sentezlenen birtripeptittir. Ayrıca protein yapısındaki sülfidril (-SH) grubunu indirgenmiş halde hücrede tutarak proteinlerin inaktivasyonunu engellemekte ve membran transportunda görev almaktadır [65,68].

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px): Hem H_2O_2 'yi hem de LOOH'ları metabolize eden intrasellüler bir enzimdir. GSH- Px'in selenyuma bağımlı ve bağımsız olmak üzere iki formu bulunmaktadır. Selenyuma bağımlı formu hem H_2O_2 'yi hemde LOOH'ı indirgemekte görev alırken, selenyuma bağımlı olmayan formda yalnızca LOOH'lar indirgenmektedir [65,68].



Her iki reaksiyonda da GSH hidrojen vericisi olarak görev almaktadır. En yüksek aktivasyonu ise karaciğerde göstermektedir.

Glutasyon redüktaz (GSH- R): NADPH varlığında okside glutasyonun (GSSG) tekrar GSH'adönüşümünü sağlayarak antioksidan aktivitenin devamlılığını sağlar [65, 68].

Glutasyontransferaz (GSH-T): Çeşitli endojen veya eksojen bileşiklerin GSH ile kojugasyonunu katalize eder. Bazı izomerleri ise GSH-Px aktivasyonu göstererek LOOH'ların metabolizmasını da sağlamaktadır [65,68].

Vitamin E (α -tokoferol): Antioksidan kapasitesi en yüksek olan ve lipitte çözünebilen vitamindir. Yapısında bulundurduğu fenol halkasındaki aktif hidroksil grubu nedeniyle antioksidan olarak değerlendirilmektedir. En iyi biyoaktif formu α -tokoferoldür. Bu formun en önemli görevi lipit peroksidasyonuna karşı organizmayı korumaktır. Hücre içinde GSH-Px ile kordineli olarak çalışmaktadır [71,72].

Vitamin C (Askorbik asit): Vücutta sentezlenemeyen bundan dolayı diyet yoluyla alınan ve suda çözünen kuvvetli bir antioksidan moleküldür. Vücut içerisinde kolayca dehidroaskorbik aside oksitlenmektedir. Serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek inaktif olmalarını sağlar ve vitamin Enin yenilenmesinde de aktif görev alır [71,72].

Flavonoidler: Bitkilerdeki sarı, mavi ve kırmızı pigmentleri oluşturan, lipitler içerisinde çözünebilme kabiliyetine sahip polifenol yapıdaki antioksidandır. Antioksidan özelliğinin yanında antiinflamatuvar, antiviral ve antiallerjik özellikleride bulunmaktadır. Başlıca kaynakları elma, portakal ve karnabahar gibi sebzelerdir. Farklı yollar kullanmak sureti ile lipit peroksidasyonunu engellemektedir. Bunlar; peroksidasyonu başlatan radikalın tutulması, radikal iyonları oluşturan enzimleri inhibe etmesi ve metal iyonları ile bağ yapması olarak tanımlanmaktadır [73].

1.7.Propolis

Propolis, bal arıları (*Apis mellifera L.*) tarafından ağaç kabukları, dal, tomurcuk ve bitki filizlerinden toplanan reçinemsı maddelerin, arıların baş kısımlarından salgıladığı enzimler ile birlikte biyokimyalarının değişmesiyle elde edilen yapışkan ve keskin kokuya sahip organik bir kovan ürünüdür [74,75]. Propolis kelimesi eski Yunancada (pro- önünde, savunma ve polis- şehir) şehrin savunması ve şehrin önünde gibi anlamlara gelmektedir. Bal arılarının propolis üretmek için topladığı reçine ve diğer özütleri genellikle; kavak, çam türleri, kayın ve kestane gibi ağaçlardan elde ettikleri saptanmıştır [74,76]. Bal arılarının oluşturdukları propolisi kullanım alanları şu şekilde sıralanabilir;

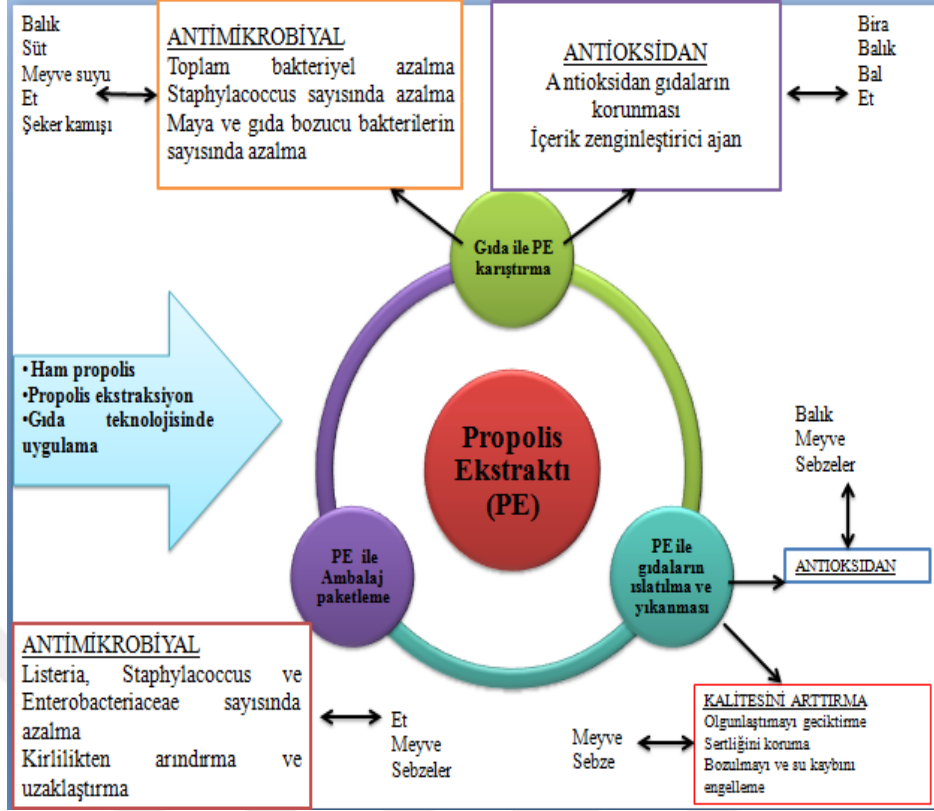
- Kovan girişini kaplayarak dezenfekte olmasını sağlamak,
- Kovan kapısının büyüklüğünün ayarlanması ile zararlı böceklerin girişinin engellenmesi,

- Propolis ile yapılan kovan içi temizlik ile bakteri, mantar vb. çoğalmasını engellemek,
- Yabancı böceklerin öldürülmesi ile kovanda oluşması muhtemel çürümeye bağlı koku ve kontaminasyonu bertaraf etmek,
- Kovanın duvarlarındaki hasarı onarmak ve
- Kovan içi nem/sıcaklık gibi özellikle larvaların gelişimini etkileyen hayati değerleri korumak gibi pek çok amaçla kullanılmaktadır [74,75].

“Doğal antibiyotik” olarak tanımlanan propolis, antik çağdan bu yana halk hekimleri tarafından da antibakteriyel, rejeneratif, antifungal ve antiinflamatuvar amaçlarla çeşitli hastalıkları tedavi amacı güderek kullanılmıştır. Günümüzde propolis kozmetik, dermatolojik hastalık tedavisi ve sağlıklı gıda üretimi başta olmak üzere birçok amaç doğrultusunda kullanılmaktadır [76,77]. Ayrıca tedavi edici özelliklerin ortaya çıkması ile yaygın olarak kullanılmasını sağlamıştır ve şuanda propolisi sabun, kapsül, tablet, granül ve pastil gibi birçok şekilde bulmak mümkündür.

Propolisin önemi anlaşıldıkça kullanım alanların sayısı hızla artmaktadır, bunlardan bazıları;

- Propolis antibakteriyel, antifungal, antiviral, antitripanosomal, antiinflamatuvar, antioksidan, hepatoprotektif, immunostimulör, antitümoral ve sitostatik aktivite gibi birçok biyolojik özelliğe sahip olması nedeniyle tıpta ve diş hekimliğinde kullanılmaktadır
- Propolis bitki ekstraktları, arı sütü ve E vitamini ile birlikte kozmetik alanında gün geçtikçe artan oranlarda kullanılmaktadır. Cildi besleyici, temizleyici ve onarıcı ürünlerden krem, süt ve pomatların yapımında geniş ölçüde kullanım alanlarına sahiptir
- Çürümeyi ve bozulmayı engelleyici özelliği ile gıda sanayiinde kullanılmaktadır (Şekil 1.8.)
- Çimlenme engelleyici olması nedeniyle yumrulu bitkilerin saklanması için kullanılır
- Mobilya sanayinde cila vb. işlerde kullanılır [80].



Şekil 1.8. Gıda teknolojisinde propolis kullanımı [104]

1.7.1. Propolisin kimyasal özellikleri

Propolisin farklı kimyasal özelliklerde olmasının başlıca nedeni, içeriğindeki bileşiklerintürlerine ve yoğunluklarına göre farklılık göstermesidir. Bu farklılık ise toplandığı coğrafyadaki bitki türlerinin değişkenliği ve zenginliğine, iklim koşullarına (mevsim) ve kolonideki arı türüne göre oluşmaktadır [78,79]. Propolisin rengi ise toplanma kaynağına göre sarıdan başlayarak kahverenginin tonlarına kadar değişkenlik göstermektedir. Örneğin; yeşil propolis yalnızca Brezilya’da üretilmektedir. Propolis soğukta (15°C ve altı) sert ve kırılğan yapıya sahip olur, sıcakta (25°C- 80°C) ise yumuşak ve akışkan bir formdadır [78,79].

Her ne kadar saf propolisin içeriği kaynak vb. durumlara göre değişkenlik gösterebilir genel olarak değerlendirildiğinde %50 reçine, %30 mum, %10 esansiyel yağlar ve %5’er oranda polen ve diğer organik maddelerden oluşmaktadır. Dünyanın çeşitli bölgelerinden alınan propolis numunelerinin incelenmesi sonucunda 160-300 arasında farklı kimyasal bileşiği yapısında barındırdığı tanımlanmıştır (Tablo 1.4) [78,79].

Propolis polifenoller ve onların esterleri, fenolik aldehytler, alkoller, ketonlar, steroidler, amino asitler ve inorganik bileşikler gibi çeşitli kimyasal yapıları kapsayan 300'den fazla bileşen içermektedir. Reçine ve balzam içeren kısım ayrıca terpenler, polisakkaritler, kafeik asit gibi maddeleri de bulundurur [80].

Tablo 1.4. Propolisin kimyasal yapısı [78]

Bileşik sınıfı	Bileşen grupları	Miktarı
Reçine	Flavonoidler, fenolik asitler ve esterleri	%45-55
Mum	Balmumu ve bitkisel orijin	%23- 35
Esansiyel yağlar	Aromatik uçucular	%10
Polen	Proteinler	%5
Diğer organik bileşikler	Demir, çinko, magnezyum, ketonlar, askorbik asit, B grubu vitaminleri ve E vitamini ve karbohidratlar	%5

İçeriğindeki başlıca kimyasal bileşikler şunlardır; flavonoidler, sinamik asit ve türevleri benzoik asit, sinaptik ve izoferulik asitler, çeşitli aldehytler, ketonlar ve eser elementler, kleredon, diterpenler, seskiterpenler ve steroidlerdir. Organik kısmın en önemli bölümü olan flavonoidler, üzerinde en çok yoğunlaşılacak bileşiklerdir ve propolisin biyolojik aktivitesinin önemli bir kısmının yönetilmesinden sorumludurlar. Flavon ve flavonoidler propolise antioksidan, antifungal, antiviral ve antibakteriyel özellikler kazandıran maddelerdir. Propolis ayrıca mineral ve oligo gibi elemanlar da bulundurmaktadır [74,77].

Propolisin temel bileşiğinin flavonoidler olduğu öne sürülmüştür. Propolisin flavonoid yapısında toplandığı bitkiye bağlı olarak farklılıklar da bulundurmaktadır. Flavonoidler polifenolik bileşiklerdir ve serbest radikal temizleme özelliklerinden dolayı antioksidan etkiye sahip olup, lipid peroksidasyonunda inhibe etmektedirler. Alternatif olarak metal şelat oluşturmaları antioksidan özelliklerine katkı sağlamaktadır [76,77].

Aynı zamanda pinosembrin, galangin ve kafeik asit, fenil ester karışımlarının bakteriyel RNA polimerazı inhibe ederek antimikrobiyal etki gösterdiği de bildirilmiştir. Propolisin biyolojik aktivitesinin fenolik ve diğer bileşiklerin sinerjistik etkisi ile oluştuğu belirtilmiştir.

Sekonder metabolitleri antibakteriyel ve antiviral açıdan değer kazanmasını sağlamaktadır. Bu metabolitelere; kafeik asit ve sinamik asit, bazı hidrokarbonlar, terpenler, aromatik asit ve esterleri örnek olarak sayılabilir [77,80].

1.7.1.1. Antioksidan etki

Organizmada metabolik olaylar sırasında kaçınılmaz bir şekilde ortaya çıkan serbest radikaller, hücresel yaşlanma ve buna bağlı olarak kardiyovasküler hastalıklar, kanser, diyabetsmellitus, artrit, parkinson, alzheimer gibi hastalıklara zemin hazırlamaktadır. Organizma ise başlıca antioksidan enzimler olan SOD, KAT, glutasyon peroksidaz, glutasyon redüktaz ile bu serbest radikallerielimine etmektedir. Eğer oksidan madde düzeyi antioksidan enzim kapasitesini aşarsa, antioksidan vitaminler (özellikle C ve E) ikincil savunma hattı olarak devreye girerler [81,82]. Propolisin ise yapısında bulundurduğu flavonoidlerin ve kafeik asit esterlerinin antioksidan etkinliğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Bundan dolayı son zamanlarda üzerinde durulan özelliklerinden biri CAPE'nin de antioksidan etkisidir. Bilindiği gibi GSH, kimyasallarla oluşturulmuş hücre hasarına karşı protektif bir role sahiptir.

GSH karaciğerde en önemli antioksidan moleküllerden biri olup fizyolojik konsantrasyonları, hücrelerin normal redoks işleyişinin devamlılığına katkıda bulunmaktadır. Propolis de sıçanlarda, parasetamolün indüklediği GSH tüketimini geri çevirebilmekte ve böylece hücre ölümünü önlemektedir. Nükleer faktör kappa B'nin (NF-κB) inflamatuvar olaylarda ve oksidan strese önemli yeri olduğu gösterilmiştir.

Kafeik asit özgül olarak NF-κB'yi bloke eder ve oksijen türevliradikalleri temizlemektedir. Propolis ayrıca oksijen türevli radikalleri temizlemekte ve lipid peroksidasyonunu önleyerek antioksidan etkisini ortaya koymaktadır [81,82].

1.7.1.2. Yan etkileri

Çokaz da olsa bazı durumlarda kontak dermatit ve propolis alerjisi bildirilmiştir. Bunun daarıların propolis özütünü o bölgedeki allerjen çiçeklerden toplamasından dolayı kaynaklandığı kanıtlanmıştır.

Propolis toksik özellikte değildir ancak farelerde LD₅₀ 2-7.3 g/kg ve insanlardaki güvenilir doz aralığı ortalama 1,4 mg/kg/gün olarak bildirilmiştir. Belirtilen dozların daha üzerindeki dozların kullanılması durumunda sıklıkla ortaya çıkan yan etkiler; alerjik reaksiyonlar, cilt ve mukozmembranirritasyonu olarak bildirildiğinden astım hastaları, egzemalı ve ürtikerli hastalar tedavi edilirken dikkatli olunmalıdır [83]. Ayrıca unutulmamalıdır ki allerjen bünyeye sahip olan bireyler kullandıkları tüm gıda vb.  r nlerde hassasiyet göstermelidir.



2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereçler

- a. Homojenizatör (Power Gen 125- FisherScientific)
- b. ELISA mikroplaka okuyucu ve Spektrofotometre (SpectrostarNano- BMG LABTECT GmbH)
- c. Masaüstü soğutmalı mikro santrifüj (Eppendorf 5418)
- d. Masaüstü soğutmalı santrifüj (Centurion K2015)
- e. pH metre (Inolab WTW cond 3401)
- f. Vorteks(IKA, GENIUS3)
- g. Su banyosu (Nüve bath)
- h. Manyetik karıştırıcı ve ısıtıcı (Heidolph, MR-HeiStandart)
- i. Hassas terazi (Denner Instruments- TP124)
- j. -80°C Ultra Derin Dondurucu (WiseCryo)
- k. Buz Makinası (Scotsman AF80)
- l. Otoklav (HMC Hiclave HG-80)
- m. Pipet takımı (Ependorff)
- n. UV kabin (ESCO CLASS II TYPE A2)
- o. Etüv (Memmert UN55)

2.2. Deney Hayvanları ve Deney Grupları

Çalışmada Wistar albino, erkek, 250- 350 g ağırlığına sahip sıçanlar kullanıldı. Deney hayvanları Kocaeli Üniversitesi Deney Hayvanları Tıp Araştırma ve Uygulama Biriminden (DETAB) alındı. Deney hayvanları, sıcaklığı $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de, nemi %55 – 75 oranında korunan ve 12 saat aydınlık – 12 saat karanlık periyoduna sahip bir ortamda normal yemle, su kısıtlaması olmaksızın beslendi.

Bu düzendeki standart gece–gündüz döngüsü stres gruplarındaki hayvanlar için, kronik öngörülme-yen hafif stres uygulaması sırasında deney protokolüne uygun şekilde düzenlendi. Deney hayvanlarına uygulanan Kronik öngörülme-yen hafif stres uygulaması ve propolisin oral olarak her gün uygulanması DETAB'da

yapıldı.Çalışma Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 30.11.2017 tarih ve KOÜ HAYDEK 11/8- 2017 karar numarası ile onaylandı.

Deney hayvanları rastgeledört eşit gruba ayrılmıştır;

- Kontrol grubu (n=10): Herhangi bir stres prosedürüne maruz kalmadı.
- Propolis grubu (n=10): Herhangi bir stres prosedürüne maruz kalmadı. 35 gün boyunca günde bir kez 100 mg/kg dozunda propolis oral yoldan uygulandı (0,1 mL/10 g vücut ağırlığı).
- Stres grubu (n=10): 35 gün boyunca kronik öngörülemez stres modelindeki stresörlere maruz kaldı.
- Stres+Propolis grubu (n=10): 35 gün boyunca kronik öngörülemez stres modelindeki stresörlere maruz kalırken günde bir kez 100 mg/kg dozunda propolis oral yoldan uygulandı.

Deney gruplarına uygulanan depresyon modeli Kocaeli Üniversitesi DETAB' ta veteriner Hekim Cüneyt Özer'i gözetiminde ,Willner P. tarafından tanımlanan, Kronik öngörülmez stres prosedürü aşağıdaki gibi uygulanmıştır [113];

- 1) Sıcak suda yüzdürme (45°C/ 5 dakika)
- 2) Soğuk suda yüzdürme (4°C/ 5 dakika)
- 3) Kafes sallama (10 dakika)
- 4) Gündüz/gece döngüsünün ters çevrilmesi (24 saat)
- 5) Kuyruktan asma (1 dakika)
- 6) Kafes eğimlendirme (45°C/24 saat)
- 7) Kafesler arası deney hayvanı değiştirme (48 saat)
- 8) Talaş ıslatma (Kafes içerisindeki talaşın ıslanmasına yetecek kadar her kafes için ortalama 250 ml su kullanarak/24 saat)

Yukarıda belirtilen stres prosedürü 3. ve 4. grup deney hayvanlarına 35 gün boyunca her gün uygulanmıştır. Her bir stres prosedürü 6-7 kez kullanılmıştır. Deney hayvanlarının uygulanan stres prosedürünü öngörmesini engellemek amacıyla aynı prosedür iki gün üst üste uygulanmamıştır. Ayrıca stres prosedürü her gün farklı zaman dilimlerinde uygulanmıştır.

2.3. Deneyde Kullanılan Maddeler

Propolisin sudaki çözeltisi Aksu Vital Doğal Ürünler Anonim Şirketi tarafından 10 mg/mL konsantrasyonunda hazırlandı ve ekstrenin konsantrasyonu ve içeriği Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS, Agilent 7890A, 5975 MS; kolon:HP-5 (30mX0,25 mm;0,25 µm kalınlık); Taşıyıcı gaz: Helyum) ile önceden analiz edildi. Propolis ekstresi her gün 100 mg/kg dozunda oral yoldan uygulandı.

2.4. Karaciğer ve Böbrek Dokusunda Yapılan İncelemeler

Doku homojenizatlarının hazırlanması ve postmitokondri fraksiyonunun eldesi: Karaciğer ve böbrek dokuları tartıldı ve Power Gen 125- Fisher Scientific doku homojenizatöründe soğuk 0,15 M KCl çözeltisi ile homojenize edilerek %10'luk homojenatları (w/v) hazırlandı. Postmitokondri fraksiyonu eldesi için, doku homojenatları öncelikle 4°C'ye ayarlanmış soğuk santrifüjde 600 x g'de 10dakika santrifüj edildi. Daha sonra süpernatant alınarak ependorf santrifüjünde 15000 x g'de 15 dakika santrifüj edildi, süpernatant alındı ve 80°C'de saklandı.

a) ACTH düzeyinin ölçümü: Böbrek dokusundaki ACTH düzeylerinin ölçülmesi için ACTH ELISA kiti (Rat Adrenocorticotropik Hormone ELISA Kit, Biossay Technology) kullanıldı. Kit protokolüne uygun olarak temin edilen dokular prosedüre uygun olarak homojenize edildi. Örnekler kullanılmaya kadar -80°C'de saklandı.

ELISA test kit prosedürüne uygun olarak homojenat örnekleri ve ELISA kiti bileşenleri oda sıcaklığına gelene kadar bekletildi. Standart 1:2 oranında prosedüre uygun olarak seyreltilerek hazırlandı(48 ng/L, 24 ng/L, 12ng/L, 6ng/L ve 3 ng/L). Yıkama solüsyonu distile su kullanılarak 1: 20 oranında hazırlandı. Daha sonra her kuyucuğa 50 µL böbrek doku homojenatı ile 50 µL biyotinlenmiş antijen eklendi ve plakanın üstü kapatılarak 30 dk inkübe edildi.

İnkübasyon sonrasında kuyular boşaltılarak 300 µL yıkama solüsyonu ile 4-5 dk yıkandı ve kuruması için ters çevrildi. Ardından kuyulara 50 µL avidin- HRP eklenerek 30 dk, 37°C inkübe edildi. Daha sonra kuyular boşaltılarak dört kez yıkandı.

Dördüncü yıkamadan sonra sırasıyla 50 µL substrat A ve substrat B çözeltileri eklendi ve 37°C 10 dk inkübasyona bırakılarak reaksiyona girmesi beklendi.

Reaksiyonun sonlandırılması için 50 µL stop solüsyonu eklenerek 15 dakika içinde 450 nm dalga boyunda ELISA plate okuyucuda absorbanslar okundu. Standartların absorbansları kullanılarak standart eğri grafiği çizildi ve böbrek homojenat örneklerinin hesaplamaları yapılarak sonuçlar değerlendirildi. Sonuçlar ng/L olarak verildi.

b) AOPP düzeyinin ölçülmesi: Hanasand M. ve arkadaşlarının (2012) yılında uyguladığı yöntem baz alınarak uygulandı. Başlıca dinitroziniçeren çapraz bağlı protein ürünü olan AOPP tayini için, daha önceden hazırlanmış %10'luk karaciğer homojenatı 100x ve böbrek homojenatı 70x sulandırılarak sitrik asit içeren ve asidik ortamda absorbanslar 340 nm.okundu [84].

Ayırıcılar:

- 0,2 M sitrik asit
- 1,16 M KI
- Kromatin- T stok standardı (100nM): 281,7 mg kromatin-T 10 mL'de çözüldü. Sulandırılarak 12,5, 25, 50 ve 100 µM'lık çalışma standartları hazırlandı.

İşlem:

Mikroplaka kuyucuklarına 0,04 mL doku homojenatları ve 0,16 mL 0,2M sitrik asit konuldu (deney). Ayrıca 0,19 mL 0,2 M sitrik asit ve 0,01mL 1,16 M KI içeren (kör) ve 0,19 mL kromatin- T ve 0,01 KI içeren (standart) kuyucuklar hazırlandı daha sonra 2 dakika sonra kör tüpe karşı standart ve deney absorbansları 340nm'de okutuldu.

Hesaplama: Sonuçlar kloramin-T ile potasyum iyodürün (KI) oksidasyonu ile oluşan triiyodid ile standardize edilerek karşılaştırıldı. Sonuçlar nmol/mg protein olarak verildi.

c) Antioksidan kapasite (Ferric Reducing Antioxidant Power; FRAP) düzeyinin ölçülmesi: Benzie IF. ve arkadaşlarının (1996) tasarladıkları deney düzenine sabit kalınarak uygulandı. Yöntem Fe^{+3} 'ü Fe^{+2} 'ye indirgeyen antioksidan kapasitenin ölçülmesi prensibine dayanır [85].

Ayır a lar:

- 40 mM HCl
- 300 mM Asetat tamponu (3,6 pH): 3,1 g Na- asetat (3H₂O) 100 mL distile suda  ozd r lerek pH: 3,6'ya ayarlandı ve 16 mL asetik asit karıştırılarak 1 litreye distile su ile tamamlandı.
- 10 mM 2,4,6 Tripridil-s-triazin (TPTZ): 31,2 g TPTZ tartularak 10 mL (4 mM) HCl'de  oz nd .
- 20 mM FeCl₃ (6H₂O): 54 mg FeCl₃ (6H₂O) tartularak 10 mL distile suda  oz nd .
- FRAP  alışma ayıracı: Hazırlanan Asetat tamponu, TPTZ ve FeCl₃ (6H₂O) ayır a ları sırasıyla 10:1:1 oranında olacak şekilde karıştırıldı.

İşlem:

Mikroplaka kuyularına 0,008 mL homojenat ve 0,24 mL FRAP  alışma ayıracı (deney) konuldu. Ayrıca 0,1 mL askorbik asit (1, 0,5 ve 0,25 mM) 0,24 mL FRAP  alışma ayıracı içeren standartlar ile beraber 0,008 mL H₂O ve 0,24 mL FRAP  alışma ayıracı içeren k r hazırlandı. 37°C 4 dakika inkübe edildikten sonra mikroplaka okuyucuda 593 nm'de absorbanslar okundu.

Hesaplama: Sonuçlar askorbik asidin indirgeme potansiyeli ile karışlaştırarak hesaplandı ve nmol/mg protein olarak verildi.

d) GSH düzeyinin  l lmesi: Buetler E.'nin (1963) tasarladığı manuel deney düzeneği örnek alınarak uygulandı. GSH düzeyleri, Elman ayıracı (5,5'-ditiobis-2-nitro benzoik asit) kullanılarak tayin edildi. Bu ayır  dokulardaki serbest -SH (sülfhidril) grupları tarafından indirgenerek, 1 mol -SH grubu başına 1 mol DTNB (2-nitro-5-tiyobenzoik asit) oluşmaktadır. Bu sarı renkli ürünün absorbansı 412 nm'de okutuldu [86].

Ayır a lar:

- 0,15 M KCl
- Proteinsizleştirme ayıracı: 2,5 g glasiyal metafosforik asit, 300 mg Na- EDTA ve 45 g NaCl 150 mL distile suda  oz nd .
- 0,3 M Na₂HPO₄: 2,13 g Na₂HPO₄ 50 mL distile suda eritildi.
- Elman ayıracı: 4 mg DNTB (5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit)) 10 mL %1'lik sodyum sitrat ile  oz nd .

- GSH standartları: 1mg 10 mL’de eritildi (0,025, 0,50 ve 0,1 mg/ mL).

İşlem:

Dokuların %10’luk homojenatlarından 0,25 mL alındı, 0,375mL 0,15 M KCl ve 0,750 mL proteinsizleştirme ayırıcı ependof tüplere konularak karıştırıldı ve +4C° 10,000xg’de 10 dakika santrifüj edildi. Ayrıca körü (0,125 mL dH₂O 0,375 mLKCl ve 0,750 mL proteinsizleştirme ayırıcı) ve standartlar tüplerinede aynı işlem uygulandı.

Daha sonra elde edilen süpernatantlar da mikropılaka okuyuculara 0,05 mL pipetlenerek üzerine 0,3 M 0,2 mL Na₂HPO₄ ile 0,05 mL Elman ayırıcı konularak değişen renkler 412 nm’de ayıraç körüne okutuldu.

Hesaplama: GSH düzeyleri ekstinksiyon katsayısı $13.6 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ x cm}^{-1}$ ve standart kullanılarak hesaplandı ve sonuçlar nmol/mg protein olarak tanımlandı.

e) GSH-Px düzeylerinin ölçümü: Dokulardaki GSH-Px düzeylerinin ölçülmesi için GSH-Px kiti (Rat Gulutatione Peroxidase ELISA Kit, Biossay Technology) kullanıldı. Kit protokolüne uygun olarak temin edilen dokular prosedüre uygun olarak homojenize edildi. Örnekler kullanılıncaya kadar -80°C’de saklandı.

ELISA test kiti prosedürüne uygun olarak homojenat örnekleri ve ELISA kiti bileşenleri oda sıcaklığına gelene kadar bekletildi. Standart 1:2 oranında prosedüre uygun olarak seyreltilerek (640 U/ml, 320 U/mL, 160 U/mL, 80 U/mL ve 40 U/mL) ve yıkama solüsyonu distile su kullanılarak 1: 20 oranında hazırlandı. Mikropılakakuyucularına 50 µL standart ve 40 µL örnekler ve 10 µL GSH- Px antikoru pipetlendi. Daha sonra 50 µL Streptavidin-HRP eklenerek 37°C’de 60 dakika inkübe edildi. Ardından kuyular boşaltılarak dört kere yıkama solüsyonu ile yıkama gerçekleştirildi. Beşinci yıkamadan sonra kuyucuklar boşaltılarak sırasıyla 50 µL subsurat A ve subsurat B çözeltileri eklendi ve 37°C’de 10 dk inkübasyona bırakılarak reaksiyona girmesi beklendi. Reaksiyonun sonlandırılması için 50 µL stop solüsyonu eklenerek 15 dakika içinde 450 nm dalga boyunda ELISA Plate okuyucu da absorbanslar okundu. Standartların absorbansları kullanılarak standart eğri grafiği çizildi ve doku örneklerinin hesaplamaları yapılarak sonuçlar değerlendirildi. Sonuçlar IU/mL olarak verildi.

f) Katalaz düzeylerinin ölçülmesi: 1993 yılında araştımacı Warhington V.' nin uygulamış olduğu manuel method uygulandı. Substrat olarak H₂O₂ kullanıldı. 1 ünite KAT 1 µmol H₂O₂'e her dakikada 25°C'de (pH:7) 1 dakikada metabolize eden enzim miktarı olarak tanımlanmaktadır [87].

Ayıracılar:

- 0,05 M potasyum fosfat tamponu (pH 7.0)
- 59 mM H₂O₂ (pH 7,0 ve 0,05 M potasyum fosfat tamponu ile hazırlandı)

İşlem:

Spektrofotometre kuyucuklarına 1,9 mL distile su ve 1 mL 59 mM H₂O₂ konuldu ve üzerlerine 0,1 mL 10 kez sulandırılmış karaciğer veya 7 kere sulandırılmış böbrek homojenatları eklendi. 240 nm'de ultraviyole spektrofotometre de absorbans azalması 20 saniye arayla 5 kez okunarak izlendi.

Hesaplama: Sonuçlar ekstinksiyon katsayısı (40 M⁻¹cm⁻¹) kullanılarak hesaplandı ve nmol/dk/mg protein olarak verildi.

g) Kortizol düzeyinin ölçülmesi: Böbrek dokusundaki Kortizol düzeylerinin ölçülmesi için (Rat Cortisol ELISA kit, Biossay Tecnology) kullanıldı. Kit protokolüne uygun olarak temin edilen dokular prosedüre uygun olarak homojenize edildi. Örnekler kullanılmışa kadar -80°C'de saklandı.

ELISA test kiti prosedürüne uygun olarak homojenat örnekleri ve ELISA kiti bileşenleri oda sıcaklığına gelene kadar bekletildi. Standart 1:2 oranında prosedüre uygun olarak seyreltildi (240 ng/mL, 120 ng/mL, 60 ng/mL, 30 ng/mL ve 10 ng/mL) ve yıkama solüsyonu distile su kullanılarak 1: 20 oranında hazırlandı. Mikroplakakuyucuklarına 50 µL standartlar standart kuyularına pipetlendi. Örnek kuyularına ise 40 µL örnekler ve 10 µL anti-COR antikoru pipetlendi. Daha sonra 50 µL Streptavidin-HRP eklenerek 37°C'de 60 dakika inkübe edildi. Ardından kuyular boşaltılarak dört kere yıkama solüsyonu ile yıkama gerçekleştirildi. Beşinci yıkamadan sonra kuyular boşaltılarak sırasıyla 50 µL substrat A ve substrat B çözeltileri eklendi ve 37 °C'de 10 dk inkübasyona bırakılarak reaksiyona girmesi beklendi. Reaksiyonun sonlandırılması için 50 µL stop solüsyonu eklenerek 15 dakika içinde 450 nm dalga boyunda ELISA plate okuyucu da absorbanslar okundu.

Standartların absorbansları kullanılarak standart eğri grafiği çizildi ve böbrek doku örneklerinin hesaplamaları yapılarak sonuçlar değerlendirildi. Sonuçlar ng/mL olarak verildi.

h) MDA düzeyinin ölçülmesi: Lipit peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olan MDA'nın ölçümü TBA (tiyobarbitürik asit) ile kompleks oluşturması prensibine dayanır. Oluşan kompleks spektrofotometrik olarak ölçüldü [88].

Ayıraçlar:

- TEP standardı (1,1,3,3-tetraetoksiopropan): 22 mg TEP 10 mL distile suda çözünerek 10 mM'lık ana standart hazırlandı. Daha sonra bu ana standart 1000 kez sulandırılarak 10 μ M'lık çalışma standardı hazırlandı.
- Buege- Aust ayırıcı: 375 mg TBA bir miktar distile suda eritildi. Üzerine 15 mL%100'lük trikloroasetik asit (TCA) ve 2.1 mL derişik hidroklorik asit (HCl) eklendi, karıştırıldı ve çözüldükten sonra 100 mL'yedistile su ile tamamlandı.

İşlem:

0.25 mL homojenatların üzerine 0.25 mLdistile su ve 2 mL Buege- Aust ayırıcı eklenerek, daha önceden ayarlanmış olan kaynar su banyosunda 15 dk tutuldu. Soğuduktan sonra ise 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek elde edilen süpernatantların absorbansları köre karşı okundu. Ayrıca kör ve standart tüplerde hazırlandı.

Hesaplanma: Sonuçlar ekstinksiyon katsayısı ($\epsilon=1,56 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) ile standardın absorbansı değerlendirilerek hesaplandı ve nmol/ mg protein olarak verildi.

ı) SOD düzeyinin ölçülmesi: Böbrek dokusundaki SOD düzeylerinin ölçülmesi için (Rat Superoxide Dismutase 1, Soluble ELISA kit, Biossay Tecnology) kullanıldı. Kit protokolüne uygun olarak temin edilen dokular prosedüre uygun olarak homojenize edildi.Örnekler kullanılıncaya kadar -80°C 'de saklandı.

ELISA test kiti prosedürüne uygun olarak homojenat örnekleri ve ELISA kiti bileşenleri oda sıcaklığına gelene kadar bekletildi. Standart 1:2 oranında prosedüre uygun olarak seyreltildi (1200 ng/L, 600 ng/L, 300 ng/L, 150 ng/L ve 75 ng/L) ve yıkama solüsyonu distile su kullanılarak 1:20 oranında hazırlandı. Mikroplaka

kuyucuklarına 50 µL standartlar standart kuyularına pipetlendi. Örnek kuyularına ise 40 µL örnekler ve 10 µL anti-SOD1 antikoruna pipetlendi. Daha sonra 50 µL Streptavidin-HRP eklenerek 37°C'de 60 dakika inkübe edildi. Ardından kuyular boşaltılarak dört kez yıkama solüsyonu ile yıkama gerçekleştirildi.

Beşinci yıkamadan sonra kuyular boşaltılarak sırasıyla 50 µL substrat A ve substrat B çözeltileri eklendi ve 37°C'de 10 dk inkübasyona bırakılarak reaksiyona girmesi beklendi. Reaksiyonun sonlandırılması için 50 µL stop solüsyonu eklenerek 15 dakika içinde 450 nm dalga boyunda ELISA plate okuyucu da absorbanslar okundu. Standartların absorbansları kullanılarak standart eğri grafiği çizildi ve böbrek doku örneklerinin hesaplamaları yapılarak sonuçlar değerlendirildi. Sonuçlar ng/L olarak verildi.

j) Protein tayini: Doku homojenatlarında ve posmitokondri fraksiyonlarında protein tayini Bişinkoninik asit metodu (BCA) ile belirlendi [89].

Ayırıcılar:

- Bişinkoninik asit (Bicinchoninic acid solution; Sigma)
- Protein renklendirme ayırıcı: 0,4 mL %4'lük CuSO₄ üzerine 20 mL bişinkoninik asit eklenerek hazırlandı.

İşlem:

Mikroplaka kuyucuklarına 0,2 mL protein renklendirme ayırıcı eklendi ve üzerine 10 kez sulandırılmış karaciğer veya 7 kez sulandırılmış böbrek homojenatları veya posmitokondri fraksiyonlarından 0.1 mL eklendi. Ayrıca protein standartları da hazırlandı. Karıştırıldıktan sonra 37°C' de 30 dakika inkübe edildi. Daha sonra oda sıcaklığında soğutularak oluşan rengin absorbansı 562 nm'de köre karşı okundu.

2.5. Serumda Yapılan İncelemeler

a) ACTH düzeyinin ölçümü: Serum ACTH düzeylerinin ölçülmesi için ACTH ELISA kiti (Rat Adrenocorticotrophic Hormone ELISA Kit, Biossay Technology) kullanıldı ve kit protokolüne uygun olarak temin edilen serumlar prosedüre uygun hazırlanarak böbrek dokusu için tanımlanan yöntem uygulandı. Sonuçlar ng/L olarak verildi.

b) AOPP düzeyinin ölçülmesi: Hanasand M. ve arkadaşlarının (2012) yılında uyguladığı yöntem temel alınarak uygulandı. Mikroplaka kuyucuklarına 5 kez sulandırılarak 0,2 mL serum alınarak karaciğer ve böbrek dokuları için yukarıda tanımlanan yöntem uygulanarak yapıldı. Sonuçlar $\mu\text{mol/L}$ kloramin-T eşdeğeri olarak verildi [84].

c) Antioksidan kapasite (FRAP) düzeyinin ölçülmesi: Mikroplaka kuyucuklarına 0,2 mL çalışma ayırıcı ve 0,01 mL serum eklenerek karaciğer ve böbrek dokuları için tanımlanan yöntem uygulanarak yapıldı. Sonuçlar 1 mM askorbik asidin FRAP değeri 2000 olarak kabul edilerek μM olarak verildi [85].

d) Kortizol düzeyinin ölçülmesi: Serum Kortizol düzeylerinin ölçülmesi için (Rat Cortisol ELISA kit, Biossay Technology) kullanıldı. Kit protokolüne uygun olarak temin edilen serumlar prosedüre uygun hazırlandı ve böbrek dokusu için tanımlanan yöntem uygulanarak yapıldı. Sonuçlar ng/mL olarak verildi.

e) MDA düzeyinin ölçülmesi: Mikroplaka kuyucuklarına 0,125 mL serum üzerine 0,125 mL 0,05 M PBs ve 0,5 mL Buege- Aust ayırıcı eklenerek karaciğer ve böbrek dokuları için tanımlanan yöntem uygulandı. Sonuçlar ekstinksiyon katsayısı ($\epsilon=1,56 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1}/\text{cm}^{-1}$) ile standardın absorbansı değerlendirilerek hesaplandı. Sonuçlar nmol/mg protein olarak verildi [88].

2.6. İstatiksel İncelemeler

Sonuçlar Ortalama \pm SD olarak verildi. Grup dağılımları Levene's testiyle saptandı ve ANOVA (post-hoc Tukey) veya Kruskal-Wallis (post-hoc Mann-Whitney U) testi kullanıldı.

3. BULGULAR

Çalışmamızda sıçanlara stres ve stres ile birlikte propolisin karaciğer ve böbrek dokuları ile serumdaki oksidasyon ve glikasyon ürünleri ile antioksidan göstergelerle beraber stres hormonları üzerine etkileri araştırıldı. Bu amaçla: Karaciğer dokusunda; AOPP,FRAP düzeyleri ile beraber GSH, GSH-Px, KAT, MDA ve SOD düzeyleri, böbrek dokusunda; MDA, AOPP düzeyleri ile birlikte GSH, FRAP, SOD, KAT ve GSH-Px aktiviteleri ve ACTH ile KORT değerleri incelendi.Serumda ise FRAP ve MDA aktiviteleri ile ACTH ile KORT düzeyleri incelendi.

3.1. Karaciğerde Elde Edilen Bulgular

AOPP (F=7,721; dF=3 ; P=0,05, Tukey HSD) düzeyleri değerlendirildiğinde stres grubunda kontrol grubuna göre %34,2 oranında artış görülürken, propolis uygulamasının ardından %32,2 anlamlı olarak azaldığı görüldü (Şekil 3.1)

Karaciğer SOD (F=4,349; dF= 3; P=0,005, Tukey HSD) aktiviteleri ise stres grubunda propolis grubuna göre %19,4 oranında artış görüldü, propolis uygulamasının ardından stres+ propolis grubunda %15,9 oranında anlamlı bir azalma saptandı(Şekil 3.2) (Tablo 3.1, 3.2).

Karaciğerde GSH-Px (F= 19,665; dF= 3; P= 0,005, Tukey HSD) ve MDA (F= 3,481; dF= 3; P= 0,005, Tukey HSD) düzeylerinde kontrol grubuna göre stres grubunda sırasıyla %26,9 ve %29,5 oranlarında anlamlı artışlar saptandı. Ancak uygulanan propolisin ardından GSH-Px'de %29,2 oranında azalma görülürken MDA'da anlamlı bir fark bulunamadı (Tablo 3.1) (Şekil 3.3, 3.4).

Propolis uygulamasından sonra karaciğer KAT (F= 1,546; dF= 3; P= 0,005, Tukey HSD) aktivitesi ve FRAP(F= 1,318; dF=3; P= 0,005, Tukey HSD) değerlerinde gruplar arasında değişiklik bulunamadı (Tablo 3.2).

Tablo 3.1. Stres ve propolis uygulanan sıçanlarda karaciğer melanoaldehit (MDA), proteinlerin ileri oksidasyon ürünleri (AOPP), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve superoksit dismutaz (SOD) aktiviteleri üzerine etkisi

	MDA(\pm SD ^{**})* (nmol/mg protein)	AOPP(\pm SD ^{**})* (nmol/mg protein)	GSH-P(x) (\pm SD ^{**})* (ng/mL)
Kontrol	1,00 \pm 0,49 ^a	77,7 \pm 20,1 ^a	458,5 \pm 51,6 ^a
Propolis	1,15 \pm 0,52 ^a	76,6 \pm 28,4 ^a	467,1 \pm 75,1 ^a
Stres	1,82 \pm 0,66 ^b	118,2 \pm 23,9 ^b	627,4 \pm 75,2 ^b
Stres+ Propolis	1,28 \pm 0,71 ^a	80,3 \pm 20,4 ^c	443,9 \pm 40,1 ^c
Sigma	,026	,001	,000
F	3,481	7,271	19,665
dF	3	3	3
SPSS	Tukey HSD	Tukey HSD	Tukey HSD

* Tüm deneyler, her için toplam 40 (her grup için 10) Wistar albino erkek sıçan ile tasarlanmıştır
**Değerler, ortalama \pm standart sapma (SD) olarak ifade edilmiştir ve sütunlardaki farklı harfler gruplar arasındaki farklılıkları gösterilmektedir (p <0.05)

Tablo 3.2. Stres ve propolis uygulanan sıçanlarda karaciğer katalaz (KAT) antioksidan aktivite (FRAP) değerleri üzerine etkisi

	KAT(\pm SD ^{**})* (nmol/dk/mg protein)	FRAP(\pm SD ^{**})* (nmol/mg protein)	SOD(\pm SD ^{**})* (ng/mL)
Kontrol	198,2 \pm 48,5 ^a	102,5 \pm 18,2 ^a	0,89 \pm 0,07 ^a
Propolis	253,0 \pm 54,2 ^a	108,0 \pm 26,8 ^a	0,79 \pm 0,08 ^b
Stres	255,7 \pm 60,9 ^a	123,4 \pm 26,3 ^a	1,01 \pm 0,26 ^c
Stres+ Propolis	234,9 \pm 81,1 ^a	109,2 \pm 25,4 ^a	0,81 \pm 0,16 ^b
Sigma	0,165	0,0283	0,010
F	1,801	1,318	4,349
dF	3	3	3
SPSS	ANOVA- Tukey HSD	ANOVA- Tukey HSD	ANOVA- Tukey HSD

*Tüm deneyler, her için toplam 40 (her grup için 10) Wistar albino erkek sıçan ile tasarlanmıştır
**Değerler, ortalama \pm standart sapma (SD) olarak ifade edilmiştir ve sütunlardaki farklı harfler gruplar arasındaki farklılıkları gösterilmektedir (p <0.05)

3.2. Böbrekte Elde Edilen Bulgular

KÖHS ile stres uygulanan sıçanların böbrek dokusunda kontrole göre stres grubunda MDA (F= 4,826; dF= 3; P= 0,005, Tukey HSD), AOPP (F= 9,085; dF= 3; P= 0,005, Tukey HSD) ve SOD (F= 4,920; dF= 3; P= 0,005, Tukey HSD) sırasıyla %37, %49,2 ve %18,7 anlamlı artışlar saptandı.

Bu artışlar propolis uygulaması sonrasında MDA düzeylerinde değişim gözlenmezken, AOPP düzeyi %37,5 ve SOD aktivitesi 24,6 oranında anlamlı olarak azalmıştır (Tabla 3.3) (Şekil 3.1, 3.2, 3.4).

Propolis uygulaması ile GSH (F= 9,230; dF= 3; P= 0,005, Tukey HSD) düzeylerinde stres grubunda kontrol grubuna göre %46,5 oranında artış görülürken, propolis uygulamasının ardından %36,6 oranında anlamlı olarak azaldığı görüldü (Şekil 3.5).

Ayrıca FRAP (F= 4,646; dF= 3; P= 0,005, Tukey HSD) değerlerinde stres grubunda kontrol grubuna göre %21,4 oranında artış görülürken, propolis uygulamasının ardından %19,9 oranında anlamlı azalma saptandı (Şekil 3.6).

GSH-Px (F= 3,943; dF= 3; P= 0,005, Tukey HSD) aktiviteleri incelendiğinde yalnızca kontrole göre stres grubunda bir artma görüldü (Tablo 3.4) (Şekil 3.3).

ACTH (F= 12,856; dF 3; P= 0,005, Tukey HSD) düzeylerinde kontrol grubuna göre stres grubu karşılaştırıldığında %36,1 oranında bir artma ve stres grubu ile stres+propolis grubu arasında %25,7 oranında anlamlı bir azalma bulundu (Şekil 3.7) (Tablo 3.5).

Böbrekte KORT (F= 3,226; dF= 3; P= 0,005, Tukey HSD) düzeyinde ve KAT (F= 1,801; dF= 3; P= 0,005, Tukey HSD) aktivitesi bakımından gruplar arası bir fark bulunamadı. (Tablo 3.5).

3.3. Serumda Elde Edilen Bulgular

Serum endojen MDA (F=3,174; dF=3; P=0,005, Tukey HSD) düzeyleri stres uygulanan sıçanlarda kontrol grubuna göre %21,9 oranında artış gösterdi. Buna karşılık, propolis uygulaması sıçanlardaki endojen MDA düzeyini %19,5 oranında anlamlı olarak azalttı. AOPP (F=3,915; dF= 3; P= 0,005, Tukey HSD) düzeylerinde ise stres grubunda propolis grubuna göre %31,5 oranında arttırdığı görüldü ve bu artışın propolis uygulanan sıçanlarda %32,9 oranında anlamlı olarak azaldığı görüldü (Şekil 3.4, 3.1 ve 3.6). Propolis uygulaması serum FRAP (F=5,603; dF=3; P=0,005, Tukey HSD) değerlerinde kontrol, propolis, stres ve stres+propolis grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunamadı (Tablo 3.6) (Şekil 3.4, 3.1 ve 3.6).

Propolis uygulanan sıçanlarda yapılan hormon düzeyleri incelemelerinde ACTH (F=12,856; dF=3;P=0,005,Tukey HSD) ve KORT (F=5,120; ; dF=3;P=0,005,Tukey HSD) düzeylerinin stres uygulanan sıçanlarda kontrol grubuna göre sırasıyla %33,4 ve %25,7 oranında anlamlı artışlar görüldü. Bu düzeyler propolis uygulaması ile sırasıyla %38,2 ile %20 oranında azaldı (Tablo 3.7) (Şekil 3.7, 3.8).

Tablo 3.3. Stres ve propolis uygulanan sıçanlarda böbrek melanoaldehit (MDA), proteinlerin ileri oksidasyon ürünleri (AOPP) ve superoksitdismutaz (SOD) aktiviteleri üzerine etkisi

	MDA(\pm SD ^{**})* (nmol/mg protein)	AOPP(\pm SD ^{**})* (nmol/mg protein)	SOD(\pm SD ^{**})* (ng/mL)
Kontrol	1,98 \pm 0.51 ^a	53.0 \pm 24.3 ^a	0.84 \pm 0.07 ^a
Propolis	2.37 \pm 0.67 ^a	70.0 \pm 24.5 ^a	0.79 \pm 0.02 ^a
Stres	3.14 \pm 0.85 ^b	104.4 \pm 27.3 ^b	1.01 \pm 0,08 ^b
Stres+ Propolis	2.67 \pm 0.73 ^a	65.2 \pm 13.9 ^c	0.86 \pm 0.02 ^c
Sigma	0,006	0,000	0,006
F	4,826	9,085	4,920
dF	3	3	3
SPSS	ANOVA- Tukey HSD	ANOVA- Tukey HSD	ANOVA- Tukey HSD

* Tüm deneyler, her için toplam 40 (her grup için 10) Wistar albino erkek sıçan ile tasarlanmıştır

**Değerler, ortalama \pm standart sapma (SD) olarak ifade edilmiştir ve sütunlardaki farklı harfler gruplar arasındaki farklılıkları gösterilmektedir (p <0.05)

Tablo 3.4. Stres ve propolis uygulanan sıçanlarda böbrek glutatyon (GSH) düzeyleri, antioksidan aktivite (FRAP) ve glutatyonperoksidaz (GSH-Px) aktiviteleri üzerine etkisi

	GSH(\pm SD ^{**})* (nmol/mL)	FRAP(\pm SD ^{**})* (nmol/mg protein)	GSH-Px(\pm SD ^{**})* (nmol/mL)
Kontrol	23.9 \pm 6.50 ^a	114.8 \pm 24.8 ^a	391.3 \pm 83.7 ^a
Propolis	29.3 \pm 6.15 ^a	111.1 \pm 20.6 ^a	406.9 \pm 47.4 ^a
Stres	44.6 \pm 11.3 ^b	146.2 \pm 26.0 ^b	474.1 \pm 47.3 ^b
Stres+ Propolis	28.3 \pm 11.9 ^c	117.1 \pm 22.3 ^c	410.4 \pm 45.4 ^a
Sigma	0,000	0,008	0,016
F	9,230	4,646	3,943
dF	3	3	3
SPSS	ANOVA- Tukey HSD	ANOVA- Tukey HSD	ANOVA- Tukey HSD

* Tüm deneyler, her için toplam 40 (her grup için 10) Wistar albino erkek sıçan ile tasarlanmıştır
**Değerler, ortalama \pm standart sapma (SD) olarak ifade edilmiştir ve sütunlardaki farklı harfler gruplar arasındaki farklılıkları gösterilmektedir (p <0.05)

Tablo 3.5. Stres ve propolis uygulanan sıçanlarda Adrenokortikotropik hormon (ACTH) düzeyi, Kortizol (KORT) değerleri ve Katalaz (KAT) aktivitesi böbrek dokusu üzerine etkisi

	ACTH(\pm SD ^{**})* (ng/mL)	KORTİZOL(\pm SD ^{**})* (ng/mL)	KAT(\pm SD ^{**})* (nmol/dk/mg protein)
Kontrol	20.2 \pm 2.57 ^a	58.7 \pm 6.96 ^a	81.2 \pm 23.9 ^a
Propolis	21.6 \pm 2.84 ^a	56.9 \pm 10.4 ^a	73.0 \pm 17.0 ^a
Stres	31.7 \pm 7.47 ^b	66.0 \pm 6.73 ^a	79.8 \pm 27.0 ^a
Stres+ Propolis	23.5 \pm 3.35 ^c	64.9 \pm 6.69 ^a	63.2 \pm 12.5 ^a
Sigma	0,000	0,034	0,219
F	12,856	3,226	1,546
dF	3	3	3
SPSS	ANOVA- Tukey HSD	ANOVA- Tukey HSD	ANOVA- Tukey HSD

**Değerler, ortalama \pm standart sapma (SD) olarak ifade edilmiştir ve sütunlardaki farklı harfler gruplar arasındaki farklılıkları gösterilmektedir (p <0.05)

Tablo 3.6. Stres ve propolis uygulanan sıçanlarda serum melanoaldehit (MDA), proteinlerin ileri oksidasyon ürünleri (AOPP) ve antioksidan aktivite (FRAP) değerleri üzerine etkisi

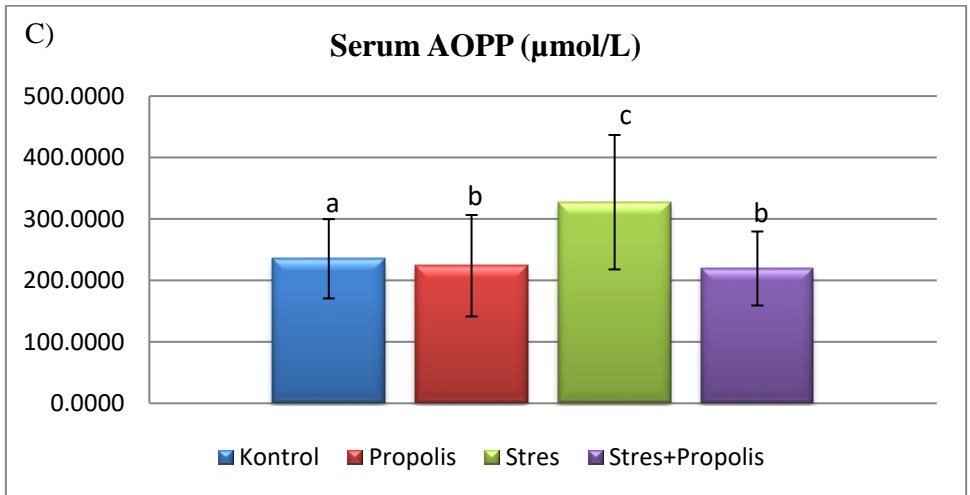
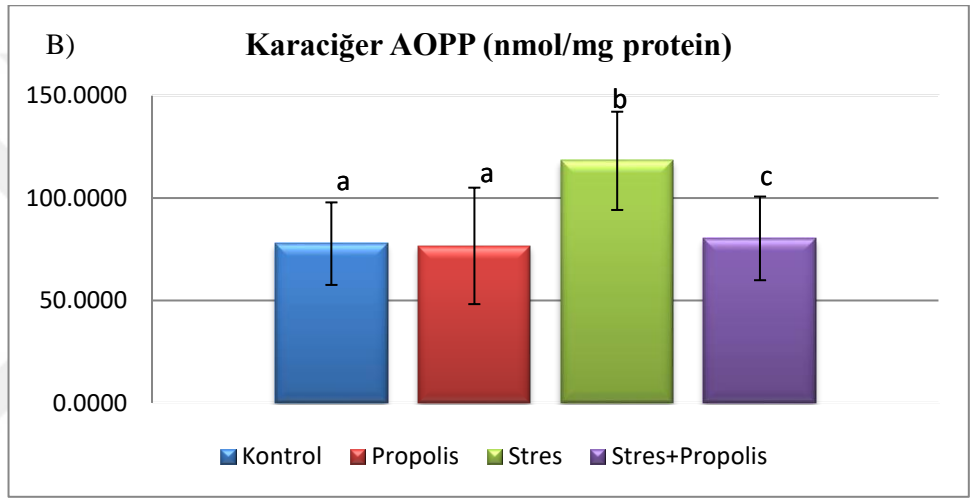
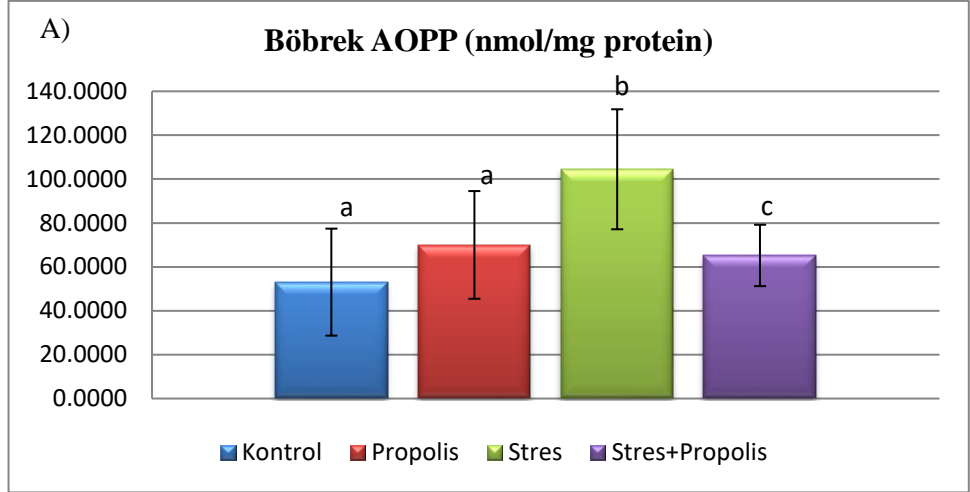
	MDA(\pm SD ^{**})* (μ mol/L)	AOPP(\pm SD ^{**})* (μ mol/L)	FRAP(\pm SD ^{**})* (μ mol/L)
Kontrol	0.46 \pm 0.10 ^a	235.2 \pm 64.5 ^a	170.8 \pm 18.1 ^a
Propolis	0.49 \pm 0.10 ^a	223.9 \pm 82.5 ^b	162.0 \pm 28.1 ^a
Stres	0.59 \pm 0.13 ^b	327.3 \pm 109.4 ^c	210.1 \pm 39.6 ^a
Stres+ Propolis	0.48 \pm 0.06 ^a	219.4 \pm 60.2 ^b	166.1 \pm 28.5 ^a
Sigma	0,036	0,016	0,008
F	3,174	3,915	4,646
dF	3	3	3
SPSS	ANOVA- Tukey HSD	ANOVA- Tukey HSD	ANOVA- Tukey HSD

* Tüm deneyler, her için toplam 40 (her grup için 10) Wistar albino erkek sıçan ile tasarlanmıştır
**Değerler, ortalama \pm standart sapma (SD) olarak ifade edilmiştir ve sütunlardaki farklı harfler gruplar arasındaki farklılıkları gösterilmektedir (p <0.05)

Tablo 3.7. Stres ve propolis uygulanan sıçanlarda serum adenokortikotropik hormon (ACTH) ve kortizol(KORT) düzeyleri üzerine etkisi

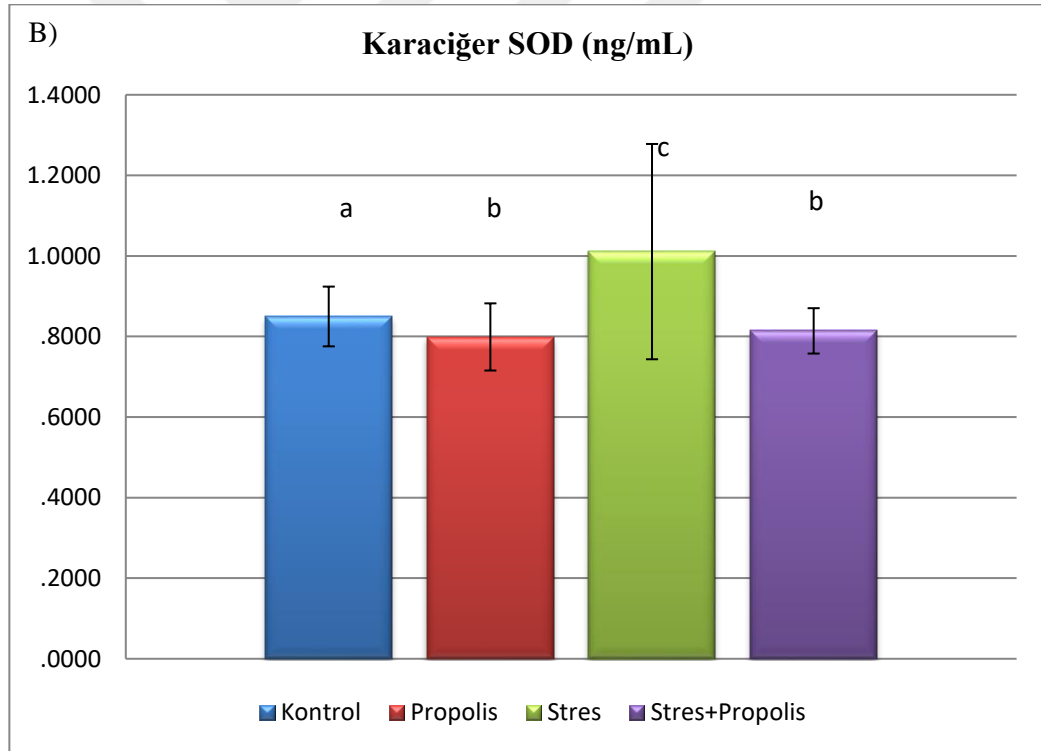
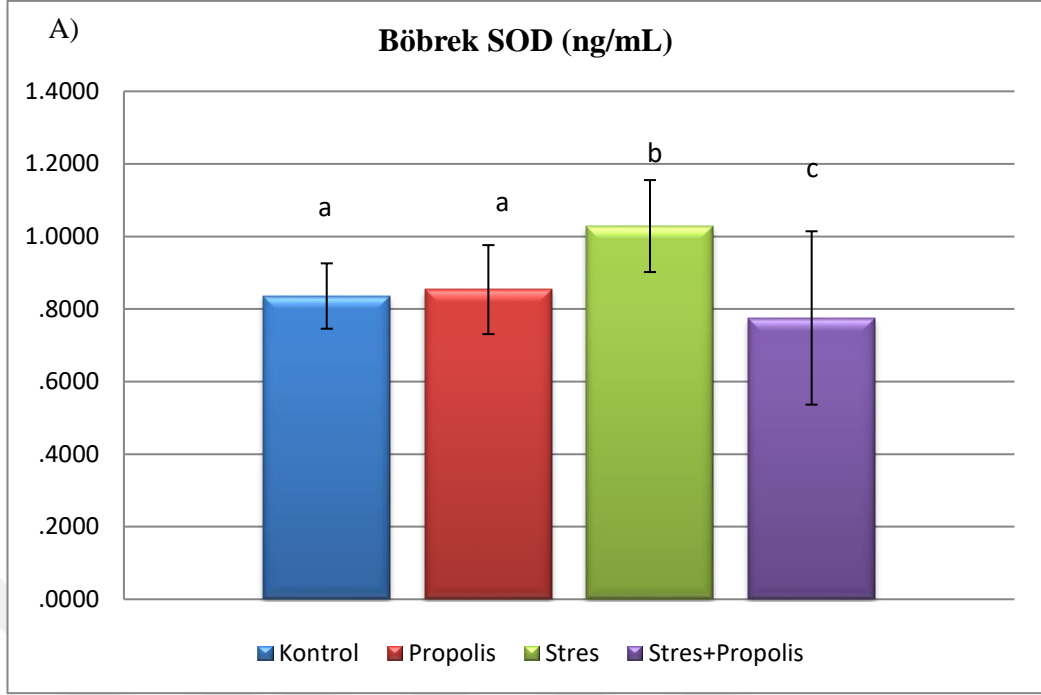
	ACTH(\pm SD ^{**})* (ng/mL)	KORTİZOL(\pm SD ^{**})* (ng/mL)
Kontrol	19.0 \pm 5.59 ^a	42.8 \pm 6.65 ^a
Propolis	20.0 \pm 3.90 ^a	49.3 \pm 7.31 ^a
Stres	28.5 \pm 7.18 ^b	57.7 \pm 13.0 ^b
Stres+ Propolis	17.6 \pm 3.47 ^c	46.1 \pm 7.20 ^c
Sigma	0,000	0,005
F	8,832	5,120
dF	3	3
SPSS	ANOVA- Tukey HSD	ANOVA- Tukey HSD

* Tüm deneyler, her için toplam 40 (her grup için 10) Wistar albino erkek sıçan ile tasarlanmıştır
**Değerler, ortalama \pm standart sapma (SD) olarak ifade edilmiştir ve sütunlardaki farklı harfler gruplar arasındaki farklılıkları gösterilmektedir (p <0.05)



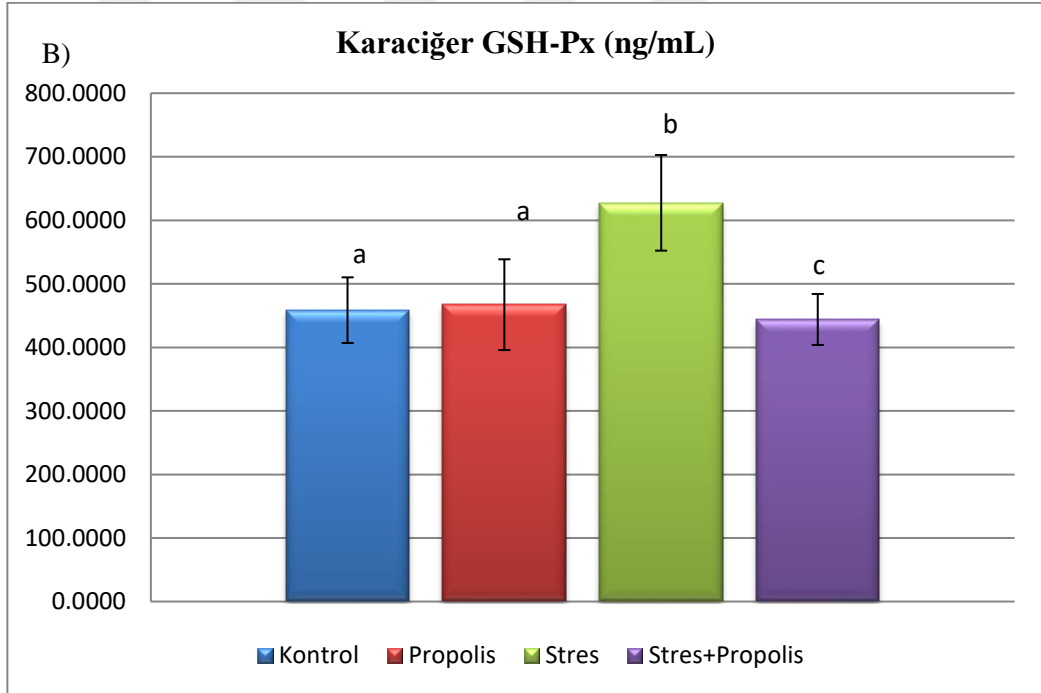
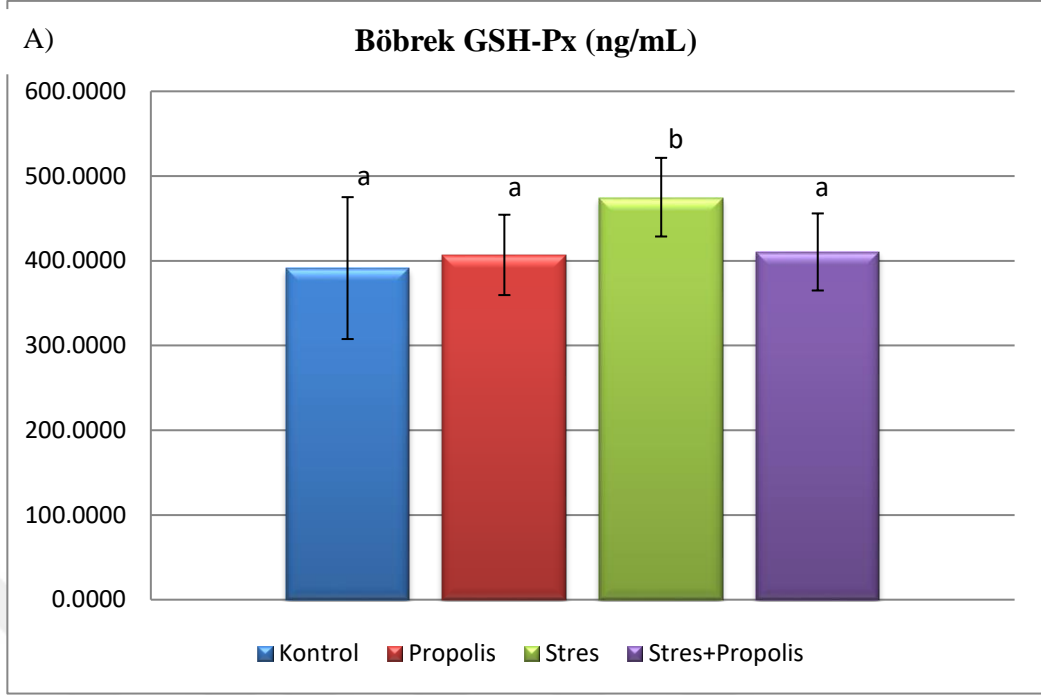
**Değerler, ortalama \pm standart sapma (SD) olarak ifade edilmiştir ve sütunlardaki farklı harfler gruplar arasındaki farklılıkları gösterilmektedir ($p < 0.05$)

Şekil 3.1. Stres ve propolis uygulanan sıçanlarda karaciğer (B), böbrek (A) dokularında ve serumda (C) proteinlerin ileri oksidasyon ürünleri (AOPP) düzeyleri üzerine etkisi (Ortalama \pm SD)



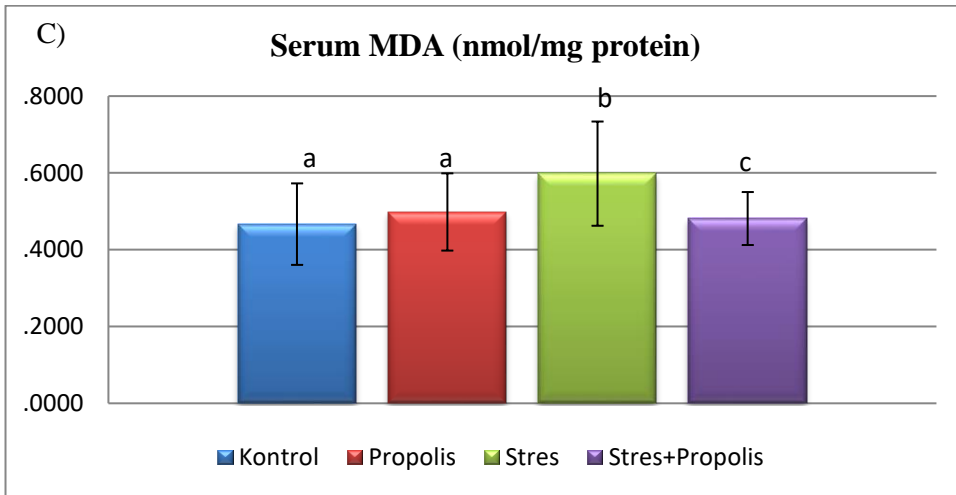
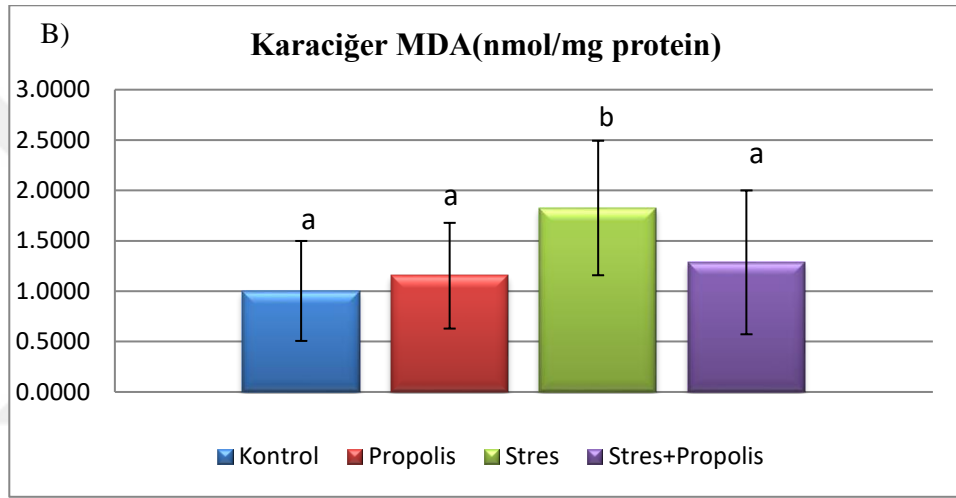
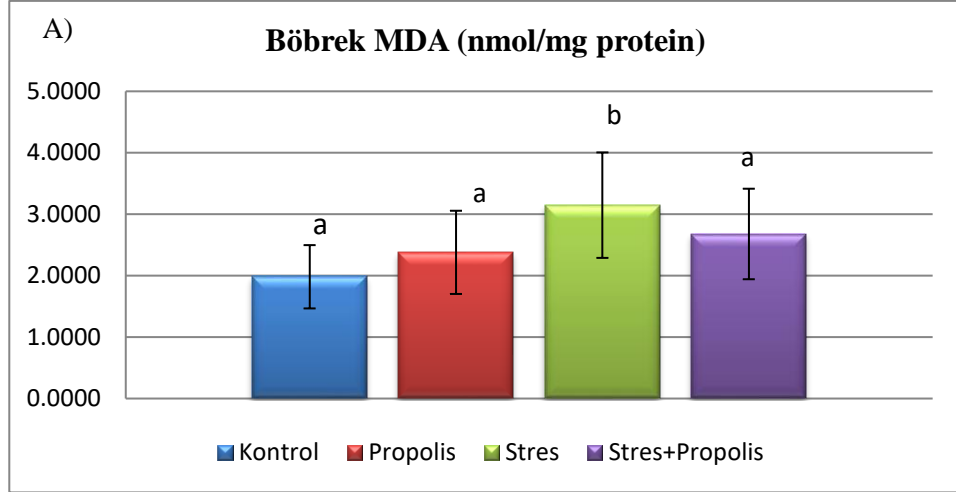
**Değerler, ortalama \pm standart sapma (SD) olarak ifade edilmiştir ve sütunlardaki farklı harfler gruplar arasındaki farklılıkları gösterilmektedir ($p < 0.05$)

Şekil 3.2. Stres ve propolis uygulanan sıçanlarda karaciğer (B) ve böbrek (A) dokularında superoksitdismutaz (SOD) aktiviteleri üzerine etkisi (Ortalama \pm SD)



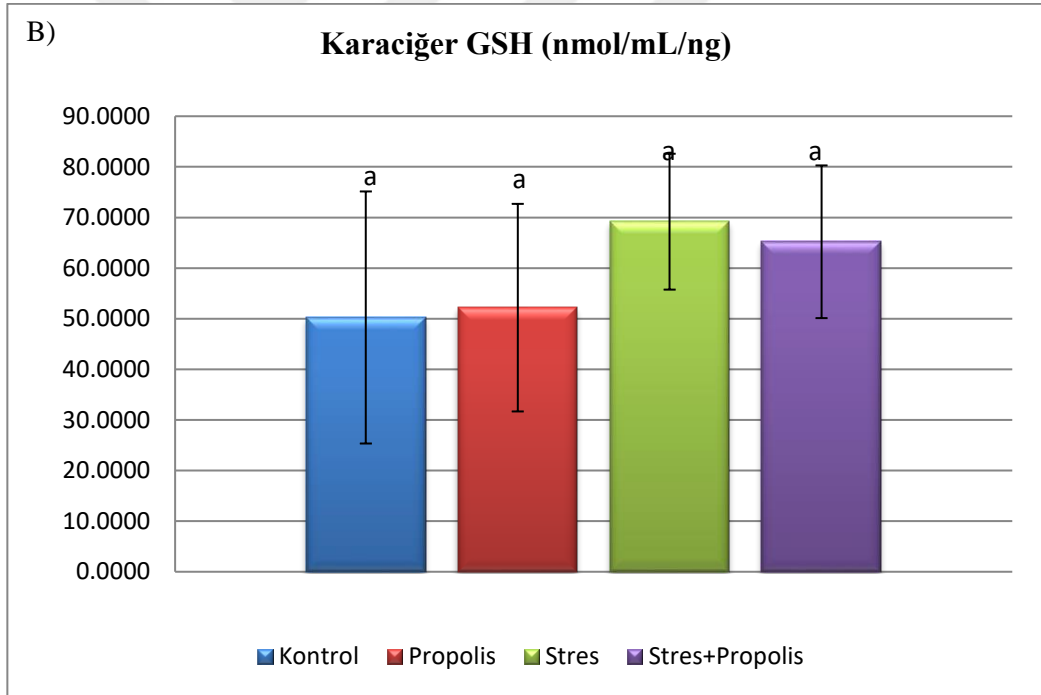
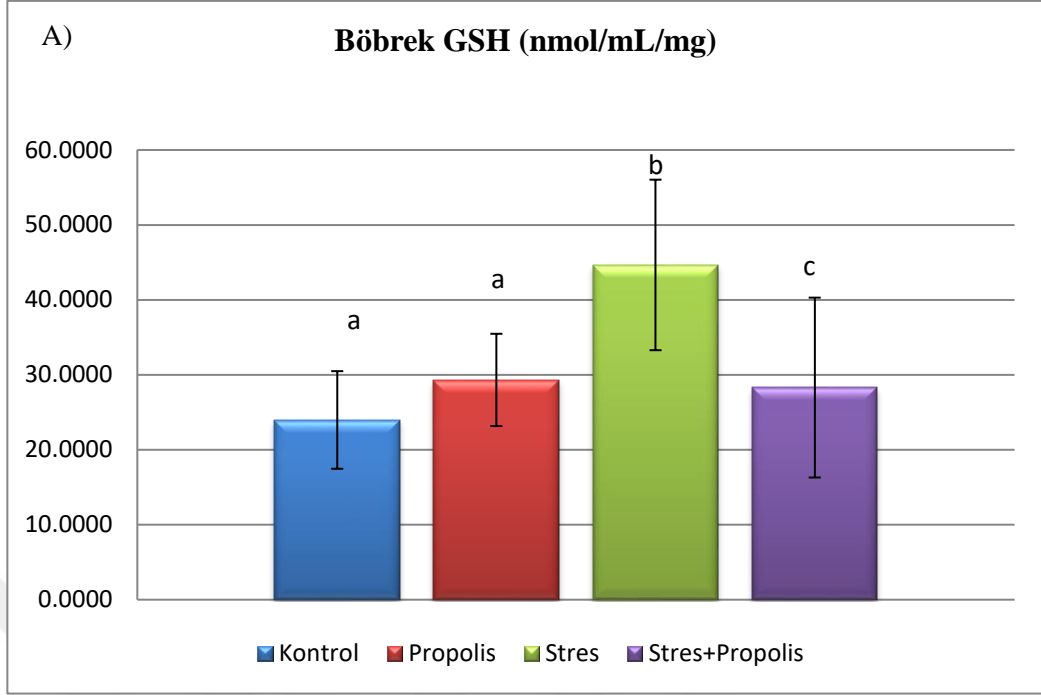
**Değerler, ortalama \pm standart sapma (SD) olarak ifade edilmiştir ve sütunlardaki farklı harfler gruplar arasındaki farklılıkları gösterilmektedir ($p < 0.05$)

Şekil 3.3. Stres ve propolis uygulanan sıçanlarda karaciğer (B) ve böbrek (A) dokularında glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktiviteleri üzerine etkisi (Ortalama \pm SD)



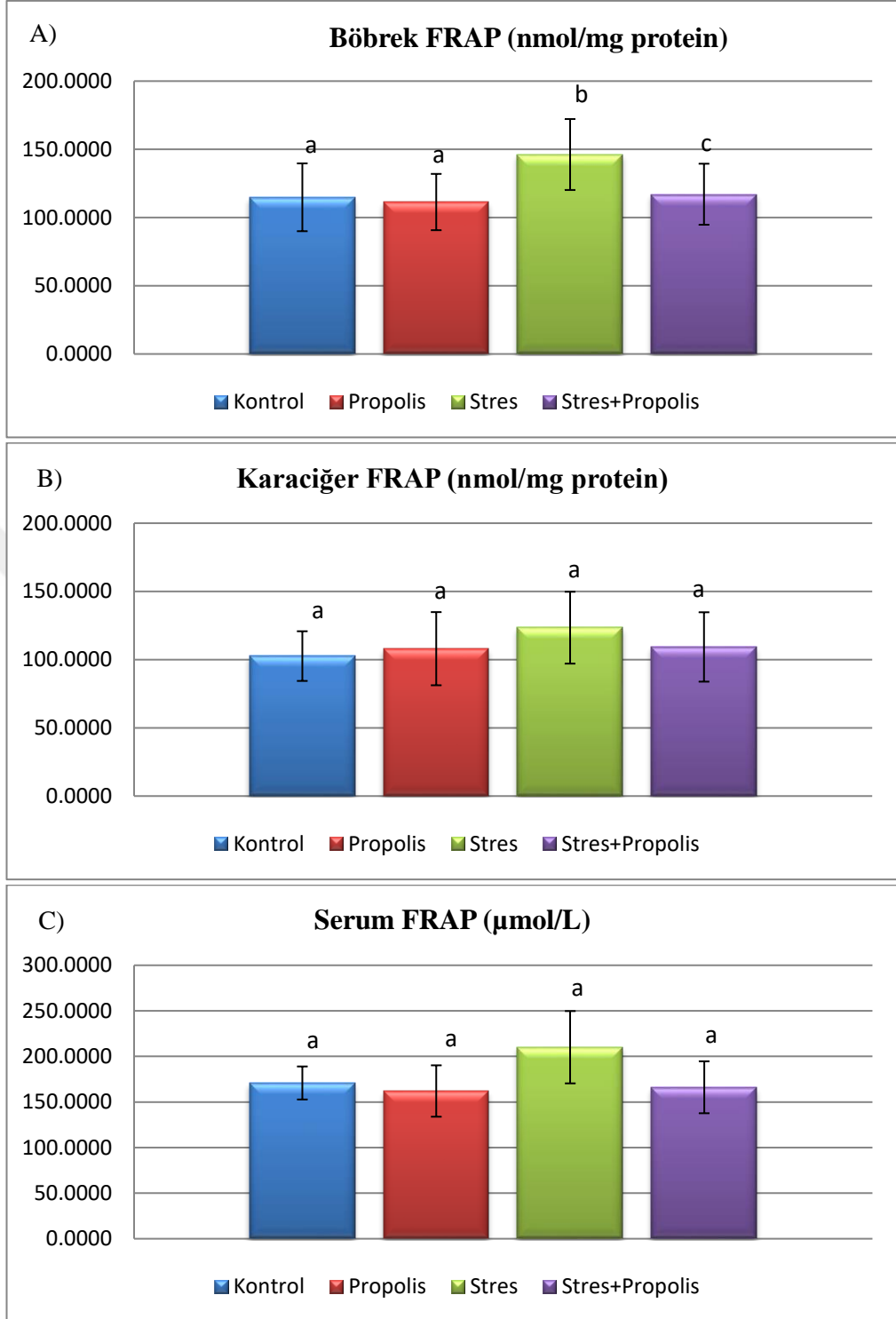
**Değerler, ortalama \pm standart sapma (SD) olarak ifade edilmiştir ve sütunlardaki farklı harfler gruplar arasındaki farklılıkları gösterilmektedir ($p < 0.05$)

Şekil 3.4. Stres ve propolis uygulanan sıçanların karaciğer (B), böbrek (A) dokuları ve serumda (C) malondialdehit (MDA) düzeyleri üzerine etkisi (Ortalama \pm SD)



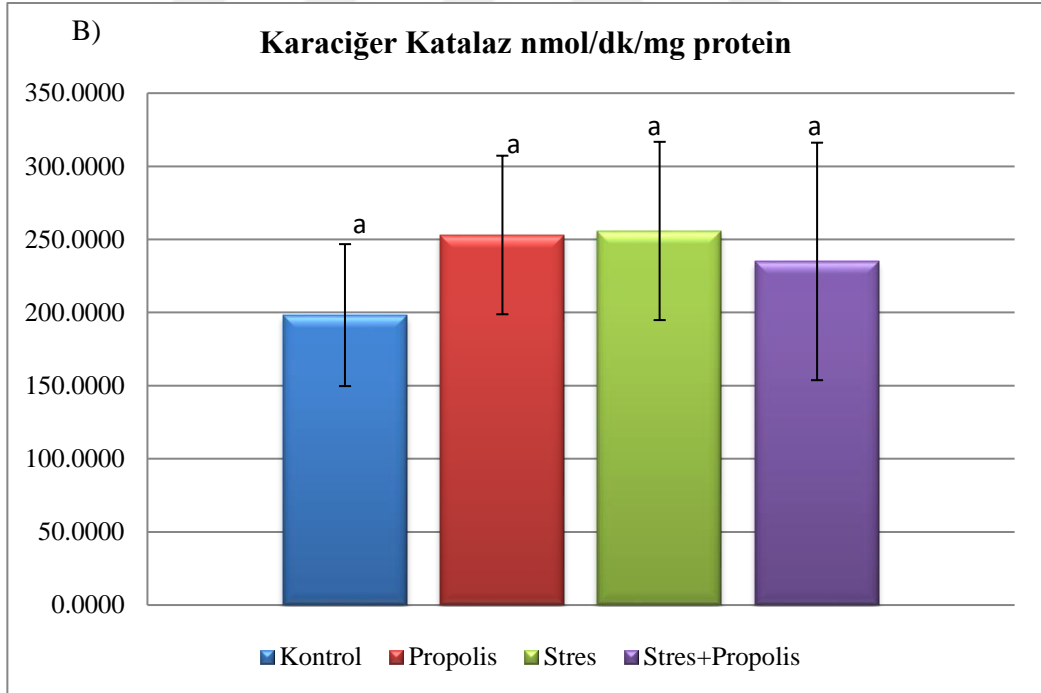
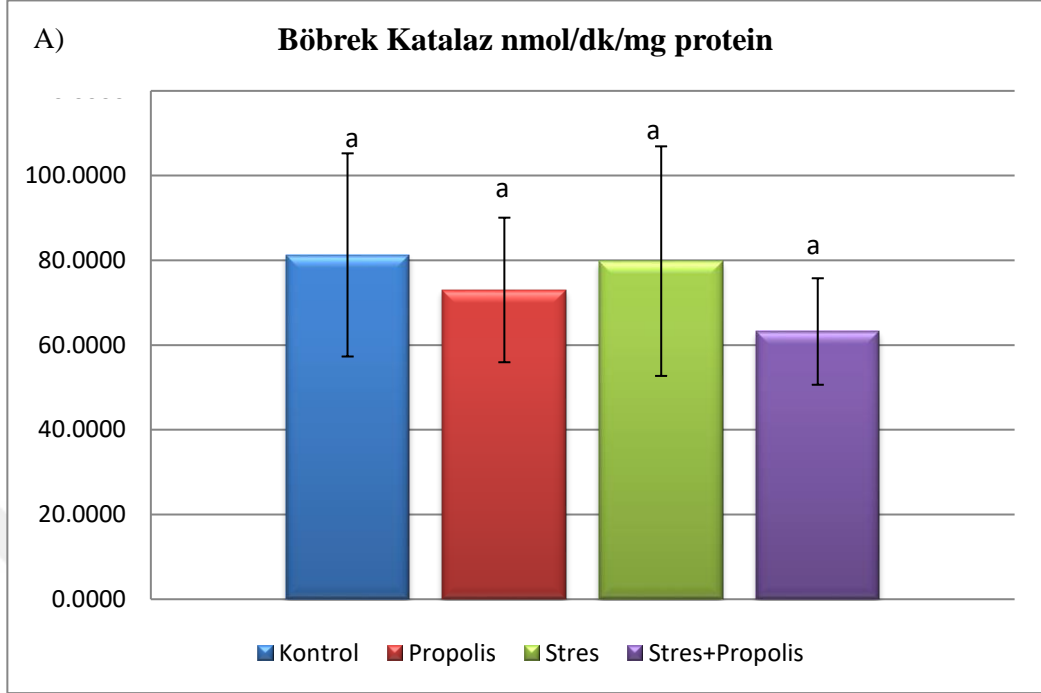
**Değerler, ortalama \pm standart sapma (SD) olarak ifade edilmiştir ve sütunlardaki farklı harfler gruplar arasındaki farklılıkları gösterilmektedir ($p < 0.05$)

Şekil 3.5. Stres ve propolis uygulanan sıçanların karaciğer, böbrek dokularında glutatyon (GSH) düzeyleri üzerine etkisi (Ortalama \pm SD)



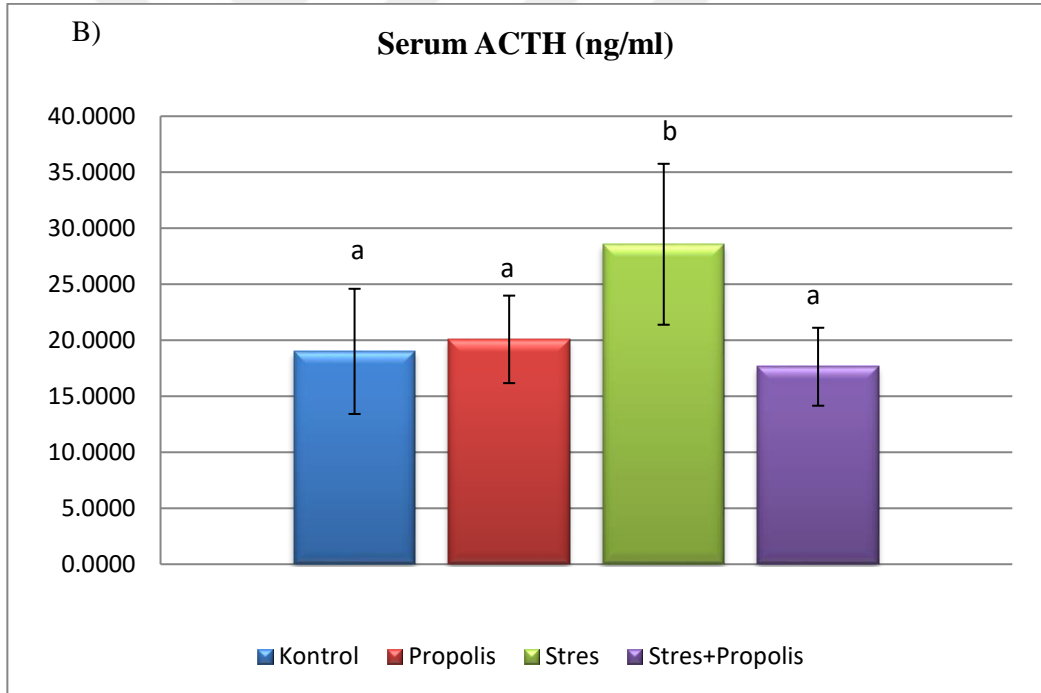
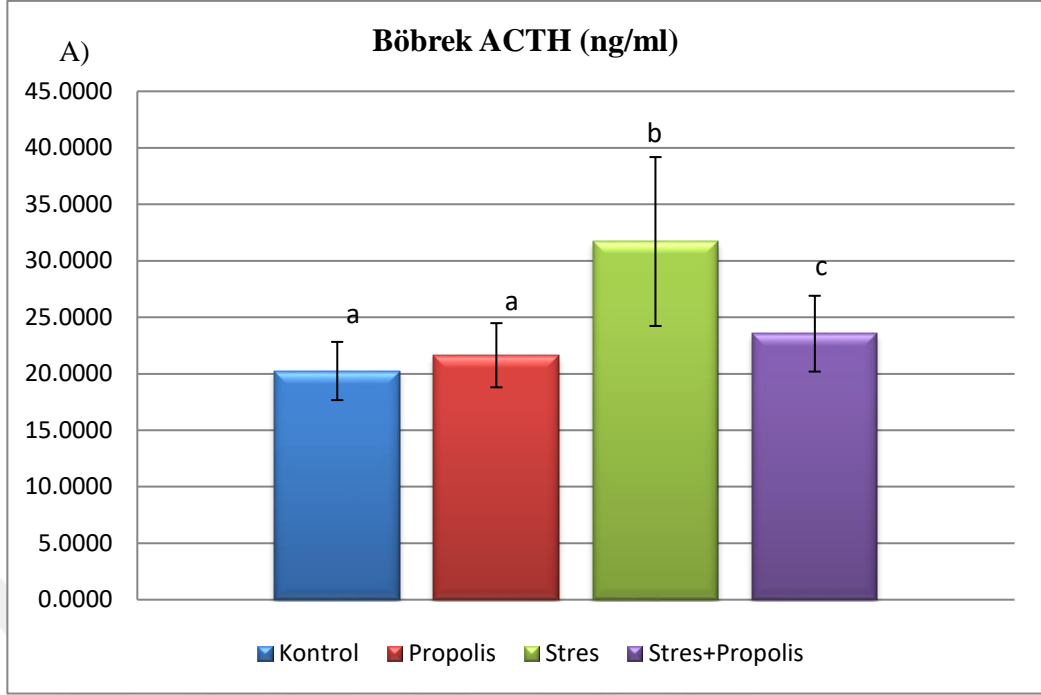
**Değerler, ortalama \pm standart sapma (SD) olarak ifade edilmiştir ve sütunlardaki farklı harfler gruplar arasındaki farklılıkları gösterilmektedir ($p < 0.05$)

Şekil 3.6. Stres ve propolis uygulanan sıçanların karaciğer (B), böbrek (A) dokuları ve serumda (C) antioksidan aktivite (FRAP) düzeyleri üzerine etkisi (Ortalama \pm SD)



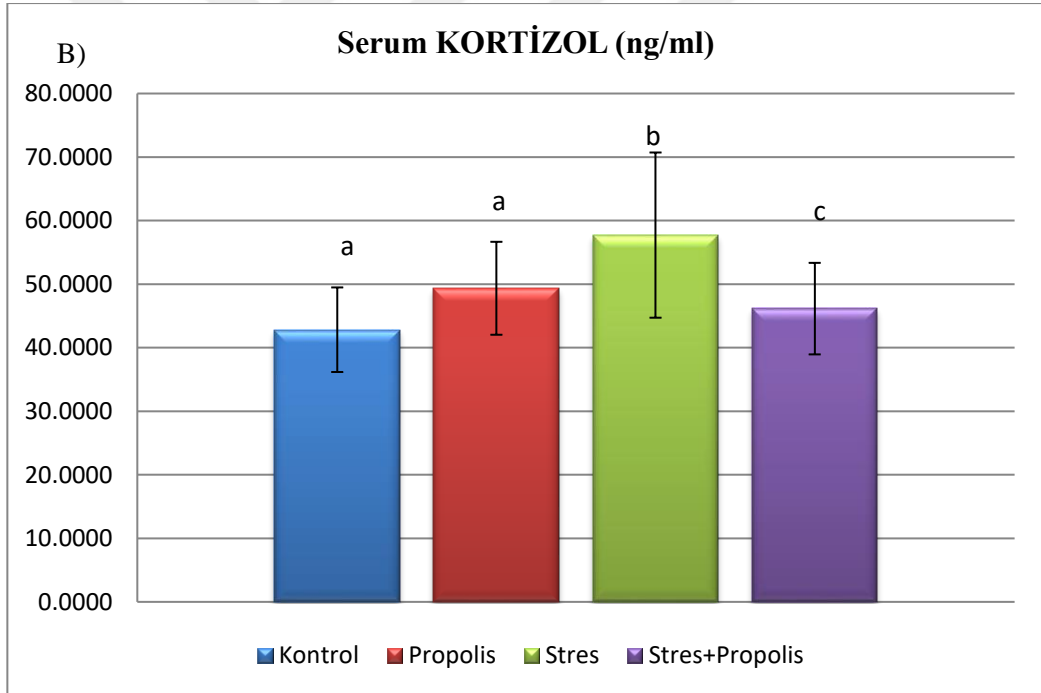
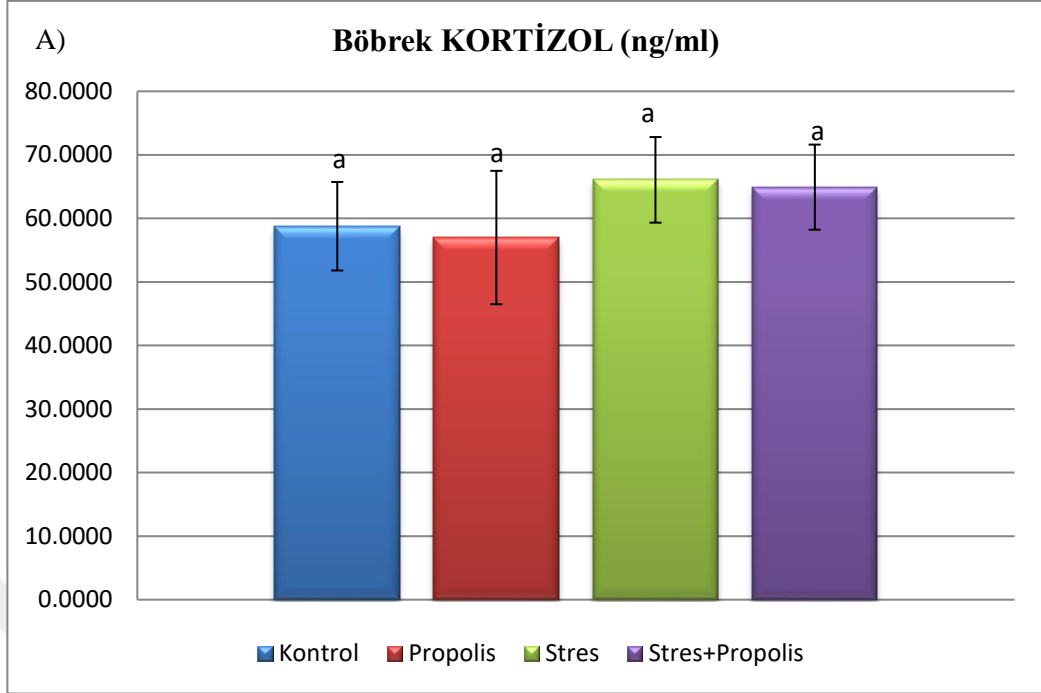
**Değerler, ortalama \pm standart sapma (SD) olarak ifade edilmiştir ve sütunlardaki farklı harfler gruplar arasındaki farklılıkları gösterilmektedir ($p < 0.05$)

Şekil 3.7. Stres ve propolis uygulanan sıçanların karaciğer (B), böbrek (A) dokuları nda katalaz (KAT) düzeyleri üzerine etkisi (Ortalama \pm SD)



**Değerler, ortalama \pm standart sapma (SD) olarak ifade edilmiştir ve sütunlardaki farklı harfler gruplar arasındaki farklılıkları gösterilmektedir ($p < 0.05$)

Şekil 3.8. Stres ve propolis uygulanan sıçanlarda böbrek (A) dokuları ve serumda (B) adenokortikotropik hormon düzeylerinin üzerine etkisi (Ortalama \pm SD)



**Değerler, ortalama \pm standart sapma (SD) olarak ifade edilmiştir ve sütunlardaki farklı harfler gruplar arasındaki farklılıkları gösterilmektedir ($p < 0.05$)

Şekil 3.9. Stres ve propolis uygulanan sıçanlarda böbrek dokuları (A) ve serumda (B) kortizol hormonu düzeylerinin üzerine etkisi (Ortalama \pm SD)

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada kronik öngörülemeyen hafif stres uygulanarak depresyon modeli oluşturulan sıçanlarda kronik propolis uygulamasının Wistar albino erkek sıçanlarda antioksidan sistem üzerine değişiklikler ile bazı metabolik ve hormonal değerlerinde ortaya çıkan değişimler incelenmiştir.

Doku ve hücrelerimizde çeşitli fiziksel ya da kimyasal etmenler dolayı oluşan oksidanlar (lipit peroksidasyonu ve serbest radikaller) ve bunlara karşın organizmanın savunma sistemi olan antioksidanlar arasındaki dengenin korunması doku ve hücrelarımızın bütünlüğünü koruması için önemlidir. Bu amaçla toplum çeşitli antioksidan içerikleri yüksek gıdaları ve vitaminleri diyet olarak yaygın bir şekilde kullanmaktadır. Antioksidan kapasitesi ve vitamin E bakımından zengin olduğu bilinen propolis, halk arasında antiviral, antimikrobial özelliklerinden dolayı çeşitli gıdalar ile birleştirilerek tüketilmektedir [74,75,76]. Bu çalışmada kronik öngörülemeyen hafif stres uygulanarak depresyon modeli oluşturulan sıçanlarda kronik propolis uygulamasının antioksidan ve hormonal etkileri araştırıldı. Klinik, deneysel ve epidemiyolojik çalışmalar, depresyon ve stresin serbest radikallerin lipit peroksidasyonu ve peroksidasyon ürünleri ile çeşitli hasarlara neden olduğu gösterilmiştir [77,77,80].

Majör depresyon dünya popülasyonunun %10 gibi büyük bir diliminde rastlanılan, yaygın, şiddetli seyreden, tekrar edebilen, bireyi güçsüz veya zayıf hissettiren ve hayatı tehdit edici potansiyeli olan psikiyatrik bir hastalıktır [11,12]. Depresyonun prevalansının pek çok otoimmün ve/veya kronik inflamatuvar hastalık varlığı da tetiklediği bilinmektedir. Günün büyük bölümünde düşük ruh hali, günlük aktivitelerden keyif alamama durumu, kilo kaybı veya artışı, uyku düzensizlikleri, ajitasyon veya uyuşukluk, yorgunluk, değersizlik veya acizlik hissi, düşünme veya hafızada bozukluklar, tekrar eden kişinin kendisine zarar verme ve ölüm düşüncesi gibi ciddi etkileri olan psikiyatrik bir hastalıktır [30,32,36]. Oluşturduğu yan etkilerin yanında hücre içi homeostazı bozma ve serbest radikallerin artmasından dolayı oksidatif hasara, HPA eksenini üzerindeki uyarıların artması sonucunda bu önemli

merkezin hormonal salgıları arttırmasına ve günlük fonksiyonlarının bozulmasına neden olduğu da belirtilmiştir [54,55,56].

Oksidatif stres; metabolik prosesler sonucunda açığa çıkan serbest radikallerin miktarının artmasına bağlı olarak antioksidan sistemlerin yetersiz kalması ile oluşur. Oksidan-Antioksidan dengenin bozulmasının baştakanser, karaciğer, böbrek, göz ve çeşitli kas hastalıklarına yol açtığıda bildirilmiştir [49,50]. Serbest radikallerin doymamış yağ asitlerine saldırısı sırasında üretilen aldehitlerden biri de MDA'dır. TBARS ile girdiği reaksiyon sonucu verdiği renk ile varlığı saptanır. Dokularda oluşan süperoksit radikali (O_2^-), SOD enzimi tarafından hemen H_2O_2 ve oksijene dönüştürülür. Diğer antioksidan enzimler olan KAT ve GSH-Px H_2O_2 'nin suya ve oksijene dönüşümünü sağlar. Hücrelerde temel strateji SOD, CAT, GSH-Px, kullanılarak O_2^- ve H_2O_2 'i detoksifiye etmek ve daha toksik ürünlerin oluşumunu önlemektir. Beyinde önemli bir radikal kaynağı da nitrik oksit aracılığı ile açığa çıkmaktadır. NO normalde toksik olmayıp iskemi sırasında nitrik asit, reperfüzfon sırasında hidroksil radikali benzeri reaktif ürünlerin oluşumuna neden olur [92,93].

Son yıllarda alternatif tedavi seçeneklerinin popülerliğinin de artmasıyla birlikte, doğal antioksidan içerikli gıdaların tüketiminin, giderek artan bir ilgi ile kullanıldığı ve bu alanda bir ticaret döngüsünün oluştuğu yadsınamaz bir gerçektir. Bu alanda kullanılan tüm materyaller tıbbi tedaviye (antidepresan) karşıt veya destekleyici amaç güder. Propolis, belirtilen bu doğal ürünlerden biri olup, biyolojik yönden aktif olan birçok bileşiği içerisinde barındığı bir doğal üründür. Özellikle de flavonoidler, aromatik asitler ve bunların esterlerinden oluşan fenolik bileşikler propolisin biyolojik olarak en aktif ve önemli bileşenlerini oluştururlar. Bunların yanısıra alkol, eter, keton gibi farklı etkiye sahip birçok bileşikte propolis kompozisyonu içerisinde yer alır [76,78]. Pek çok alanda, tedavi edici etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanmış propolisin ana bileşenlerinin naringenin, galangin, krisin, pinobaksin, kuarsetin gibi flavonoidler ve kafeik asit ve esterleri gibi fenolik asitlerden oluştuğu tespit edilmiştir. Propolis, antiviral, antifungal, antiinflamatuvar vb. etkilerinden dolayı halk arasında serbest olarak farklı formlarda tüketilmektedir [81,82]. Çalışmamızda propolisin böbrek, karaciğer ve HPA ekseninde oluşturduğu gerek oksidan-antioksidan dengeyi antioksidanlar lehine

düzeltiltiğini, gerekse HPA ekseninin düzene girmesine ve kortizol hormon salımının da kontrol edilmesinde yardımcı bir farmakolojik ajan olduğunu göstermiş olduk.

Literatürdeki benzer çalışmalardan yola çıkarak; Hoşnuter ve ark., propolisin önemli bir bileşimi olan CAPE uygulaması ile MDA değerlerinde kontrol grubuna oranla önemli düşüş tespit etmişlerdir [92]. Zhang ve arkadaşları bir diğer çalışmalarında KÖHS ile depresyon modeli oluşturulmuş farelere, oksidatif stresi hedef alan hidrojen zengin su tedavisi uygulamışlardır. 4 haftalık hidrojenli su ile beslenen farelerin hipokampus ve kortekslerindeki IL-1 β seviyelerinde belirgin azalma, hipokampus ve prefrontal kortekslerde kaspaz-1 ve IL-1 β 'nin aşırı ekspresyonunun da azaldığını bildirmişlerdir [91]. Ateş ve ark. ise propolisin hepatik hasar derecesini azalttığını ve antioksidan enzimi düzenleyici etkiler gösterdiğini bildirerek bu moleküle lipid peroksidasyonunun inhibitörünü göstermiştir [77]. Çalışmamızda yapmış olduğumuz MDA düzeyi incelenmesi literatür ile tam paralellik göstermemekle beraber Hoşnuter ve ark.'nın bulgularında ciddi bir düşüşe rastlanmamıştır. Ayrıca MDA düzeyindeki düşüşün yalnızca serumda strese oranla anlamlı olarak düşmesi ve dokularda MDA düzeylerinin yalnızca KÖHS modeli ile beraber yükselmesi Zhang ve arkadaşlarının da kullanmış olduğu stres modelinin lipid peroksidasyonu üzerinde yadsınamaz bir etkisinin olduğunu göstermiştir.

Hepşen ve ark., propolisin karaciğeri koruyucu etkisinin içerdiği antioksidan etkili maddelere bağlı olduğu belirlenmiştir. Cebovic ve ark., propolis ekstraktı ile yaptıkları denemelerinde özellikle lipid peroksidasyonunu başlatan ajan olarak bilinen OH \cdot radikalının propolis etkisi ile çok güçlü bir mekanizma ile engellendiğini, bu antioksidan etkinin E ve C vitaminlerinin antioksidan etkilerinden daha güçlü olduğunu saptamışlardır [93]. Propolis ve diyabet ilişkisinin incelendiği araştırmalarda şeker hastalığında hücre membranlarının oksidatif hasara karşı artan duyarlılıklarının değişen oranlardaki propolis ile beslenme neticesinde azaldığı, oksidatif parametrelerde azalmasıyla birlikte antioksidan enzim (GSH-Px, KAT, SOD gibi) aktivitelerinin ise arttığını ortaya koymuştur [66,67].

Seven ve ark., bireylerde vitamin C ve propolis uygulamalarının sıcaklık stresine karşı gelişen olumsuz etkileri ortadan kaldırdığı, büyümeyi artırdığı belirlenmiştir [74].

Kolankaya ve ark., yaptıkları deneysel çalışmada, Türkiye’de bulunan propolisinin erkek sıçanların karaciğerlerinde, alkolle indüklenmiş lipid değişimleri üzerine koruyucu etkisi olduğunu ifade etmişlerdir. Bu çalışmadaki araştırmacılar, propolisin yapısında bulunan konsantre flavonoidlerin etkili antioksidan özelliklerin olduğuna, aynı zamanda serbest radikallerin yok edilmesinde etkili olduğu ve hücre zarlarında lipidperoksidasyonuna karşı da koruyucu etkileri olduğunu ortaya koymuştur [90].

Yaptığımız antioksidan enzim testlerinin (SOD, KAT, GSH-Px) de gösterdiği üzere öncelikle oluşturulan depresyon modelinin serbest radikal salınımını/ oluşumunu arttırdığı net bir şekilde tayin edilmiş olup, uygulanan propolisekstraktı ile birlikte SOD ve GSH-Px değerlerinde ciddi bir düşüş gözlemlenmiştir. Ancak KAT düzeylerinde herhangi bir etkisi bulunamamıştır. KAT ve MDA ‘da propolisin etkisinin bulunamaması/ düşük oranda etkilemesinin sebebi olarak lipid sisteminin oluşturduğu SOR’a karşı propolis etken maddelerinin yetersiz kalabilme olasılığı akla gelse de diğer parametrelerdeki tedavi edici gücün kanıtları ile bu düşüncemiz giderilmemektedir. Neden olarak propolis etken madde miktarının SOR oluşum hızına yetişememesi gösterilebilir. Her ne kadar bu konu ile ilgili çalışmalar da MDA düzeyleri üzerinde ciddi düşüşler tespit edilsede bunun sebebinin propolisekstraktının farklı yöre veya ülkelere ait olmasından dolayı olduğunu düşünmekteyiz. Çünkü, genel bilgilerde de söylediğimiz üzere propolis bileşiğinin içerdiği maddemiktarı ve dozu farklılık göstermektedir.

Propolis üzerine yapılmış farklı deneysel çalışmalarda; selenitin sebep olduğunu katarak formasyonu ve oksidatif stres üzerine koruyucu etki gösterdiği, oksidatif stresin neden olduğu retinal hasara karşı lipidperoksidasyonu inhibe ederek nöroprotektif etki gösterdiği, karbon tetraklorürün neden olduğu oksidatif stresi ve oluşan karaciğer hasarını önlediği, in vivo ile sağlıklı insanlarda yapılan bir çalışmada, oral olarak propolis verilmesiyle kan antioksidan aktivitesinde artış olduğu belirtilmiştir [77,78].

Literatürde yer alan çalışmalar, FRAP ve AOPP için yetersiz olmakla beraber propolisin etkileri kullanımı yaygınlaştıkça daha hızlı olarak araştırılmaktadır. Çalışmamızda incelediğimiz FRAP ve AOPP düzeylerinin sonuçlarına göre propolis antioksidan kapasite üzerinde yüksek bir etkisinin olmadığı ancak

proteinlerin ileri oksidasyon ürünlerini gerçek anlamda etkileyerek protein yapısındaki hasarı minimize ettiği kanısına vardık. FRAP düzeyinde propolisin iyileştirici etkisi en iyi böbrek dokusunda gözlemlenmekle beraber AOPP üzerinde gerek stresin gerekse propolisin tedavi edici etkisi tüm dokularda ve serumda gözlemlendi.

Çalışmamızı genel olarak değerlendirmek ve özetlemek gerekirse; Uygulanan KÖHS modelinde oluşan depresyonun için böbrek dokusuna ait sonuçlarda yapılan SOD, GSH-Px, GSH ve KAT ölçümlerinde kontrol grubuna göre stresin oksidanaktivitelerini arttırdığı ve uygulanan propolis tedavisi ile antioksidan aktivite göstererek stres+propolis grubunda değerleri kontrol grubuna yakın yani anlamlı olarak azalttığı saptanmıştır. Elde edilen bulgularımız ile literatür karşılaştırıldığında birbirine paralel olduğu gözlemlenmektedir.

Çalışmamızda yapılan karaciğer dokusundaki çalışmalarda ise tablo 3.1 ve 3.2' de açıkça gösterildiği gibi KÖHS modelinin sonucunda depresyona maruz kalan farelerde AOPP, GSH-Px seviyelerinde artışa kontrole göre bir artış olup SOD düzeylerindeki incelemelerde ise depresyonlu farelerin düzeyindeki artışın propolisli farelere göre olduğu saptanırken uygulanan propolis tedavisi sonrasında ise SOD, AOPP, GSH-Px ve MDA düzeyleri anlamlı olarak düşmüştür. MDA'da ise propolisin herhangi bir iyileştirici etkisi gözlenmemiştir. Fakat karaciğer dokusunda yapılan AOPP, FRAP, GSH ve KAT düzeylerinde herhangi bir değişim saptanmamıştır.

Ayrıca böbrek dokusunda yapılan lipit peroksidasyonu düzeylerinin incelenmesi için MDA ölçümleri yapılmış olup literatürde de belirtildiği gibi propolisin lipit peroksidasyon mekanizmasını inhibe edici özellik gösterdiğini ispatladık. Stres grubunda yapılan antioksidan kapasite, AOPP ve MDA ölçümlerinde ise antioksidan kapasite, AOPP ve MDA düzeyinin anlamlı miktarda arttığı ayrıca ilaç olarak uygulanan propolisin stres+propolis grubunda antioksidan kapasite, AOPP ve MDA düzeyini anlamlı olarak azalttığı görülmüştür. Son olarak serum dokusunda yapılan AOPP ve MDA ölçümlerinde ise stres grubunda anlamlı miktarda arttığı ayrıca ilaç olarak uygulanan propolisin stres+propolis grubunda ise AOPP ve MDA düzeyini anlamlı olarak azalttığı görülmüştür.

Hipotalamik-hipofiz-adrenal ekseninde bozukluk, hiperkortizolemide uzun yıllar akut majör depresyonun biyolojik bir özelliği olarak çalışılmaktadır [105]. Young ve diğ., depresyonun, muhtemelen hipokampus düzeyinde kortizolsekresyonunun hızlı geri besleme kontrolünde düzensizlikle birlikte olduğunu göstermiştir [106]. Deneysel sistemlerde yapılan çalışmalar, bu disinhibisyonun kronik kortikosteroidmaruziyeti veya sadece stres ile indüklenebileceğini düşündürmektedir [107,108].

Stres veya depresyonun kortizol fonksiyonunun hipokampal regülasyonunu bozduğu kesin mekanizmalar bilinmemektedir ancak son çalışmalar nörotoksik doku hasarının dahil olma olasılığını artırmıştır. Sapolsky ve ark., glukokortikoidlerle tekrar tekrar enjekte edilen sıçanların, belki de glutamatnörotoksitesine karşı artan nöronal savunmasızlığa bağlı olarak hipokampalnöronal kayıp geliştirdiğini göstermiştir [107,109,110].

İnsanlarda kortikosteroidlerin nörotoksik etkilerine dair kanıtlar, Cushing sendromlu hastaların plazma kortizol seviyeleri ve hafıza disfonksiyonu ile ilişkili seçici hipokampalatrofiye sahip olduğu bulgularıyla da sağlanmaktadır [111].

Çalışmamızda hipotalamik-hipofiz-adrenal ekseninin aktivasyonunun depresyonda önemli bir rolü yadsınamaz bir gerçek olduğunu unutmamakla beraber, KÖHS modelinin HPA ekseninin hiperfonksiyonunu antagonize ederek depresyon üzerinde etkileri olup olmadığını serum ve böbrek dokusunda test ettik. Tablo 3.5 ve Tablo 3.6 ve 3.7'de gösterildiği gibi, KÖHS stres uygulananfarelerde serum ve böbrek dokusunda KORT ve ACTH seviyelerini normal kontrol farelerinden önemli ölçüde artmıştır. Bununla birlikte, propolis ile tedavi, stresli farelerde (stres+ popolis grubu) KORT ve ACTH seviyesini önemli ölçüde azaltmıştır.

Bütün bu veriler ışığında, KÖHS modelinin karaciğer dokusu, böbrek dokusu ve serumda farklı sonuçlar oluşturması ile birlikte tüm parametrelerde oksidatif bir hasar oluşturduğunu söylemek mümkündür. Bu hasar, oksidanmetabolitlerinin dokulara ve seruma toksik etki yaparak oksidatif hasara yol açması, lipid peroksidasyonunu arttırması beyin HPA eksen fonksiyonlarının oluştuğu hormonal yanıtlar gibi etkilerinden ileri gelmektedir.

Propolis oksidatif hasara yol açan metabolitleri inaktif edici etkiye sahip olmasının yanı sıra lipit peroksidasyonunu polimer zincir reaksiyonu kırarak önler. Bundan dolayı depresyonun beyin ve diğer dokularda oluşturduğu hasarlara karşı propolisin koruyucu özellik gösterdiğini düşünmekteyiz.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaptığımız çalışmada; doğal koruyucu ajan olarak kullandığımız propolisin içeriğinde bulunan flavonoid türevlerinin ve fenolik asitlerin oksidatif stresin giderilmesinde çok önemli işlevleri bulunduğu, propolis ekstresinin epilepsi modelinde oksidatif stresi azalttığı ve koruyucu etki gösterdiği belirlendi.

Depresyon metabolizasyonu sonucunda açığa çıkan asetaldehit ve reaktif oksijen türleri beyindeki HPA eksen, karaciğer, böbrek ve serum dokularındaki antioksidan mekanizmaları baskılayarak, doymamış yağ asitlerine etki edip lipid peroksidasyonunu arttırarak oksidatif hasara neden olmaktadır. Propolisin, SOD ve GSH-Px enzim aktivitelerini kontrole göre arttırması TBARS düzeyini azaltması bakımından antioksidan özellik göstermektedir.

Propolisin daha farklı miktarları ve farklı ekstraksiyon yöntemleri (etanol, su vb.) kullanılarak elde edilen propolis örneklerinin denenmesi ile yapılacak çalışmalardan alınabilecek farklı sonuçların pratikte yararlı olabileceği sonucuna varıldı.

Çalışmadan elde edilen neticelerin değişik açılardan değerlendirilip, biyosistem üzerindeki sinir sistemini etkileyen ve psikolojik hastalıklarda uygulanabilirliği hususunda araştırmalara ışık tutacağı kanaatindeyiz. Farklı floraya ait apiterapik ürünlerin (bal, polen ve propolis örneklerinin) sinir sisteminin değişik hastalıklarının tedavisi üzerine etkilerinin araştırılması yararlı olacaktır.

Son olarak yapılan çalışmanın sonucunda; Günümüzde yaygın bir sorun olan depresyon ve stres tedavisinde ve depresyonun oluşturduğu hasarları tersine çevirmesi açısından propolis önemli bir etkiye sahip olabilir. Bu nedenle depresyonun oluşturduğu hasarlara karşı propolisin tedavide kullanımına yönelik araştırmalar yapılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Akkaya C., Depresyon etiyolojisinde serotonin ve noradrenalin. Yeni Symposium 2005, **43**(3), 91-96.
- [2] Little A. Treatment-resistant depression. Am Fam Physician 2009, **80**(2), 167-72.
- [3] Capuron L., Miller A.H., Immune System to Brain Signaling: Neuro-psychopharmacological Implications, *Pharmacology&therapeutics*, 2011, **130** (2), 226.
- [4] Iwaata M., Ota K.T., Duman R.S., The inflammasome: Pathways linking psychological stress, depression, and systemic illnesses. *Brain Behav Immun*. 2013, **31**, 105-114.
- [5] Sullivan R.M., Gratton A., Lateralized Effects of Medial Prefrontal Cortex Lesions on Neuroendocrine and Autonomic Stress Responses in Rats., *J. Neurosci*, 1999, **19**(7), 2834-2840.
- [6] Bilici M., Efe H., Koroglu M.A., Uydu H.A., Bekaroglu M., Deger O., Antioxidative enzyme activities and lipid peroxidation in major depression: alterations by antidepressant treatments. *J Affect Disord* 2001, **64**, 43-51.
- [7] Mahadik S.P., Mukherjee S., Free radical pathology and antioxidant defense in schizophrenia: a review. *Schizophr Res*, 1996, **19**, 1-17.
- [8] Marcucci M.C., Propolis, chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie* 1995, **26**, 83-99.
- [9] Burdock G.A., Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. *Food Chem, Toxicol*, 1998, **36**, 347-363
- [10] Bhargava P., Grover A., Nigam N., Kaul A., Dfoi M., Ishida Y., Kakuta H., Kaul S.C., Terao K., Wadhwa R., Anticancer activity of the supercritical extract of Brazilian green propolis and its active component, artemillin C: bioinformatics and experimental analyses of its mechanisms of action, *Int J Oncol*, 2018, **52**(3), 925-932
- [11] Hasler G., Pathophysiology of depression: do we have any solid evidence of interest to clinicians? *World Psychiatry*, 2010, **9**, 155-161.
- [12] Kırılı S., Işık E., Taner E., Işık U., *Depresyon İçinde: Güncel Klinik Psikiyatri*. s.131-155, Ankara, 2008.

- [13] Savrun BM., Depresyonun tanım ve epidemiyolojisi. *Depresyon, Somatizasyon ve Psikiyatrik Aciller Sempozyumu*, İ. Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, İstanbul, 2-3Aralık 1999.
- [14] Köroğlu E., *DSM-IV-TR Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal El Kitabı*, Hekimler Yayın Birliği Basım Yayın, 506-508, 1.Cilt, 4, Baskı 2007, Ankara.
- [15] Akiskal HS., Sadock B.J., Sadock V.A., *Mood Disorders: Clinical Features*, Comprehensive Text book of Psychiatry, , Volume One, Lippincott Williams and Wilkins Philadelphia, Seventh Edition1338-1377, 2000,USA.
- [16] Türkçapar M.H., *Melankolili Depresyon. Klinik Psikiyatri Dergisi*, 1, 20- 31, 2004.
- [17] Parker G., Roy K., Mitchell P. ve ark., Atypicaldepression: a reappraisal. *Am J Psychiatry*, 2002, **159**,1470-1479.
- [18] Robertson H.A., Lam R.W., Stewart J.N. ve ark., Atypical depressive symptoms and clusters in unipolar and bipolar depression, *ActaPsychiatr Scand*, 1996, **94**, 421-427.
- [19] Benazzi F., Atypical depression in privatepractice depressedoutpatients: A 203-case study, *Compr Psychiatry*, 1999, **40**, 80-83.
- [20] Kendell R.E., Chalmers J.C., Platz C., Epidemiology of puerperalpsychoses, *Br J Psychiatry*, 1987,**150**, 662-73.
- [21] Wisner K.L., Peindl K.S., Hanusa B.H., Symptomatology of affective and psychoticillnessesrelatedto child bearing, *J Affect Disord*, 1994,**30**,77-87
- [22] Seidman S.N., Stein J.D., Kupfer D.J., Schatzberg A.F., *Duygudurum Bozukluklarının Psikonöro endokrinolojisi, Duygudurum Bozuklukları Temel Kitabı*, Sigma Publishing, 117-131, İstanbul, 2007.
- [23] Bloch M., Schmidt P.J., Danaceau M., Murphy J., Nieman L., Rubinow D.R., Effects of gonadalsteroids in womenwith a history of postpartumdepression, *Am J Psychiatry*, 2000, **157**, 924-30.
- [24] Washington, D.C., DSM-IV The diagnostic and statistical manual of mentaldisorders, 4th ed.,. American Psychiatric Association, 1994.
- [25] Fink M, Taylor MA. Catatonia A., Clinician's Guide to Diagnosis and Treatment. Cambridge, UK, *Cambridge University Press*, 2003.
- [26] Taylor M., Fink M., Kahlbaum KL., Catatonia, Baltimore, Johns Hopkins *University Press*, 1973.

- [27] Kahlbaum KL., Catatonia in psychiatric classification: a home of it sown, *Am J Psychiatry* 2003, **160**,1233-1241.
- [28] Elia J., Dell M., Friedman D., Zimmerman R., Balamuth N., Ahmed A. et al. PANDAS with catatonia: a casereport. Thera peuticres ponsetoloraze pamand plmaph eresis. *J AmAcad Child AdolescPsychiatry*, 2005, **44**,1145-1150.
- [29] Fricchione G.L., Cassem N.H., Hooberman D., Intravenous lorazepam in neuro lepticinducedc atatonia, *J ClinPsychopharmacol*, 1983, **3**,338-342.
- [30] Kessler R.C., Berglund P., Demler O., Jin R., Koretz D., Merikangas K.R., Rush A.J., Walters E.E., Wang P.S., The epidemiology of major depressive disorder, *JAMA*, 2003,**2**, 289,3095.
- [31] Polat A., Psikiyatrik Epidemiyoloji, *3P Dergisi*, 2005,13(Ek 4),7-9.
- [32] Kaya B., Kaya M., 1960'lardan günümüze depresyonun epidemiyolojisi: tarihsel bir bakış ,*Klinik Psikiyatri*, 2007, **10**(6), 3-10.
- [33] Doğan O., Bölüm 1: Psikiyatrik Epidemiyoloji ve Gelişmesi. Psikiyatrik Epidemiyoloji. 1. Baskı. Sivas,*Esform Ofset* ,1-10, 2011
- [34] Çevik A, Volkan VD. (1993. Depresyonun psikodinamik etiyojisi. Depresyon Monografaları Serisi. 2, 109-22.
- [35] Boztaş M.H. ve Arısoy Ö., Tıbbi Hastalıklarda Depresyon: Tanısal Sorunlar. Psikiyatride güncel yaklaşımlar, 2010, **2**(3), 318-332.
- [36] Sadock B.J., Sadock V.A., Blazer II D.G., *Mood Disorders: Epidemiology, ComprehensiveText book of Psychiatry Seventh Edition*, Volume One, Lippincott Williams and Wilkins Philadelphia, 1298-1308, USA, 2000.
- [37] Köroğlu E., Köroğlu E., Güleç C., *Major Depresyon Psikiyatri Temel Kitabı*, Basım, Hekimler Yayın Birliği Basım Yayın, Ankara, 40-265, 2007.
- [38] Ohayon M.M., Epidemiology of depression and its treatment in the general population, *Journal of Psychiatric Research*, 2007, **41**, 207-213.
- [39] Perez-Caballero L., Torres-Sanchez S., ve diğ., Monoaminergic System and Depression, *Cell and Tissue Research*, 2019, **8**, 205-214.
- [40] Kayaalp O., *Akılci Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, Pelikan Yayıncılık; Ankara, 651-825, 2012.
- [41] Erol, N., Kılıç, C., & Ulusoy, M., Türkiye'nin ruh sağlığı profili raporu. *TC Sağlık Bakanlığı Temel Hizmetleri Genel Müdürlüğü Yayınları*, Ankara, 1988,

- [42] Hillhouse T.M., Porter H.P., A brief history of the development of anti depressant drugs: From monoamine stoglutamate, *Exp Clin Psychopharmacol*, 2015;**23**(1),1-21.
- [43] Dale E., Andersen-B .B., Sanchez C., Emerging mechanisms and treatments for depression beyond SSRIs and SNRIs, *Biochem Pharmacol* 2015,12210;17.
- [44] Ceylan M., ve Efe M.S., Trisiklik ve Tetrasiklik Antidepresanlar, *Türk Psikiyatri Derneği Yayınları*, Ankara, 2010, 603-613.
- [45] Benazzi F. ve Akiskal H.S., A down scaled practical measure of mood lability as a screening tool for bipolar, *II. Journal of Affective Disorders*, 2005; **84**(2-3), 225-232.
- [46] Örsel S., Depresyonda Tedavi: Genel İlkeler ve Kullanılan Antidepresan İlaçlar, *Klinik Psikiyatri*, 2004, 4, 17-24.
- [47] Alkın, T., Seçici Serotonin Gerialım İnhibitörleri, *Türk Psikiyatri Derneği Yayınları*, Ankara, 2010, 616-630
- [48] Engin E., Treit D., Dickson C.T., Anxiolytic and antidepressant like properties of ketamine in behavioral and neuro physiological animal models, *Neuroscience*, 2009, **161**(2), 359-369.
- [49] Saraçoğlu A., Ketamin: Popüler bir keyif verici ilaç, *Türkiye Klinikleri J MedSci*, 2005; 25:429-435.
- [50] Kessler R.C., Berglund P., Demler O., Jin R., Koretz D., Merikangas K.R., Rush A.J., Walters E.E., Wang P.S., The epidemiology of majör depressive disorder, *JAMA*, 2003, 289- 309.
- [51] Iwaata M., Ota K.T., Duman R.S., The inflamma some, Path ways linking psychological stres, depression, and systemic illnesses, *Brain Behav Immu.*, 2013, **31**,105-114.
- [52] Gencer Y.G., Stresin ratlarda bazı karaciğer enzimleri üzerine etkilerinin araştırılması, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi*, 2014.
- [53] Duran Ö., Akut immobilizasyon stresinin emosyonel ve uzaysal hafıza üzerine etkileri, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul.
- [54] Brotman D.J., Golden S.H., Wittstein I.S., The cardiovascular toll of stres, *The Lancet*, 2007,**370** (9592), 1089-100.
- [55] Wright K.D., Hickman R., Laudenslager M.L., Hair cortisol analysis: A promising biomarker of HPA activation in older adults, *The Gerontologist* 2015,**55**, 140-S5.

- [56] <https://socratic.org/questions/are-the-effects-of-the-parasympathetic/>
(Ziyareyt tarihi: 26 Eylül 2019)
- [57] Finsterwald C., Alberini C.M., Stresandglu cocorticoid receptor-dependent mechanisms in long-term memory: from adaptive responses to psychopathologies, *Neurobiology of learning and memory*, 2014, **112**, 17-29.
- [58] Rodriguez ACI, Epel ES, White ML, Standen EC, Seckl JR, Tomiyama AJ. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysregulation and cortisol activity in obesity: a systematic review. *Psychoneuroendocrinology* 2015, **62**:301-8.
- [59] Oral T., Tot Ş., *Psikiyatri de Taniya Yardımcı Yöntemler*, 17-30, Mersin, 2004.
- [60] Sapolsky R.M., Romero L.M., Munck A.U., How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses Integrating Permissive, Suppressive, Stimulatory, and Preparative Actions, *Endocr Rev*, 2000, **21**(1), 55-89.
- [61] Levine A., Zagoory-Sharon O., Feldman R., Lewis J.G., Weller A., Measuring cortisol in human psychobiological studies, *Physiology behavior*, 2007, **90**(1), 43- 53.
- [62] Manenshijn L., Koper J., Van Den Akker E., De Heide L., Geerdink E., De Jong F., Feelders R., Van Rossum E., A novel tool in the diagnosis and follow-up of (cyclic) Cushing's syndrome: measurement of long-term cortisol in scalp hair, *The Journal of Clinical Endocrinology Metabolism*, 2012, **97**(10), 1836-43.
- [63] Oprea A., Bonnet N.C., Pollé O., Lysy P.A., Novel insights into glucocorticoid replacement therapy for pediatric and adult adrenal insufficiency, *Therapeutic advances in endocrinology metabolism*, 2019, **10**, 2042018818821294.
- [64] Ruediger H., Seibt R., Scheuch K., Krause M., Alam S., Sympathetic and parasympathetic activation in heart rate variability in male hypertensive patients under mental stress, *Journal of human hypertension*, 2004, **18**(5):307.
- [65] Halliwell B., Gutteridge J.M., *Free Radicals in Biology and Medicine*, Oxford University Press, Oxford, 1999.
- [66] Southam P.A., Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biological reactions, *Mayo Clin Proc*, 1988, **63**, 381-389.
- [67] Kehrer J.P., Smith C.V., Free radicals in biology: Sources, reactivities, and roles in the etiology of human diseases. In: Frei B (ed). *Natural Antioxidants in Human Health and Disease*, Academic Press, San Diego, 1994, 25-62.

- [68] Nakazawa H., Genka C., Fujishima M., Pathological aspects of active oxygens/free radicals, *Jpn J Physiol*, 1996, **46**, 15-32.
- [69] Sarma AD, Mallick AR, Ghosh AK. 2010. Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview, *Int J Pharm Sci Res*, **1**(3), 185-192
- [70] Yu B.P., Cellular defences against damage from active oxygen species, *Physiol Rev*, 1994, **74**, 139-162.
- [71] Palmieri B., Sblendorio V., Oxidative stress detection: what for? Part I, *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2006, **10**, 1-27.
- [72] Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, *Int J Biochem Cell Biol*, 2007, **39**, 44-84.
- [73] Bors W., Heller W., Michel C., Saran M., Flavonoid as antioxidants: Determination of radical-scavenging efficiencies Methods in Enzymology 1990, **186**, 343-355 .
- [74] Seven P.T., Seven I., Yilmaz M., Simsek Ü.G., The effects of turkish propolis on growth and carcass characteristics in broiler under heat stress, *Anim Feed Sci and Techn*, 2008, 137-148.
- [75] Fuliang H.U., Hepburn H.R., Xuan H., Chen M., Daya S., Radloff S.E., Effects of propolis on blood glucose, blood lipid and free radicals in rats with diabetes mellitus, *Pharmacol Res*, 2005, **51**, 147 -152.
- [76] Bankova V.S., De Castro S.L., Marcucci M.C., Propolis: recent advances in chemistry and plant origin, *Apidologie*, 2000, **31**, 3-15
- [77] Lotfy M., Biological activity of bee propolis in health and disease, Review, *Asian Pac J Cancer P*, 2006, **7**, 22-31
- [78] Marcucci MC. propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity, *Apidologie* 1995; **25**: 83.
- [79] Walker P., Crane E., Constituents of propolis, *Apidologie*, 1987, **18**, 327-34.
- [80] Cunha I.B.S. S.A., Caetano F.M., et al., Factors that influence the yield and composition of Brazilian propolis extracts, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2004, **15**, 964-70.
- [81] Cao G., Sofic E., Prior R.L., Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure activity relationships, *Free Radic Bio Med*, 1997, **22**, 749-760.
- [82] Mohammadzadeh S., Sharriatpanahi M., Hamedi M., Amanzadeh Y., Ebrahimi S.E.S., Ostad S.N., Antioxidant power of Iranian propolis extract, *Food Chem*, 2007, **103**, 729-733.

- [83] Burdock G.A., Review of the biological properties and toxicity of bee propolis, *Food and Chem Toxicol*, 1998, **36**, 347-363.
- [84] Hanasand M., Omdal R., Norheim K.B., Gøransson L.G., Brede C., Jonsson G., Improved detection of advanced oxidation protein products in plasma, *Clin Chim Acta*, 2012, **413**, 901-906
- [85] Benzie I.F., Strain J.J., The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay, *Anal Biochem*, 1996, **239**, 70-76
- [86] Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione, *J Lab Clin Med*, 1963, **61**, 882-888
- [87] Worthington V., Catalase In: Worthington enzyme Manual: Enzymes and related biochemicals, *N.J. Worthington Biochem Corp*, 1993, 77-80.
- [88] Buege J.A., Aust S.D., Microsomal lipid peroxidation, *Methods Enzymol*, 1978, **52**, 302-310.
- [89] Smith P.K., Krohn R.I., Hermanson G.T., Mallia A.K., Gartner F.H., Provenzano M.D., Fujimoto E.K., Goeke N.M., Olson B.J., Klenk D.C., Measurement of protein using bicinchoninic acid, *Anal Biochem*, 1985, **150**, 76-85.
- [90] Kolankaya D., Selmanoglu G., Sorkun K., et al., Protective effects of Turkish propolis on alcohol-induced serum lipid changes and liver injury in rats, *Food Chemistry*, 2002, **78**, 213-17.
- [91] Papa H.T., Xie C., Zhang W., et al.. The role of caspases in Methotrexate-induced gastrointestinal toxicity, *Surgery*, 2001, **130**, 859-65.
- [92] Hoşnuter M., Gürel A., Babuççu O., Armutcu F., Kargı E., Isıkdemir A., The effect of propolis on lipid peroxidation and nitric oxide levels in the plasma of rats following thermal injury, *Burns*, 2004, **30**, 121-125.
- [93] Hepsen F., Tilgen F., Er H., Propolis: Tıbbi özellikleri ve oftalmolojik kullanımı, *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi*, 1996, **3**, 386-391.
- [94] Alcocer-Gómez E., Miguel M., Casas-Barquero N., Núñez- Vasco J., Sánchez- Alcazar J.A., Fernández-Rodríguez A., Cordero M.D., NLRP3 inflammasome is activated in mononuclear blood cells from patients with major depressive disorder, *Brain Behav. Immun*, 2013, **36**, 111-117.
- [95] Lamkanfi M., Mueller J.L., Vitari A.C., Misaghi S., Fedorova A., Deshayes K., Lee W.P., Hoffman H.M., Dixit V.M., Glyburide inhibits the Cryopyrin/NLRP3 inflammasome, *J. Cell Biol*, 2009, **187**, 61-70.

- [96] Warner-Schmidt J.L., Vanover K.E., Chen E.Y., Marshall J.J., and Greengard P. Antidepressant effects of selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) are attenuated 83 by anti-inflammatory drugs in mice and humans, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2011,**108**, 9262-9267.
- [97] Fortunato J.J., Gislaine Z.R., Kirsch T.R., Stringari R.B., Fries G.R., Kapczinski F., Hallak J.E., Zuardi A.W., Crippa J.A., Quevedo J. Effects of beta-carbolineharmine on behavioral and physiological parameters observed in the chronic mild stress model: Further evidence of antidepressant properties, *Brain Res. Bull*, 2010, **81**, 491-496.
- [98] Berlett B.S., Stadtman E.R., Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress, *J Biol Chem*, 1997, **272**, 20313-20316.
- [99] Kostadinova F., Schwaderer J., Sebeo V., Brunner T., Why does he gut synthesize glucocorticoids?, *Annals of medicine*, 2014,**46**(7), 490-7.
- [100] Oprea A., Bonnet N.C., Pollé O., Lysy P.A., Novel insights into glucocorticoid replacement therapy for pediatric adrenal insufficiency, *The therapeutic advances in endocrinology metabolism*, 2019,**10**, 2042018818821294.
- [101] Dormandy T.L., An Approach to Free Radicals, *Lancet*, 1988, **29**, 1010- 1014.
- [102] Dr. Aladdin Polat, Safra Kanalı Ligasyonu Yapılmış Sıçanlarda Aspirinle Oluşturulan Mide Dokusu Hasarında Melatonin Etkileri, Uzmanlık Tezi, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2004.
- [103] https://www.google.com/search?q=oksidatif+stres&safe=strict&tbm=isch&srf=ALeKk02FrUanN95TqkDAobPOkEuNmQITw:1583694968339&source=lnms&sa=X&ved=0ahUKEwjjwZTAy4voAhXaQUEAHVZdCyoQ_AUIFygB&biw=1366&bih=657#imgsrc=DT1ZpHY2qXGK3M/ (Ziyaret tarihi: 16 Ocak 2020)
- [104] Yang W., Wu Z., Huang Z. Y., & Miao X., Preservation of orange juice using propolis, *Journal of Food Science & Technology*, 2017, **54**(11), 3375–3383.
- [105] Carroll B.J., Feinberg M., Greden J.F., Tarika J., Albala A. A., Haskett R.F., James M.M., Kronfol Z., Lohr N., Steiner M., Vigne, J.P., Young E., *Arch. Gen. Psychiatry*, 1981, **38**, 15-22.
- [106] Young E.A., Haskett R.F., Murphy-Weinberg V., Watson S.J., & Akil H., *Arch. Gen. Psychiatry*, 1991, **48**, 693-698.
- [107] Sapolsky R.M., Krey L. C., McEwen B.S., *Endocr. Rev.*, 1986, **7**, 284-301.
- [108] Young E.A., Akana S., Dallman M.F., *Neuroendocrinology*, 1990, **51**, 536-542.
- [109] Sapolsky R., Krey M., L.C., McEwen B.S., *J. Neurosci.*, 1985, **5**, 1222-1227.

- [110] Sapolsky R.M., McEwen, B.S., Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis: Physiology, Pathophysiology and Psychiatric Implications, *Schatzberg, A. F. & Nemeroff, C. B.*, Raven, New York, 1988, 155-169.
- [111] Starkman M.N., Gebarski S.S., Berent S., Schteingart D.E., *Biol. Psychiatry* 1992, **32**, 756-765.
- [112] Perot Saelao, Renata S. Borba, Vincent Ricigliano, Marla Spivak and Michael Simone-Finstrom, Honeybee microbiome is stabilized in the presence of propolis, *Biology Letters*, 2020, **16**, 20200003.
- [113] Willner P., Muscat R., Papp M., Chronic Mild Stress-Induced Anhedonia: A Realistic Animal Model of Depression, *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 1992, **16**(4), 525–34.





EKLER

Ek- A

Hayvan deneyleri yerel etik kurul onay belgesi

T.C. KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ		EUA Kocaeli University of Applied Sciences	
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU			
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ		BİYOLOGİ ENSTİTÜSÜ	
PROJE NO: 2017/92	ARAŞTIRMANIN ADI	Sıçanlarda kronik öngörülemeyen hafif stresle induktelen depresyon modelinde propolisin öğrenme bellek ve torasik aorta fonksiyonları üzerine etkileri	
	SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI KURULU	Doç.Dr.Semih Selcen GÖÇMEZ / Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	
	YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	Prof.Dr.Tijen UTKAN, Doç.Dr.Yusuhan YAZIR, Vet Hekim Cüneyt ÖZER, Dr.Öğr.Üyesi Fevzi UÇKAN, Arş.Gör. Tuğçe DEMİRTAŞ ŞAHİN, Dr.Öğr.Üyesi Fatma Ceyla ERALDEMİR, Gülşen ÇELEBİ, Rabia KELOĞLAN	
DEĞERLENDİRİLEN BELGE	DİLEKÇE	X	
KARAR BİLGİLERİ	30.11.2017 tarihli Etik Kurul Oturumunda KOU HADYEK 11/B-2017 karar sayılı ile onaylanmış buluna çalışma için talep edilen değişiklikler ve gerekçeleri değerlendirilmiş olup çalışmaya Gülşen ÇELEBİ v Rabia KELOĞLAN'ın eklenmesi uygun bulunarak onaylanmıştır. KARAR NO: KOU HADYEK 1/7 - 2018 KARAR TARİHİ: 16.10.2018		
ETİK KURUL ÜYELERİ			
UNVANI/ADI SOYADI ETİK KURUL GÖREVİ	BİSMİ	TOPLANTIYA KATILMA	KARARA KATILMA EMZA
Prof. Dr. Hüsnü EFENDE Başkan	Kocaeli Üniversitesi (KOU) Tıp Fakültesi Nöroloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	<i>Jemmi</i>
Doç. Dr. Mine ÇEHİRALTI Başkan Vekili	KOU Tıp Fakültesi Tıp Tarihi ve Dermatoloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	<i>M.Ş.</i>
Veteriner Hekim Cüneyt ÖZER Raporör	KOU Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Tijen UTKAN Üye	KOU Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Dr.Öğr. Üyesi Sabri ÇORA Üye	KOU Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	<i>Ö.Ç.</i>
Dr.Öğr. Üyesi Fevzi UÇKAN Üye	KOU Fen-Edebiyat Fakültesi Genel Biyoloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Zafer CANTÜRK Üye	KOU Tıp Fakültesi Genel Cerrahi AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	<i>Zafer</i>
Prof. Dr. Melis YARDEMOĞLU YILMAZ Üye	KOU Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	<i>Melis</i>
Doç. Dr. Canan BAYDEMİR Üye	KOU Tıp Fakültesi Biyostatistik ve Tıbbi Biyoloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	<i>Canan</i>
Doç. Dr. Gülfer AKPINAR Üye	KOU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	<i>Gülfer</i>
Veteriner Hekim Akın Ziya ÜNAL Üye	Hayvan Hekimleri Bölümü Veterinerler Odası	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Asiye ASLAN Üye	Emekli Öğretmen	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	<i>Asiye</i>

Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Sekreterliği, Umutsuz Yarıncıkız, Eski İzmit Yolu 10.km, 41380 Ümittepe / İZMİT
Tel: 0 262 303 70 15; - Faks: 0 262 303 70 03

KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER

- [1] **Keloğlan R.**, Uçkan F., Demirtürk Z., Kronik hafif stres uygulanan sıçanlarda propolisin oksidatif parametreler üzerine etkileri, *IV.International Scientific and Vocational Studies Conngress Science and Health*, Ankara, 7-10 Kasım 2019.



ÖZGEÇMİŞ

1996 yılında Eskişehir’de doğdu. İlköğretimimi ve orta öğrenimimi Kocaeli ilinin Dilovası ilçesinde tamamlayarak lise öğrenimime Kocaelinin Gebze ilçesinde başladım ve 2013 yılında Kocaelinde tamamladı. 2013 yılında Kocaeli Üniversitesi Fen- Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde eğitim ve öğretimime devam ederek 2017 yılında Biyoloji Bölüm mezunu ünvanıyla lisans eğitimimi tamamladı. 2017 yılında başladığı Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı’nda lisansüstü öğrenimini tamamlama aşamasındadır.

