T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI DÜZEYLERDE PROPOLİS UYGULAMALARININ FARELERDE LİPİD PEROKSİDASYONU (MDA) İLE BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELERE ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Ahu Fatma BOZKURT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOKİMYA (VET.) ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Firuze KURTOĞLU

KONYA- 2010

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI DÜZEYLERDE PROPOLİS UYGULAMALARININ FARELERDE LİPİD PEROKSİDASYONU (MDA) İLE BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELERE ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Ahu Fatma BOZKURT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOKİMYA (VET.) ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Firuze KURTOĞLU

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 09202033 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2010

S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Ahu Fatma BOZKURT tarafından savunulan bu çalışma, jürimiz tarafından Biyokimya (Vet.) Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Kadriye SORKUN Hacettepe Üniversitesi	İmza
Danışman:	Prof. Dr. Firuze KURTOĞLU Selçuk Üniversitesi	İmza
Üye:	Prof. Dr. Mehmet NİZAMLIOĞLU Selçuk Üniversitesi	İmza

ONAY:

Bu tez, Selçuk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmenliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu …… tarih ve …… sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Orhan ÇETİN
Enstitü Müdürü

i. ÖNSÖZ

İnsanlar tarafından propolis kullanımı tarihte balın keşfedilmesine kadar uzanmaktadır. Propolis biyolojik özellikleri sayesinde çok eski yıllardan beri alternatif tıpta kullanılagelmiştir. Geleneksel hekimlikte yaygın olarak kullanılan propolis, içeriğinin toplandığı bölge ve bitki türüne bağlı olarak değişmesi ve bunun standardize edilememesi, sentetik üretiminin imkansızlığı ve patent sorunu gibi sebeplerden dolayı modern tıpta ilaç firmaları tarafından bugüne kadar pek tercih edilememiştir. Propolisin birçok olumlu özelliğinin ortaya konulmasından önce, arıcıların çalışma koşullarını ve bal hasadını zorlaştırması, petekli balın pazar değerini düşürmesinden dolayı kolonilerin propolis toplama eğiliminin yüksek olması istenmeyen bir özellikti. Ancak son yıllarda sentetik ilaçların yan etkilerinin ortaya çıkması ve bu hastalık etmenlerinin ilaçlara karşı dayanıklı hale gelmesi sonucu insanlar yeniden doğal ilaçlara eğilim göstermişlerdir.

Bu gibi nedenlerden dolayı, arı ürünleri tıbbın alternatifi değil destekçisi ve tamamlayıcısı olarak önem kazanmıştır. Doğal ilaçların (ürünlerin) başında gelen propolisin yapısı farmakolojik özellikleri, üretimi, kullanım biçimleri, gibi konularda yoğun araştırmalar yapılmıştır. Propolisin alternatif tıptaki popülaritesi sayesinde son otuz yıldır tıbbi–kimyasal araştırmalarda önemli bir konu haline gelmiştir.

Bu yüksek lisans tez çalışması, erkek farelerde, içme suyuna değişen oranlarda propolis katkılarının kan plazması biyokimyasal değerleri ile lipid peroksidasyonu göstergesi olan malondialdehit (MDA) üzerine olabilecek etkilerinin belirlenmesi amacı ile gerçekleştirilmiştir. Tez çalışmaları sırasında, hayvan temini ve alımı, bakım ve besleme teknikleri ile kan alımı konularındaki desteklerinden ötürü sayın Prof. Dr. Varol KURTOĞLU na, verilerin istatistiksel değerlendirmesinde yol gösteren hocalarımız Prof. Dr. M. Emin TEKİN ve Prof. Dr. Şeref İNAL'a ayrıca hayvan bakımı, beslenmesi, temizliği konularında yardımcı olan Biyokimya Anabilim Dalı Y. Lisans ve Doktora öğrencisi arkadaşlarıma teşekkürü borç bilirim.

ii. SİMGELER VE KISALTMALAR

ALT	Alanin Amino Transferaz
ARA	Araşidonik Asit
AST	Aspartat Amino Transferaz
Ca	Kalsiyum
CA	Canlı Ağırlık
CAPE	Kafeik Asit Fenetil Ester
CAT	Katalaz
GPx	Glutasyon peroksidaz
GR	Glutasyon redüktaz
GSH	Glutasyon (redükte)
GSSH	Okside glutasyon
HDL	High Density Lipoprotein (Yüksek Dansiteli Lipoprotein)
HETE	Hidroksi Eikoza Tetra Enoik asit
HRT	Hormon Replasman Tedavisi
KA A	Kafeik Asit
LA	Linoleik asit
LDH	Laktat dehidrogenaz
LDL	Low Density Lipoprotein (Düşük Dansiteli Lipoprotein)
LPO	Lipid hidroperoksit
MDA	Malondialdehit
µM	Mikro Molar
mg	Miligram
NO	Nitrik Oksit
OH*	Hidroksil radikali
PG	Propilen Glikol
PUFA	Poly Unsaturated Fatty Acid (Çoklu Doymamış Yağ Asiti)
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksit dismutaz

iii. İÇİNDEKİLER **Sayfa**

1. GİRİŞ **1**

1.1. Propolisin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri 3
1.2. Propolis Ekstraktları 5
1.3 Propolis Örneklerinde Belirlenen Bileşik Grupları 5
1.3.1.Flavonoidler 5
1.3.1.1. Flavonoidlerin Kimyasal Yapısı 5
1.3.2. Fenol Bileşikleri 8
1.4. Propolisin Metabolik Etkileri 11
1.4.1. Propolisin Antioksidan Etkisi 12
1.4.2. Propolisin Antibakteriyel ve Antifungal Etkisi 14
1.4.3. Propolisin Antiinflamatuar Etkisi 16
1.4.4. Propolisin Antikarsinojenik Etkisi 16
1.5. Propolisin Tıbbi Alanlarda Kullanımı 18
1.6. Hayvan Besleme Yönünden Propolis 21
1.7. Propolisin Toksik Etkisi 22

2. GEREÇ ve YÖNTEM **23**

2.1. Gereç 23
2.1.1. Hayvan ve Yem Materyali 23
2.1.2 Deneme Düzeni 23
2.2. Kan Örneklerinin Alınması ve Analizler 24
2.3. İstatistik Analizler 26

3. BULGULAR **27**

4. TARTIŞMA **30**

5. SONUÇ ve ÖNERİLER **38**

6. ÖZET **39**

7. SUMMARY **41**

8. KAYNAKLAR **43**

9. ÖZGEÇMİŞ **49**

1. GİRİŞ

Propolis, bal arılarının (Apis mellifera L.) ağaç kabuklarından, bitkilerin filiz, dal ve tomurcuklarından toplayarak arka bacaklarındaki polen sepetçiklerinde biriktirdiği reçinemsi maddeleri ve bitki öz sularını, baş kısımlarında bulunan salgı bezlerinden salgılanan birtakım enzimlerle biyokimyasal değişikliğe uğratıp balmumu ile karıştırarak kovan içerisinde oluşturdukları reçinemsi yapışkan, keskin ve güzel kokulu organik bir üründür (Hepşen ve ark 1996, Fuliang ve ark 2005, Seven ve ark 2007, 2008). Arılar, belirtilen bu mekanizma ile oluşturdukları propolisi, kovan içerisindeki besinleri ile kendilerini ve yavrularını çeşitli mikroorganizmalardan (virüsler, bakteriler, fungus) korumak için oluşturur, kovan girişini bu madde ile kapatır, aynı zamanda kovan içerisini de dezenfekte ederler.

Kovan içerisinde kapalı bir ortamda 50,000-80,000 ergin arı ile bir o kadar da yavru (yumurta, larva, pupa) bulunmasına, kovan içi sıcaklığın (24°C) ve rutubetin (%40-%65) de virüsler, bakteriler ve funguslar için çok ideal bir ortam oluşturmasına karşın yavru ve erişkin arılar propolis etkisi ile hastalıklara yakalanmadan 80 milyon yıldan beri yaşamlarını sürdürmektedir. Kovan içerisine giren taşıyamayacakları kadar büyük canlıları da propolis ile kaplayarak bir enfeksiyon kaynağı oluşturmasını önlerler. Kovanın giriş deliğini kırık ve çatlakları propolis ile kapatarak mikropların kovana girmesine ve çoğalmasına engel olurlar.

Propolis arılar tarafından kovan içerisinde şu amaçlarla kullanılır;

- Arı kovanında duvarları tıkamak ya da güçlendirmek,

- Kovan içinde ölen ancak kovan dışına taşınamayan arı ve diğer canlıların vücutlarının mumyalamasında kullanarak, bunların çürüyüp mikroorganizma üretmelerini engellemek,

- Yavru yetiştirme dönemlerinde yarık ve çatlaklardan suyun buharlaşıp kaybolmasını engelleyerek kovan içi olması gereken nem oranı koruyabilmek (özellikle kuraklık olan dönemlerde arıların bunu daha da özenle oluşturdukları bilinmektedir),

- Kovanı olumsuz çevre koşullarından korumak, kovan giriş deliğini küçültmek,

- Kovanın dezenfekte edilmesini sağlamak,

Propolisin ticari ve saf olarak üretimi genel olarak zor ve uzun zaman gerektirir. Saf ve iyi kalitede propolis toplayabilmek için kovana özel ilaveler (donanımlar) yapılması gereklidir. Fazladan konulan bu ilaveler, kovan içinde boşluklar oluşmasını sağlar. Tarlacı işçi arılar (12-21günlük) bu boşlukları propolisle doldurarak kapatırlar. Dolum işleminden sonra bu ilave kısımlar alınarak propolis toplanır, ayrılır ve paketlenir. Propolisin hasadı için, daha kolay toplanabileceği soğuk sonbahar ayları ya da kış ayları tercih edilmelidir. Yaz mevsiminde toplanan propolis yapışkan olacağından içine daha fazla miktarda balmumu karışacak ve buna bağlı olarak rengi de mat (donuk) olacaktır. Daha güvenli bir sınıflandırma yapabilmek için ise propolisin hasatından önce balmumu özenle ayrıştırılmalı ve propolise karışması önlenmelidir (Mani ve ark 2006).

Propolisin kimyasal kompozisyonu toplama tekniklerine bağlı olarak örnekten örneğe farklılık göstereceği bildirilmektedir. Plastik ızgaralı yöntem ile toplanan propolis örneklerinde biyolojik olarak aktif maddeleri içeren reçine miktarının düşük olması nedeniyle, bu yöntemle elde edilen propolis örnekleri kimyasal içerik yönünden düşük kalitededirler. Daha saf propolis üretimi için ise önden veya yandan ahşap tuzaklı yöntemlerin kullanılması önerilmekte ve daha yaygın olarak kullanılmaktadır (Mani ve ark 2006). Arıların propolisi üretmesi için gerekli olan bileşikler tıpkı bitkilerden sızan maddeler gibi bitkiler tarafından saklanmış olan kimyasal bitki özleridir. Yaprak ve goncalar üzerindeki lipofilik maddeler, sepal, sakız, reçine gibi bitki kaynaklı maddelerin oranı arı reçinesinin kimyasal oluşumunu belirlemektedir. Kavak türü propolis hem kimyasal hem de tıbbi açıdan en iyi bilinen ve en yoğun şekilde incelenmiş olan arı reçinesidir (Bankova 2005).

Yeşil propolis sadece Brezilya da bulunur. Brezilya da son yıllarda Alecrim propolisinden farklı 11 farklı tür propolis bulunduğu bilinmektedir. Fakat bu türlerin

üretimi çok daha sınırlıdır. Bu bitki türleri diğer ülkelerin doğal şartlarına uyum sağlayamaz (Bankova, 2005; Fischer ve ark, 2007).

1.1. **Propolisin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri**

Propolis, toplandığı bitki türüne göre değişmekle birlikte sarıdan koyu kahverengine kadar değişebilen bir renge sahiptir. Kıvamı ise bulunduğu ortam sıcaklığına göre değişkenlik gösterip, 60-70 ^{0}C'de sıvı, 25-45 ^{0}C'de yumuşak ve yapışkan, 15 ^{0}C' nin altında ise katı kırılgandır. Propolis etanol, glikol ve suda belirli oranlarda çözünür.

Propolisin içeriği, toplandığı bitkilerin tür ve çeşitlerine göre değişmektedir. Pek çok farklı bitkiden arılar tarafından toplanan ve birçok bileşiğin bitki özsuyundan hiçbir değişikliğe uğramadan yapısına katıldığı propolis için en önemli kaynağın *Populus Nigra* (kara kavak) bitkisi olduğu düşünülmektedir. Bunun yanı sıra, çam, huş, kavağın diğer türleri, at kestanesi, karaağaç, meşe, dişbudak, akçaağaç, fındık, kestane, ıhlamur, akasya, göknar ağaç türlerinin de arılar tarafından propolis üretimi için en çok tercih edilen bitkiler olduğu bildirilmektedir (Bianchi 1995).

Propolisin ortalama % 60.2 lik kısmını lipidler oluşturur. Bu miktarın % 49.09 unu yağ asitleri, geri kalan bölümünü ise steroller, hidrokarbonlar ve uzun zincirli alkoller gibi sabunlaşmayan maddelerden oluşur. Palmitik asit ve stearik asit propoliste bulunan doymuş yağ asitlerine örnektir. Doymamış yağ asitlerinden ise nervolik, eicosapentaenoik, araşidonik, oleik, linoleik ve linolenik asitler propolisten değişen oranlarda izole edilmişlerdir (Greenaway ve ark 1987, Dığrak ve ark 1995).

Propolisin kimyasal kompozisyonunun belirlenmesinde en geçerli metot kütle spektrumlu gaz kromatografik (GC-MS) metottur. Bu incelemeler sonucunda propoliste toplam 100 den fazla aktif bileşen olduğu tespit edilmiştir (Bankova ve ark 1992, Garcia-Viguera ve ark 1993). Flavonoidler, fenolik bileşikler, aromatik asitler ve esterleri, aldehitler, ketonlar, yağ asit ve esterleri, organik asitler, enzimlerin çeşitli türleri, terpenler, steroidler, aminoasitler, polisakkaridler, hidrokarbon, alkol, hidrobenzen ve aromatik oluşumlar propolisin organik içeriğini oluşturan temel bileşiklerdir (Kolonkaya ve ark 2002, Fuliang ve ark 2005, Benkovic ve ark 2007).

Kimyasal yapısıyla ilgili olarak gerçekleştirilen analizlerde propoliste 160-300 değişik bileşen olduğu saptanmıştır. Propolisin yapısında ayrıca glukoz, fruktoz, sukroz gibi şekerler, aminoasitler, B_1, B_2, C ve E vitaminleri, ile bakır, kuşun demir, molibden, aluminyum, nikel, stronsiyum, vanadyum, magnezyum, çinko, manganez, ve kalsiyum elementlerinin de bulunduğu gösterilmiştir.

Propolis ve bal doğal bir ürün olmakla birlikte içerikleri birbirinden oldukça farklıdır. Balın, glikozdan başka fermentler, organik asitler, mineraller, pek çok vitamin, folik asit, askorbik asit, keratin, albumin, ve antibiyotiklerden oluştuğu bilinmektedir (Golychev 1990, Mozheronkov ve ark 1991). (Çizelge 1 ve 2).

Çizelge 1.1. Propolisin bileşimi (Şahinler 2000)

	%
Reçine	50
Mumlu bileşikler	30
Esansiyel yağlar	10
Polen	5
Organik ve Mineral Maddeler	5

Çizelge 1.2. Süzme Balın Bileşimi (Şahinler 2000)

	%
Şekerler	79.59
Su	17.20
Asitler	0.57
Protein	0.26
Mineral maddeler	0.17
Diğer bileşikler	2.21

Propolisin kimyasal bileşimi, adde özleri toplanırken bal arıları tarafından ziyaret edilen bitkilerin türüne bağlı olarak çok çeşitlidir. Coğrafi farklılıklardan dolayı Avrupa da arılar tarafından toplanan propolis, Güney Amerika ya da Asya propolisinden oldukça farklı kimyasal bileşimlere sahip olabilmektedir (Kolonkaya ve ark 2002, Choi ve ark 2006).

Propolisin biyolojik etkinlikleri ve mikroorganizmalara etkisi farklı iklim ve coğrafi bölgelerden alınan örneklerde farklı tespit edilmiştir. Bunun nedeni ise farklı coğrafi bölgelerden toplanan bu örneklerin kimyasal bileşimlerinin farklı olmasıdır.

1.2. Propolis Ekstraktları

Denemelerde propolisin daha çok etanol ile yapılan ekstraktı kullanılmasına karşın son zamanlarda su içerisinde yapılan ekstraksiyonlar da uygulanmaktadır. Nagai ve ark (2003), propolisi distile su ile ekstrakte ederek, bunu analiz etmiş ve propolis su özünün aminoasit, fenolik asit, fenolik asit ester, flavonoid, sinnamik ve kafeik asit gibi doğal maddeler içerdiğini ileri sürmüşler ve yüksek miktardaki flavonoid miktarlarına bağlı olarak antioksidan kapasitenin su özünde de yüksek olabileceğini desteklemişlerdir. Propolis su özünün, içinde bulundurduğu yüksek fenolik bileşenlere bağlı olarak yüksek antioksidan etkinliği de kaydedilmiştir (Mani ve ark 2006).

1.3. Propolis Örneklerinde Belirlenen Bileşik Grupları

Propolis de bulunan ana kimyasal maddeler flavonoidler, fenolikler ve çeşitli aromatik oluşumlardır. Bunların yanısıra B kompleks vitaminleri, mineraller ve iz elementler diğer önemli bileşenlerdir (Kolankaya ve ark 2002, Bankova 2005).

1.3.1 Flavonoidler

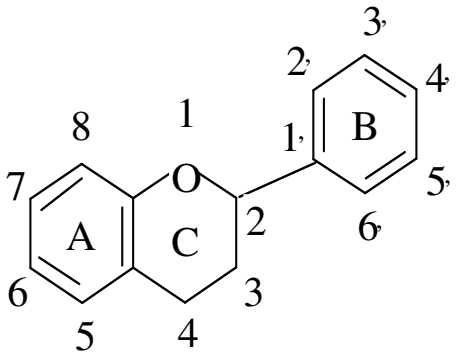
Flavonoidler, bitkisel orijinli, düşük molekül ağırlıklı, genellikle flavon çekirdeğine sahip olan bileşiklerdir. Bugüne kadar bitkisel orijinli 4.000 den fazla flavonoid türü tanımlanmıştır. Bitkilerin sahip oldukları renk, koku ve aromalardan da büyük oranda flavonoidler sorumludur (Heim ve ark 2002). Flavonoidler, etanolik ve su ekstraktlarında değişen miktarlarda bulunabilen, biyolojik olarak oldukça aktif bileşiklerdir. Flavonoller biyolojik yönden flavon ve flavononlardan çok daha aktiftirler. Bu bileşiklerin ayrı ayrı kullanımlarına göre flavonol ve flavonların birlikte kullanılması sinerjik ve daha baskın etki elde edilmesini sağlar (Hepşen ve ark 1996).

1.3.1.1. Flavonoidlerin Kimyasal Yapısı

Flavonoidler, fenolik ve piran halkası içeren benzo-□-piron deriveleri olup ilave olan yan gruplara göre sınıflandırılırlar (Şekil 1.1). Diyetsel flavonoidler

yapıdaki hidroksil ve glikozidik gruplar yönünden; diğer yandan ise A ve B halkaları arasındaki bağlanmalar yönünden farklılık gösterirler. Organizma içerisinde devam eden metabolizmalar boyunca hidroksilasyon, metilasyon, sülfatasyon ya da glukronidasyona uğrayan flavonoidlerde aktivite değişimleri gerçekleşir. Yiyeceklerde bulunan flavonoidler esas olarak 3-*O*- glikozitler ve bunların türevleri şeklinde bulunurlar (Hammerstone ve ark 2000).

Flavonoidlerin belirtilen bu yapısal farklılıkları yanısıra, emilim, farmokokinetik ve biyotransformasyon farklılıkları da organizma içindeki biyokimyasal fonksiyonlarını etkilemektedir. Ancak, çok az sayıda flavonoid türünün, sözü edilen bu özellikleri bilinmekte, birçok türün ise araştırma aşamasında olan bu nitelikleri henüz kesinlik kazanmamış durumdadır (Heim ve ark 2002). Flavan nukleusta bulunan fonksiyonel gruplar, alınan miktar, cinsiyet ve gastrointestinal kanal (kolon) da mevcut mikrobiyal populasyon emilim farklılıklarını oluşturan faktörlerdir (Hollman ve ark 1999[a], 1999[b], Erlund ve ark 2001).



Şekil 1.1. Flanonoidlerin zincir yapıları (Cook ve ark 1996)

Propoliste bulunan flavonoidler esas itibari ile antioksidan aktiviteden sorumludurlar. Bir flavon bileşiği olan pinosembrin, bakteriler, küf ve mayalar üzerine etki etmektedir. Bu flavonla birlikte galangin, 3-asetil pinobanksin, kaffeik ve ferrulik asitler propolisin biyolojik aktivitelerinin çoğundan sorumludur. Propolisteki diğer bir flavon olan Qercetin, antiviral aktivite gösterir ve damarların kuvvetlendirilmesini sağlamaktadır. Propolisteki diğer flavonlar ve flavononlar, antiinflamatuar, topikal anestezi ve spazmolitik aktivitelere sahiptir (Ötleş 1995).

Flavonoidlerin çok sayıda bakteriye karşı etkili olduğu bildirilmektedir. Flavonoidlerce zengin ürünlerin anti-bakteriyel aktiviteleri gram (+) bakterilere karşı, gram (-) göre daha etkili olduğu belirlenmiştir. Flavonoidler propolis içindeki pek çok DNA ve RNA virüsüne karşı etkili olduğu düşünülen en önemli maddelerdir (Hepşen ve ark 1996).

Çizelge 1.3. Propolisdeki Önemli Flavonoidler

Genel adı	**Kimyasal adı**
Chrysin	5,7-di OH (Hidroksi) flavon
Tectochrysin	5-OH-7-MET (Metoksi) flavon
Galangin	3,5,7-tri OH flavon
Acecetin	5,7-di OH-4'-MET flavon
Isalpinin	3,5-diOH-7-MET flavon 5-OH-4'-7-di MET flavon
Kaempherol	3,4,5,7-tetra OH flavon
Kaempheride	3,5,7-triOH-4'- MET flavon
Rhamnocitrin	3,4',5-triOH-7- MET flavon 3,5-diOH-4'7- MET flavon 5,7-diOH-3,4'-diMETflavon
Isorhamnetin	3,4',5,7- tetraOH-3- MET flavon
Quercetin	3,3',4',5,7- penta OH flavon
Q-3, 3-dimethylether	4',5,7-tri OH-3,3'-di MET flavon
Pinocembrin	-di OH flavanon
Pinostrobin	5-OH-7-MET flavanon
Pinobanksin	3,5,7-tri Ottflavanon
3-Asetilpinobanksin	5,7- di OH-3-asetil flavanon 5-OH-4',7-di MET flavanon
Sakuranetin	4',5-di OH -7- MET flavanon
Isosakuranetin	5,7-di OH-4'-MET flavanon

Propolisteki flavonoidler genel olarak;

- Mide ülseri tedavisinde ,

- Damarların kuvvetlendirilmesinde ,

- Skorbüt hastalığının tedavisinde (C vitaminiyle birlikte) önemli rol oynar.

- Kalp kası üzerinde koruyucu etki gösterir.

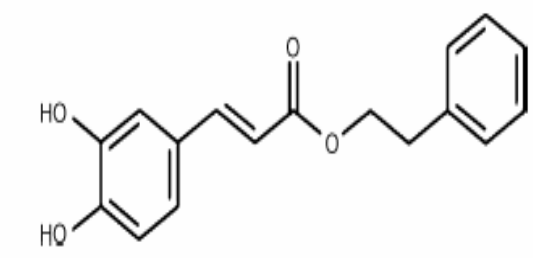
- Lipid peroksidasyonunu zincir kırıcı etki göstererek önler (Antioksidan etki bölümünde özetlenmiştir).

- Dermatolojik rahatsızlıklarda, gingivitis, stomatitis tedavilerinde etkindir (Isla ve ark 2001, Song ve ark 2002, Nagai ve ark 2003, Mohammadzadeh ve ark 2007).

1.3.2 Fenol bileşikleri

Fenolik bileşiklerin en önemlileri sinnamil alkol, sinnamik asit, vanilin, benzil alkol, benzoik asit, kafeik ve ferulik asitlerdir. Fenollerin çeşitli metabolik etkileri vardır. Kaffeik asit ve fenetil esteri (CAPE), melanom ve karsinom tümör hücrelerinin gelişimini engellerken, pterostilben antidiyabetik bir aktiviteye, kaffeik asit ise antiinflamatuar özelliğe sahiptir (Ötleş 1995, Kolankaya ve ark 2002).

Kafeik asit fenetil esterin (CAPE), propolis maddesinin aktif bir bileşeni olup antimikrobik, antienflamatuar, immunomodülator, antioksidan, antimutojenik olduğu belirtilmiştir. Yapıca flavonoidlere benzer ve iki halkasal yapı içerir. Bu halkasal yapılardan bir tanesinde iki adet hidroksil grubu taşımaktadır (Şekil 1.2). Bu OH grubu sayesinde redoks reaksiyonlarında aktif rol oynayarak E vitamini ve C vitamininde olduğu gibi antioksidan özelliği bilinmektedir (Gündüz ve ark 2005, Özyurt ve ark 2006).



Şekil 1.2. CAPE (Kafeik asit fenetil ester, Sforcin 2007)

Kafeik asit fenetil ester propolisden izole edilmiş ve tümör hücreleri için sitotoksik etkisi olduğu belirlenmiştir (Aksoy ve Dığrak 2006). Propolisin ana bileşenlerinden birisi olan kafeik asit fenil etil ester, reaktif oksijen türlerinin

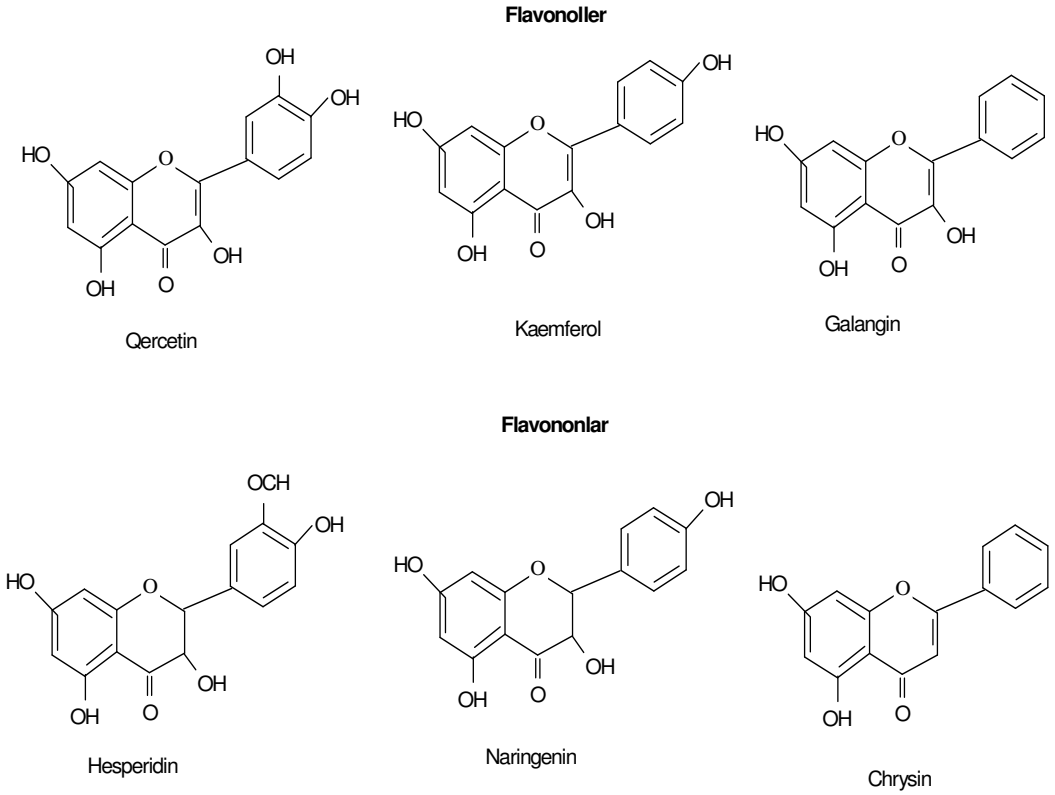
üretimini bloklamaktadır. CAPE anti-tümör, anti-virüs, anti-bakteriyel, anti-fungal ve immuno stimulatory özelliklere sahiptir. CAPE tedavisi bir çok yanık hastalarında yararlı olabilir (Hoşnuter ve ark 2004). Tümöral hücre gelişimini baskılarken normal hücre gelişiminde ise CAPE nin yüksek oranlarda bile herhangi bir zararlı ve baskılayıcı etki göstermediği belirtilmiştir (Borelli ve ark 2002).

Normal şartlarda %15-30 arası etanol özünden oluşan ana flavonoidler, galangin, isalpinin, kaempferol, kaemferid, rhamnositrin, rhammenin, quersitin, pinosemprin, pinostabın, pinostrobin ve pinobanksin gibi bileşenlerden oluşur (Nagai ve ark 2003). Propolise balmumu rengini veren madde flavonoidlerdir. Flavonoidler bitkilerin hemen her yerinde bulunan pigmentler olup propolisin biyolojik aktivitesinin önemli bir kısmından sorumludur.

Flavonoidler majör ve minör olmak üzere ikiye ayrılır:

Majör flavonoidler: Galangin, kamferol, quersetin ve krisin

Minör flavonoidler: Isoalpinin, kamferid, ramnositin, naringenin, ramnetin, pinosembrin ve pinobaksin'dir (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Önemli bazı flavonoidlerin kimyasal yapıları (Buratti ve ark 2007).

Basnet ve ark (1996), propolisin su ekstraktının içeriğinde bulunan 4 çeşit *di-O kafeoil quinik asit* derivesi etkisi ile kimyasal ya da immunolojik yönden hasarlı karaciğere sahip hayvan modelleri üzerindeki denemeleri sonucunda karaciğer üzerinde yüksek oranda koruyucu etkiye (hepatoprotektif etki) sahip olduğunu bildirmişlerdir. Bu deriveler; *metil 3,4 di O kafeoil quinat, 3,4 di O kafeoil quinik aist, metil 4,5 di O kafeoil quinate, ve 3,5 di O kafeoil quinik asittir.* Ancak propolis su özünde bulunan bu derivelerin antioksidan etkinliği ise henüz araştırılmamıştır (Nagai ve ark 2003). Propolis su ekstraktının özellikle beşeri hekimlikte kanserli, karaciğer ve diyabet hastaları üzerinde daha fazla etkiye sahip olabileceği de değerlendirmeler arasındadır (Nagai ve ark 2003).

Çizelge 1.4. Fenolik Bileşikler (Ötleş 1995)

Genel adı	Kimyasal adı
Vanilin	4-OH-3-MET benzaldehit
Isovanilin	3-OH-4-METbenzaldehit idroksitoluene
Benzil alkol	3,5 –diMET benzil alkol
Cinnamil alkol	3-fenil-2-propen-1-ol
Cinnamik asit (CI A)	3-fenil-2-PR(PR=propenoik)asit
Coumarik asit (CO A)	3-(4-OH fenil)-prop-2-enoik asit
Kaffeik asit (KA A)	3-(3,4-diOHfenil)-2-PR asit
Ferulik asit (FEA)	3-(4-OH-3MET Tenil)-2-PR asit
İsoferulik asit	3-(4-OH-3MET Tenil)-2-PR asit
Eugenol	2-MET-4-(2-profenil) fenol
CI A benzil esteri	benzil 3-(fenil-2-PP(propenoat)
CO A benzil esteri	benzil 3-(4- OH fenil)-2-propenoat
KA A phetil esteri ve KA A	3- metil-2-butenil esteri-
KA A isopent -3-enil es.	3-metil-3-butenil-3-(3 ,4-diOH fenil)-2-pp
KA A 2-CH3-2-butunil e.	2-metil-2-butenil-3-(3 ,4-difenil)-2-pp
FE A 3, 3-dimetilallil e.	3-metil-2-butenil - (4-OH-3MET fenil)-2-pp
FE A isopent -3-enil e..	3-metil-3-butenil 3 (4-OH-3-MET fenil)-s2-pp
Pterostilben ve Ksantol	

Çizelge 1.5. Propolisteki bileşiklerin bilinen özellikleri

Aktivite	Bileşen
Antibakteriyel	Pinocembrin ,galangin ,kaffeik asit ,ferulik asit
Antifungal	Pinocembrin, 3-asetik pinobanksin,kaffeik asit p-coumarik asit benzil esteri ,sakuranetin
Antiküf	Pinocembrin
Antiviral	Kaffeik asit , lutseolin , quersetin
Tümör engelleme	Kaffeik asit penetil esteri
Lokal anestezi	Pinocembrin , pinostrobin,kaffeik esterleri
Antiinflammator	Kaffeik asit, acacetin
Spazmolitik	Quercetin, kaemppferid, pectolinerigenin
Antidiyabetik (kanıtlanmamış)	Pterostilben
Mide ülseri tedavisi	Luteolin, apigenin
Akciğer yetersizliğinde destek	Eriodictyol
Damarları kuvvetlendirici	Quercetin (3',4',-diOH flavonoidler)

1.4. Propolisin Metabolik Etkileri

Propolis ve bileşenlerinin metabolizmada çeşitli enzim sistemlerini etkilediği (aktivasyon ya da inhibisyon yolu ile), hücre metabolizması, dolaşım, kollajen formasyonu ve buna bağlı yara ve yanıkların iyileşmesi gibi metabolik etkilere sahip olduğu bilinmektedir. Bu etkiler propolis bileşiminde bulunan arjinin etkisi ile gerçekleşmektedir. Propoliste en fazla bulunan ve kollajen ile elastin sentezinde yer alan ikinci aminoasit ise prolindir (Gabrys ve ark 1986).

Farelerde yapılan araştırmalarda propolisin sitokin üreten immun hücreleri aktive ettiği ve bu etkilerle propolisin aynı zamanda anti-tümor etkiye de sahip olduğunu ortaya koymuştur (Kolankaya ve ark 2002). Bunun yanı sıra yapılan diğer araştırmalar ve propolisin önemli fizyolojik etkileri ve bu etkilerden sorumlu biyolojik etken maddeler şu şekilde sıralanabilmektedir; (Çizelge 1.5);

- Antiinflamatuar (Nagai ve ark 2003, Koru ve ark 2007, Mohammadzadeh ve ark 2007)
- Antioksidan (Hepşen ve ark 1996, Isla ve ark 2001, Mohammadzadeh ve ark 2007)
- Antibakteriyel ve Antiviral (Bankova 2005, Gunduz ve ark 2005, Benkovic ve ark 2007)
- Antifungal (Isla ve ark 2001, Şahinler ve ark 2003, Bankova 2005),
- Antitümör (Bankova 2005, Benkovic ve ark 2007)
- Anestezik ve Sitostatik Etkiler (Isla ve ark 2001, Choi ve ark 2006)
- İmmünomodületör (Hepşen ve ark 1996, Song ve ark 2002)
- Hepatokuruyucu (Bankova 2005, Koru ve ark 2007)
- Antimutajenik (Hepşen ve ark 1996)
- Antibiyotik (Isla ve ark 2001, Nagai ve ark 2003).

1.4.1. Propolisin Antioksidan Etkisi

Propolisin son yıllarda üzerinde durulan ve tartışılan özelliklerinden biri de antioksidan etkisidir. Organizmada metabolik olaylar aşamasında kaçınılmaz bir şekilde ortaya çıkan serbest radikaller, hücresel yaşlanma ve buna bağlı olarak, kardiyovasküler hastalıklar, kanser, diyabet, artritis, parkinson, alzheimer gibi hastalıklara zemin hazırlarlar. Organizma ise başlıca antioksidan enzimler olan SOD (süperoksit dismutaz), CAT (katalaz), GPx (glutasyon peroksidaz), GR (glutasyon redüktaz) ile bunları temizler, eğer oksidan madde düzeyi antioksidan enzim kapasitesini aşarsa antioksidan vitaminler (özellikle C ve E) ikincil savunma hattı olarak devreye girerler (Mohammadzadeh ve ark 2007) .

Propolisteki temel bileşikler olan flavonoidler ve bunlarla ilgili bileşiklerin serbest radikalleri temizleme etkisi bilinen antioksidan etkinliği göstermektedir. Bazı flavonoidler doymamış yağ asitlerinin peroksi radikalleri ile reaksiyona girip temizleyici etki yaparak özellikle lipid peroksidasyonunun başlangıç aşamasında etkili olurlar. Flavonoidlerin antioksidan etkileri peroksit iyonları, hidrojen peroksit,

singlet oksijen ve diğer lipid peroksit radikallerini ortamdan uzaklaştırabilme yeteneklerine bağlanmıştır. Bu yeteneklerinin ön plana çıkmasında özellikle yapılarında bulunan OH gruplarının sayısı önem arz etmektedir (Cao ve ark 1997).

Serbest radikallerin temizlenmesi ve ortamdan uzaklaştırılması ya da flavonoidler etkisi ile zincir kırılma reaksiyonu sonunda radikal oluşumunun tamamen önlenmesi yanısıra flavonoidlerin, hücre membranında aktivite gösteren ve membran doymamış yağ asitlerinin okside olarak aktif mediatörlere dönüşmesine neden olan *fosfolipaz* A_2 (Lee ve ark 1982), *lipooksijenaz ve siklooksijenaz* (Bauman ve ark 1980^a,1980^b) enzimlerini inhibe ederek antioksidan etki gösterebilecekleri üzerinde de önemle durulmaktadır (Krol ve ark 1990). Bu etkinin özellikle propoliste mevcut flavonoid bileşiklerinin, biyolojik membranlardan hidrojen atomlarının uzaklaşmasına ve dolayısı ile lipid hidroperoksidasyonuna (LPO) neden olan hidroksil radikalini (OH*) ve süperoksit (O_2^-*) anyonlarını uzaklaştırarak ortaya çıktığı belirtilmektedir (Nagai ve ark 2003).

Propolisin birincil etken maddelerinden biri olan CAPE'nin insan nötrofillerinde ve ksantin oksidaz (XO) sisteminde reaktif oksijen üretimini tam olarak bloke ederek antioksidan etki oluşturduğu gösterilmiştir. Major flavonoidlerden güçlü bir antioksidan madde olan kuersetin, doku yenilenmesinin hızlandırılması ve yaşlı bireylerde bazı enzimlerin aktive edilmesi gibi metabolik özellikler gösterir. Propolisin karaciğeri koruyucu etkisinin içerdiği antioksidan etkili maddelere bağlı olduğu belirlenmiştir (Hepşen ve ark 1996). Cebovic ve ark (2004), propolis ekstraktı ile yaptıkları denemelerinde özellikle lipid peroksidasyonunu başlatan ajan olarak bilinen OH* radikalinin propolis etkisi ile çok güçlü bir mekanizma ile engellendiğini, bu antioksidan etkinin E ve C vitaminlerinin antioksidan etkilerinden daha güçlü olduğunu saptamışlardır. Propolisin temel aktif bileşenlerinden olan CAPE' in, ısı uygulaması ile yanık oluşturulan ratlarda plazma lipid peroksidasyon ve nitrik oksit düzeylerine etkileri ise Hoşnuter ve ark (2004) tarafından araştırılmış ve CAPE eklenen grupta SOD aktivitesi artmış; ksantin oksidaz aktivitesi ise inhibe edilmiştir. Malondialdehit (MDA) ve NO in plazmadaki düzeylerinin ise düşüş gösterdiği belirlenmiştir.

Diyabetes mellitus, lipid peroksidasyonun artışına neden olan en belirgin metabolik hastalıklardan biridir. Lipid peroksidasyonunda ortaya çıkan bu artış diyabette sekonder olarak ortaya çıkan bozuklukların kaynağını oluşturur. Bu konuda yapılan farklı araştırmalarda (Stefano ve ark 2002, Fuliang ve ark 2005, Okutan ve ark 2005) deneysel olarak oluşturulan diyabette propolis ya da CAPE ilavelerinin lipid peroksidasyon parametrelerini azalttığı, antioksidan enzim aktivitelerini ise artırdığını gösteren veriler elde edilmiştir.

Vitamin C, E ve flavonoidler gibi antioksidanların kullanımı kanatlılarda verimsel özellikleri ve büyümeyi olumsuz etkileyen sıcaklık stresinin etkisini azaltmaktadır. Yapılan bir araştırmada Seven ve ark (2008) broylerlerde vitamin C ve propolis uygulamalarının sıcaklık stresine karşı gelişen olumsuz etkileri ortadan kaldırdığı, büyümeyi artırdığı belirlenmiştir. Çalışmada aynı zamanda flavonoidler (propolis) etkisi ile organizmada diğer antioksidanlara olan gereksinimin de azaldığı ifade edilmektedir.

1.4.2. Propolisin Antibakteriyel ve Antifungal Etkisi

Propolis üzerinde yapılan çalışmalar, bu maddenin birçok antimikrobiyal özellikler taşıdığını, aynı zamanda insan sağlığı için çok önemli ve gerekli olan vitaminler, mineral ve elementleri de ihtiva ettiğini göstermiştir. Aristo zamanından beri bilinen propolisin antimikrobiyal aktivitesi üzerine birçok bilimsel çalışma yapılmıştır (Ötleş 1995).

Propolisin antimikrobik etkisi bakterileri, virüsleri, mantarları ve parazitleri kapsamaktadır. Propolisin antimikrobik etkinliğinin esas olarak pinosembrin, galangin, pinosilvin ve pinobanksin gibi flavonoidler, sinnamik asit, benzil p-kumarat ve kafeik asit esterlerine bağlı olduğu bildirilmiştir (Hepşen ve ark 1996; Aksoy ve Dığrak 2006).).

Propolisin *Toxoplasma gondii ve Trichomonas vaginalis'* i 24 saat içinde öldürdüğü tespit edilmiştir (Aksoy ve Dığrak 2006). Araştırmacılar propolisin *Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Candida albicans* ve *Trchophyton mentagrophytes* türlerine karşı antimikrobiyal etkisinin olduğunu belirtmişlerdir Aynı araştırmacılar, propolisin insan tüberküloz basilini de kapsayan Mycobacterium tuberculosis' in (Gram (+) basillusların) gelişmesini de engellediği ve antibakteriyel etkiye sahip olduğunu tespit etmişler ve propolis ekstraktlarının en güçlü antibakteriyel etkisinin aseton ve kloroformla hazırlanan çözücülerle elde edildiğini gözlemişlerdir.

Belirtilen antibakteriyel etkiler özellikle gram (+) koklar ile gram (-) basiller üzerinde gözlenmiştir. Propolis içindeki antibakteriyel etki gösteren maddelerin en önemlisi kafeik asit ve esterleridir. CAPE'in immünomodülatör etki göstererek gram (+) enfeksiyonlara karşı profilaktik olarak etkili olduğu da bildirilmiştir. Sinnamik asit aynı zamanda *glikozil transferaz* enziminin aktivitesini de inhibe eder (Hepşen ve ark 1996). Sözü edilen bu enzim özellikle tümöral hücrelerde hücre membranında yapılaşmayı sağlayan ve sentez basamaklarını hızlandıran bir enzimdir. Benzer etki mekanizması CAPE tarafından *dihidrofolat redüktaz* enzimi üzerinde de gerçekleşmektedir (Kleinrok ve ark 1978, Strehl ve ark 1994). Bu etki mekanizmaları ile anti tümoral etkiler ortaya çıkmaktadır.

Brezilya kökenli propolisin antibakteriyel etkisi üzerine mevsimin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada Seven ve ark (2007) propolisin düşük konsantrasyonlarında (% 0,4) gram pozitif bakterilerin büyümesini inhibe ettiğini, gram negatif bakterileri ise daha az etkilediğini bildirmişlerdir. Ancak bu etkinin bakterisit değil bakteriyostatik olduğunu vurgulamışlardır. Mevsimsel etki ise bu çalışmada ortaya çıkmamıştır.

Propolis etanolik ekstraktının farklı konsantrasyonlardaki çözeltileri E.coli dışında, Bacillus megaterium, Bacillus subtilis, Bacillus brevis, Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae, Streptococcus, Enterobacter aerogenes, Saccharommyces cerevisiae ve Candida albicans türlerinin gelişmelerini de engellediği belirtilmektedir (Aksoy ve Dığrak 2006).

1.4.3. Propolisin Anti-İnflamatuar Etkisi

Propolisin antiinflamatuvar etkisini, trombosit agregasyonunu önleyerek, prostoglandinler ve lökotrienler gibi ekazonoidlerin sentezini inhibe ederek ve histamin gibi inflamasyonda rol oynayan mediatörlerin salınımı engelleyerek oluşturduğu öne sürülmüştür. Propolis ekstraklarının *dihidrofolat redüktaz* enzimini inhibe ederek antiinflamatuvar etki oluşturduğu ve bu enzim üzerindeki inhibisyonun kafeik asit esterlerine (CAFE) bağlı olduğu belirtilmektedir (Kleinrok ve ark 1978, Strehl ve ark 1994).

Propolis ekstraktı formaldehit ile eklemlerde oluşturulan artritise karşı lokal olarak kullanıldığında belirgin derecede antiinflamatuvar etki göstermiştir. Elde edilen bu antiinflamatuvar etki prednisolonun antiinflamatuvar etkisi ile karşılaştırılmış ve prednisolonun antiinflamatuvar etkisine çok yakın bulunmuştur. Propolisin artrit oluşturulmuş ratlarda AST ve ALT enzimlerinin seviyelerini kısmen düşürdüğü gösterilmiş olup bu etkinin mekanizması henüz tam olarak bilinmemektedir (Dobrowolski ve ark 1991).

1.4.4. Propolisin Antikarsinojenik Etkisi

Son yıllarda propolisin önemli biyolojik etkilerinden birinin de karsinostatik etki olduğu fark edilmiştir. Propolis bileşiminde bulunan organik maddelerden flavonoidler, serbest radikal temizleyicisi, metabolik enzim düzenleyici, detoksifiye edici ve immumodulasyonu sağlayıcı etkileri ile ileri aşamalarda antikanserojenik etki göstermektedirler (Benkovic ve ark 2007). Kafeik asit ve esterlerinin de (CAPE) propolisin karsinostatik etkisinden sorumlu en önemli maddelerden olduğu belirtilmektedir (Gündüz ve ark 2005). Propolisin bazı kanser türlerinde kullanımı yapısındaki sinnamik asit ve terpenoidlerin sitotoksik aktivitesi ile ilgilidir. Bu yönüyle propolis bağırsak, böbrek, meme, burun ve farenks kanserinde başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (Seven ve ark 2007). Yapılan araştırma sonuçlarında düşük dozdaki propolisin meme karsinomlarını önleyici olarak uygulanabileceği bildirilmiştir (Seven ve ark 2008).

Metil kafeat, fenil etil kafeat ve fenil etil dimetil kafeat gibi kafeik asit esterlerinin üçü de kemoproflaktik etkiye sahiptir. Bu maddelerin her üçününde azoksi metil ile deneysel olarak oluşturulan kolon kanseri üzerine inhibitör etkisi belirlenmiştir (Hepşen ve ark 1996).

İnsan kolon adeno karsinomunda bu üç kafeik asit esterinin de *tirozin protein kinaz* enziminin etkisini önemli miktarda engellediği gösterilmiştir. Bu esterlerden kolonda lipojenaz ürünleri ve hidroksi eikoza tetraenoikasit (HETE) oluşumunu en iyi engelleyenler; fenil etil kafeat, fenil etil metil kafeat ve fenil etil dimetil kafeattır. Bu esterlerin üçü de doza bağlı olarak HETE oluşumunu güçlü bir şekilde engellerler (Rao ve ark 1993).

Diğer bir çalışmada (Rao ve ark 1995) da azoksi metil tarafından oluşturulan kolon kanserinin inhibisyonunda fenil etil metil kafeatın, kafeik asit esterleri içinde en etkilisi olduğu gösterilmiştir. Ayrıca yapısal olarak fenil etil metil kafeata benzeyen curcimin ile de kolon kanseri oluşumu üzerinde aynı etki elde edilmiştir. Kanserli farelere propolisin etanol ekstrakt türevleri ile tedavi uygulaması farelerde yaşam süresini artırmış ve fareleri gamma ışınlarına karşı koruduğu bildirilmiştir (Rao ve ark 1993;1995).

Sinnamik asit ve CAPE propolisin antiproliferatif etkisini sergileyen iki önemli bileşendir (Gunduz ve ark 2005). Sinnamik asit özellikle propoliste bulunan ve biyolojik–metabolik etkilerinin birçoğundan sorumlu olan flavonoidlerin sentez kaynağıdır, aynı zamanda *auksin* adı verilen ve hücre gelişimi ve farklılaşmasını sağlayan bitki hormonları grubuna dahildir. Bazı sinnamik asit türevlerinin potansiyel olarak *mitokondriyal dehidrogenaz* enzim inhibitörleridir (Poole ve ark 1993). Ayrıca propolisin anti inflamatuar olduğu, dermatitlere karşı antibakteriyel krem olarak kullanıldığı ve doku yenileme özelliğine sahip olduğu bildirilmektedir (Şahinler 2000). Sinnamik asit propolisin aktif bir bileşenidir. Propolisin yapısında bulunan flavonoidlerin sentez kaynağı sinamik asittir.

1.5. Propolisin Tıbbi Amaçlarla Kullanımı

Propolisin normal hücre aktivitelerini arttırdığını, doku yenilenmesini hızlandırdığı, zarar görmüş pankreas hücrelerini yenilediğini, ayrıca diyabet tedavisine terapötik katkısı olduğu çalışmalarla kanıtlanmıştır (Rao ve ark 1995; Fuliang ve ark 2005). Diyabetes mellitus ta enerji amaçlı olarak yağlar kullanıldığından, diğer bir deyişle lipid hidrolizi yükseldiğinden serbest yağ asitleri ve oksidasyonu artarak hidroperoksit konsantrasyonu yükselir ve hücre membranları başta olmak üzere hücre proteinleri, nükleik asitler, DNA ve tüm biyolojik doku hasarları artar. Artan lipid hidrolizine bağlı olarak kanda toplam kolesterol, LDL kolesterol düzeyleri yükselerek aterosklerozis riski yükselir. Propolis etken maddeleri olan CAPE ve diğer aktif flavonoidlerin lipid peroksidasyonunu, lipoksigenaz aktivitesini azaltarak zincir kırıcı etki ile önlediği, diğer taraftan da propolis flavonol, flavonoid ve esterlerinin antioksidan enzimler olan SOD, GPx, CAT aktivitelerini artırarak biyokimyasal reaksiyonlar sonucu kaçınılmaz bir şekilde ortaya çıkan organik peroksitleri ve tüm reaktif oksijen türlerini (ROT) nötralize ettiği farklı deneysel çalışmalarda (Stefano ve ark 2002, Nagai ve ark 2003, Hoşnuter ve ark 2004, Fuliang ve ark 2005) ortaya konmuştur. Kolankaya ve ark (2002) deneysel alkolizm oluşturdukları ratlarda propolis etkisi ile karaciğer enzimlerinde özellikle AST miktarında düzelmeler, kan lipid profilinde de propolis uygulanmayan gruba oranla büyük oranda gelişmeler elde etmişlerdir.

Balkan ülkelerinde mide ülseri, üst solunum yolu enfeksiyonları, yanık ve yaraların tedavileri için son yıllarda başvurulan alternatif ürünlerin başında propolis gelmektedir (Bankova 2005).

Üzerinde henüz yeterli araştırma yapılmamış olmakla birlikte, propolisin fitoöstrojenik etkili olabileceği ve östrojen reseptörleri ile etkileşime girebilme yeteneklerine bağlı olarak, östrojen yetersizliğine bağlı olarak gelişen kalp damar hastalıkları, osteoperozis gibi bozukların kısmen düzelmesinde etkili olabileceği, aynı zamanda menapoz ve antropoz sonrası uygulanabilen hormon replasman tedavileri (HRT) nin korkulan yan etkileri olan meme ve prostat kanserlerinden korunmaya karşı alternatif bir uygulama olabileceği de belirtilmektedir (Song ve ark 2002).

Propolis spreylerinin solunum yoluyla alındığında romatizmaya ve astıma iyi geldiği, gut hastalığının tedavisinde ve sinirleri yatıştırmada kullanıldığı bildirilmektedir. Bunların yanında propolisin beyin cerrahisinde kanamayı engellediği, yine %2'lik propolisin genel olarak merhemlerin antibakteriyel etkilerini artırdığı bildirilmektedir (Şahinler 2000).

Propolisin %15'lik krem jel formu derideki infeksiyon, inflamasyon ve yaralarda kullanılmış, antiinflamatuvar etkisinin yanında epitelizasyon sürecinin hızlanmasında başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca propolisin deride yara iyileşmesi, yanıklar, iltihabi yaralar, cilt inflamasyonları ve diğer deri hastalıklarında tedavi edici etkisinin de bulunduğu belirtilmiş ve yara iyileşmesinden sorumlu olan en önemli içeriğinin flavonoidler ve fenolik asit bileşikleri olduğu bildirilmiştir (Hepşen ve ark 1996).

Propolis ekstraktı topikal formda rejenerasyon sürecini hızlandırmak ve antimikrobiyal, antiinflamatuvar etkisinden yararlanmak için çeşitli konjonktivitlerde, korneanın bakteriyel enfeksiyonlarında, herpetik keratit, epidemik keratokonjonktivit, kornea ülserleri, kimyasal ve termal yanıklarda damla ve krem şeklinde kullanılmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Hepşen ve ark 1996). Bu durumlarda propolisin daha hızlı bir epitelizasyon sağladığı ve korneanın saydamlaşmasını hızlandırdığı bildirilmiştir. Propolisin % 0.3-1.0'lik solüsyonunun korneanın kimyasal ve termik yanıklarında ve herpetik keratitte daha etkili olduğu bildirilmiştir. Propolisin %1'lik etanolik solüsyonunun ise topikal olarak damlatıldığında göz içi basıncını 4-5 mmHg düşürdüğü ve diğer antigloakom ilaçlarda mevcut olan yan etkilerden hiç birine sahip olmadığı da aynı çalışmada gösterilmiştir. % 10-15'lik krem şeklindeki propolis preperatı gözün yüzey hastalıklarında bala göre daha üstün sonuçlar vermiştir. Oküler yüzeyin inflamasyon ve infeksiyonlarında da faydalı etkileri bildirilmiş ve hatta antioksidan etkisi ile teorik bazda katarakt gelişimi üzerinde olumlu etkisi olabileceği öne sürülmüştür (Ivanov ve ark 1973, Frenkel ve ark 1993).

Oftalmik kullanımda propolisten daha çok bal ile yapılmış Doğu Avrupa ve Rusya kaynaklı çalışmalara rastlanmıştır. Taze petek balının 1/3, 1/2 ve 1/1 oranında

sulandırılarak hazırlanmış solüsyonu vitaminlerle kombine edilerek topikal olarak kullanıldığında konjonktivit, blefarokonjonktivit, değişik sebeplere bağlı keratitler, korneanın termik ve kimyasal yanıkları gibi eksternal hastalıkların tedavisindeki olumlu etkisinin yanı sıra senil kortikal kataraktın önlenmesinde de başlangıç aşamasında etkili olduğu bildirilmiştir (Hepşen ve ark 1996).

Genel olarak tıpta kardiyovasküler ve dolaşım sistemi hastalıklarında, dermatolojide, doku yenilenmesi, ülser, ekzema, yara ve yanıklara karşı, kanser tedavisinde, immun sistem ve sindirim sistemi hastalıklarında tedavi edici olarak, karaciğer rahatsızlıklarına karşı ise koruyucu olarak kullanılmaktadır.

Sinnamik asit aynı zamanda glukozil transferaz enziminin aktivitesini de inhibe eder. Bu yüzden sinnamic asitin diş çürümelerine karşı propolisteki etkili madde olduğu düşünülmektedir (Hepşen ve ark 1996). Propolisteki antimikrobiyal ve antifungal aktivitenin de sinamik asit etkisiyle oluştuğu bilinmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda sinamik asitin insan malign tümörlerinde (Prostat ve akciğer melanoma, glioblastoma, adenokarsinoma) antitümoral aktivite sergilediği gösterilmiştir (Rao ve ark 1993).

Propolisin sodyum benzoattan daha fazla antifungal aktivite gösterdiği belirtilerek gıdalara raf ömrünü uzatmak amacı ile antimikrobik ve antifungal ajan olarak katılabileceği önerilmektedir (Koç ve ark 2007). Yine propolisin domuz eti ürünlerinde kimyasal koruyucu madde olarak kullanılabileceği de gösterilmiştir (Koç ve ark 2007).

Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda propolis ekstraktının toksik etkisinin bulunmadığı; propolisin %1-0,5 sulu çözeltilerde akut ve kronik solunum hastalıklarında aerosol olarak başarılı şekilde kullanıldığı belirtilmektedir. Ayrıca propolis ateşli hastalıklarda ateş düşürücü, yaraların iyileşmesinde, hücre yenileyicisi olarak da kullanılmaktadır (Aksoy ve Dığrak 2006).

Propolis toksik olmayan, çeşitli enzim sistemlerini (antioksidan) hücresel metabolizmayı, kan dolaşımını ve kollajen oluşumunu düzenleyici etkileri olan bir

yapıdır. Bu etkileri ile aynı zamanda yara iyileşmesi ve dermatolojik birtakım tadevilerde de etkili olduğu bilinmektedir.

Farelerde *Salmonella* enfeksiyonundan sonra patolojik değişikliklerde azalma sağladığı da propolisin bildirilen etkileri arasındadır (Seven ve ark 2007).

Propolis ekstraktının in vitro koşullarda kireç hastalığı etmeni Ascosphera apis patojenine karşı yüksek bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Şahinler ve ark 2003).

Propolisin belirtilen anestezik etkisinin içinde bulunan esansiyel yağlardan kaynakladığı bildirilmektedir. Yapılan çalışmalar bu anestezik etkilerin kokain ve prokainden daha güçlü olduğunu göstermiştir (Ötleş 1995).

1.6. Hayvan Besleme Yönünden Propolis

Yem katkı maddesi olarak kullanılan propolis ile ilgili çalışmalarda; yem tüketimi, canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma, yapısındaki flavonoid içeriği ve bununla ilişkili olarak lezzet arttırıcı olması gibi birçok faydalı özelliklerinden kaynaklanan olumlu etkiler belirtilmiştir (Broudiscou ve ark 2002, Denli ve ark 2005). Ayrıca buzağıların süt ile beslenmesinde karşılaşılan ishal problemlerinin, propolis kullanımı ile azaldığı belirtilmiştir (Gubicza ve Molnar 1987). Koçlarda ayak çürüğü problemlerinin azalmasında da etkili olduğu bir başka çalışma (Seven ve ark 2007) da belirtilmiştir.

Bitkisel ve hayvansal üretim son yıllarda artan bir hızla devam eden sektörlerdendir. Bu nedenle özellikle insan tüketimine sunulan hayvansal ürünlerin elde edilmesinde insan sağlığına zarar vermeyecek katkıların özellikle yem katkılarının kullanılması kaçınılmazdır Propoliste toksik özelliği olmayan bir ürün olduğundan, organik hayvancılık, hayvan sağlığı ve gerekse büyütme faktörleri arayışları bakımından, alternatif katkı maddeleri olarak kullanılabilecek bir ürün olarak düşünülmektedir (Seven ve ark 2007,2008).

1.7. Propolisin Toksik Özelliği

Propolis aşırı miktarlarda alınmadığı sürece toksik etki göstermemektedir. Bazı flavonlar, Ames testinde mutajen olmalarına karşın, propolis mutajen sonuç vermemiştir. Bazı kişilerin propolise karşı aşırı duyarlı olabilecekleri, dolayısıyla alerjik etkilerinin de olabileceği belirtilmektedir (Ötleş 1995). Benzer şekilde normalden daha yüksek alımlarda propolisin insan ve hayvanlar için tehlikeli olabileceği vurgulanmaktadır (Burdock 1998; Talas ve Gülhan 2009). Talas ve Gülhan (2009) balıklarda yaptıkları çalışmalarında yüksek oranda (0.02-0.03 g propolis/L) uyguladıkları propolisin eritropoiezisi inhibe ederek eritrosit, Hb ve HCT değerlerinde azalmaya neden olduğunu, ancak daha düşük oranlarda ise immunostimulant etkili olabileceğini belirtmişlerdir. Ancak propolisin belirtilen bu toksik etkilerini destekleyen fazla literatür veriye de rastlanmamıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1.Hayvan ve Yem Metaryali

Araştırmada, 3 aylık yaşta, canlı ağırlıkları birbirine yakın, toplam 128 adet erkek beyaz fare (Albino Swiss) kullanıldı. Araştırma Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesi'nde ısı ayarlı odalarda yürütüldü. Araştırmada hayvanların besin madde, vitamin ve mineral ihtiyaçlarını karşılayan ve ticari bir firmadan temin edilen standart fare yemi kullanıldı. Deneme SÜVFEK (Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurul) tarafından onay alınarak (No: 2009/020) gerçekleştirilmiştir.

2.1.2.Deneme Düzeni

Denemede her biri 32 adet fare içeren 4 grup oluşturuldu. Denemeye başlamadan önce bütün hayvanlar tartılarak canlı ağırlıkları tespit edildi ve canlı ağırlıkları birbirine yakın olacak şekilde gruplara dağıtıldı. Araştırma süresince hayvanlar yemi ve suyu ad libitum olarak tükettiler. Deneme gruplarına yem ile birlikte herhangi bir katkı uygulanmayıp, su ekstraktı propolis (Nature's Goodness-Avusturalya) katkıları Çizelge 2.1' de belirtilen oranlarda içme suyuna uygulandı.

Araştırmada, içme suyuna belirtilen oranlarda ve gruplara uygun olarak propolis ilavesi ile oluşturulan karışımlar haftalık olarak hazırlanarak ışık geçirmeyen kahverengi cam şişelerde stoklandı. Kafes suluklarına katılan bu karışımların hayvanlar tarafından ad libitum olarak tüketmeleri sağlandı. 10 günlük deneme periyodu süresince tüm gruplardaki farelerin propolis ilaveli içme sularını iştahla tükettikleri ve normal beslenme ve yaşam siklusların devam ettirdikleri gözlenerek 60 gün sürdürülen deneme periyoduna geçildi. Tüm deneme süresince yem ve sular ad libitum olarak sağlandı. Fareler orijinal polietilen fare-rat kafeslerinde bakım ve beslenmeye tabi tutuldular. Altlık ve suluk temizlikleri ise haftalık olarak gerçekleştirildi. Deneme süresince farelerin barındırıldığı ortam sıcaklığı ise 25 ^{o}C olarak ayarlandı.

Çizelge 2.1. Çalışmada oluşturulan grupların dağılımı

Grup	Propolis Oranları	Toplam hayvan
1. Grup (Kontrol)	--	32
2. Grup	10 mg/kg CA/gün	32
3. Grup	20 mg/kg CA/gün	32
4. Grup	30 mg/kg CA/gün	32

CA: Canlı ağırlık

2.2. Kan örneklerinin alınması ve analizler

Araştırma başlangıcı (1.gün) ile sonunda (60.gün) eter anestezisi ile uyutulan farelerden kardiyak punksiyonla alınan kanlar, total kolesterol, HDL-LDL kolesterol, fosfolipid, trigliserit, total protein, albumin, glikoz, AST ve ALT enzim düzeyleri ile lipid peroksidasyon düzeyinin tespiti amacı ile belirlenen MDA analizleri için heparinli polietilen tüplere aktarılarak 3000 devirde + 4 ^{o}C de 10 dakika santrifüj edildi ve plazmaları elde edildi; elde edilen bu plazmalar analize kadar -20°C'de saklandı. MDA ölçümleri için ayrılan plazmaların depolanmasında ise – 80 °C kullanıldı.

Çalışmada 1. ve 60. günlerde hayvanlardan intrakardiyak olarak kan alınmıştır. Kan alınan tüm hayvanlarda herhengi bir ötenazi yöntemine gerek kalmadan ölüm gerçekleşmiştir. İlk gün kan alımı sonrasında her bir grupta kalan ortalama 22 hayvan ile çalışmaya devam edilmiştir. Deneme sonunda ise her bir gruptaki tüm hayvanlara kan alımı uygulanmıştır.

Belirtilen biyokimyasal değerlerin belirlenmesinde oto analizör (Boeki-prestige 24 i Tokyo-Japan) kullanılarak spektrofotometrik yöntem ile çalışan ticari kitlerden (Biosystem) yararlanıldı. Kan plazması MDA değerleri de yine spektrofotometrik (UV-2100 Shimadzu, Japan) olarak Oxis Research (Bioxytech) test kitleri yardımı ile belirlendi.

Denemede kullanılan propolis örneklerinin içeriği gaz kromatografik (Greenaway ve ark 1991) yöntem ile Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümünde gerçekleştirildi. Bu analiz GC (5890-Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA) cihazında kütle detektörü (MS 572) kullanılarak HP-1 kolon (25m X 0.2mm ve 0.02 um incelik) da 1 ml/dk akış hızında helyum mobil faz kullanılarak gerçekleştirilmiş (Kolankaya ve ark 2002), bu analize ait veriler Çizelge 2.2 de sunulmuştur.

Çizelge 2.2. Denemede kullanılan propolisin kimyasal bileşimi

Bileşik	**Alıkonma Zamanı**	**Konsantrasyon %**
Alkoller		
Guaiol	15.68	0.28
2-Methoxy-4-vinylphenol	12.31	0.15
Z-8-methyl-9-tetradecen-1-ol acetate		
1,2-Propanediol (CAS)	7.18, 7.77	30.61, 6.82
4-vinylphenol	11.39	0.48
"isothymol"	12.52	0.01
13-tertadecen-1-ol acetate	18.81	0.21
D,.alpha.-Tocopherol	28.33	0.07
2-Naphthalenemethanol, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-.alpha.,.alpha.,4a,8-tetramethyl-, (2R-(2.alpha.,4a.alpha.,8a.beta.))-	16.28	0.97
Toplam		**39,60**
Eterler		
Benzene, 1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl-	14.07	0.86
Toplam		0,86
Flavanoidler		
4H-1-Benzopyran-4-one, 2,3-dihydro-5,7-dihydroxy-2-phenyl	21.86	5.40
4H-1-Benzopyran-4-one, 5-hydroxy-7-methoxy-2-phenyl	22.49	5.19
Chrysin	23.86	1.82
2-Propen-1-one, 1-(2,6-dihydroxy-4-methoxyphenyl)-3-phenyl-,	20.88	8.32
Toplam		**20,73**
Ketonlar		
1-amino-1-phenyl-1-hexen-3-one N,N	36.29	0.02
Toplam		**0,02**
Naftalin		
1H-cyclopropa[a]naphthalene, 1a,2,3,3a,4,5,6,7b-octahydro-1,1,3ª,7-tetramethyl-, [1aR-(1ª.alpha.,3ª.alpha.,7b.alpha.)]	16.03	0.31
Toplam		**0,31**
Diğer		
Isoquinoline	17.01	0.06
.alpha.-Guaine	13.27, 14.38	0.03, 0.46

2.3 İstatistik analizleri

Gruplar arasında farklılığı belirlemek için; her grup bağımsız ele alınarak tek yönlü varyans analizi (one-way variance) yapıldı. Grup içi 1. ve 60. gün verileri arası farklılık tespiti için ise bağımsız t-testi uygulandı. Gruplar arasındaki farklılığın önem düzeyi ise Duncan Multiple Range testine göre belirlendi (SPSS 13, 1998).

3. BULGULAR

Çalışmada elde edilen verilerin varyans analizi ve t- testi sonuçları ile gruplar arasında elde edilen istatistiksel sonuçlar Çizelge 3.1' de sunulmuştur.

Denemede her bir parametre için 1. ve 60. gün değerleri elde edilerek, 1. ve 60. gün verileri arasında t testi (P1); deneme grupları (Kontrol, 2. , 3. ve 4. gruplar) arasındaki değerlerin karşılaştırılması amacı ile de varyans analizi uygulanmıştır. Çizelge 3.1 incelendiğinde; özellikle 1. gün P2 değerlerinde bütün parametreler yönünden gruplar arasında farklılık saptanmamış olması, deneme başlangıcında gruplara rastgele dağıtılmış olan aynı yaştaki ve canlı ağırlık yönünden homojen olan farelerin metabolik yönden de bir örnek olabildikleri şeklinde değerlendirilmiştir.

Buna karşın deneme sonunda (60. gün) elde edilen P2 değerleri incelendiğinde ise Ca, AST ve LDH dışındaki diğer tüm kan değerlerinin değişen önem derecelerinde ($P<0.024$-0.000) farklılık göstererek propolis uygulamalarından etkilendikleri belirlenmiştir.

Antioksidan parametre olarak çalışmada MDA incelenmiş olup, 3. ve 4. gruplarda bu değerlerin önemli oranda düşüş gösterdiği belirlenmiştir.

Metabolik değerler grubundaki değişimler incelendiğinde; albumin verilerinin 2. grup dışındaki gruplarda 1. güne oranla 60. günde önemli artışlar içerisinde olduğu görülmüştür. Ancak en düşük ve en yüksek değerler normal sınırlar içerisinde değişim göstermiştir. Toplam protein verilerinin ise benzer şekilde ancak tüm gruplarda artış eğiliminde olduğu, özellikle de 30 mg/kgCA/gün propolis verilen 4. grupta bu artış eğiliminin, bu tür için bildirilen normal sınırların üzerinde olduğu dikkat çekmiştir. Kalsiyum (Ca) değerlerinde gruplar arasında belirgin bir değişim gözlenmez iken glikoz değerlerinde hem her bir grubun 1. gün ve 60. gün değerlerinde hem de 4. grupta belirgin ve anlamlı ($P<0.012$) olmak üzere tüm gruplarda düşüş gösterdiği gözlenmektedir.

Enzimatik değerler grubu incelendiğinde; AST değerlerinde her bir grupta 1. güne göre 60. günde anlamlı yükselmeler gözlenirken; 4. grupta bu yükselmenin daha belirgin ($P<0.000$) olduğu izlenmektedir. ALT değerlerinde ise sadece 4. grupta belirgin olan değişim, AST değerlerinin aksine, düşüş şeklinde gerçekleşmiştir. LDH aktiviteleri ise gruplarda spesifik olmayan değişimler göstermiş olup, bu değişimler gruplar arası anlamlı olmayan ($P>0.344$) bir seyir izlemiştir.

Lipid parametreleri yönünden yapılan incelemede ise trigliserit ve toplam kolesterol değerlerinin her ikisi de gruplar da azalma eğilimi göstermiş, ancak bu düşüş 4. grupta belirgin ve istatistiki olarak anlamlı ($P<0.001$) bulunmuştur. HDL ve LDL değerleri incelendiğinde ise; HDL değerlerinin 2. gruptan itibaren anlamlı şekilde yükseldiği; LDL değerlerinin ise sadece 4. grupta anlamlı ($P<0.000$) olarak düşüş gösterdiği, diğer gruplarda spesifik olmayan değişimler içerisinde olduğu belirlenmiştir. Fosfolipid değerlerinde ise 3. ($P<0.024$) ve 4. ($P<0.000$) gruplarda belirgin bir yükselme olduğu dikkati çekmektedir.

Çizelge 3.1. Çalışmada deneme grupların dan elde edilen farklı dönem kan değerleri ortalamaları ve istatistiksel sonuçları

Parametre/Grup	***1. grup (Kontrol)***		***P1****	***2.grup***		***P1***	***3.grup***		***P1***	***4.grup***		***P1***	***P2***	
				10 mg propolis/kgCA/gün			***20 mg propolis/kgCA/gün***			***30 mg propolis/kgCA/gün***				
	1.gün	***60.gün***		***1.gün***	***60.gün***		***1.gün***	***60.gün***		***1.gün***	***60.gün***		***1.gün***	***60.gün***
Antioksidan														
MDA (µM)	2,49±0,41	2,98±0,43 [a]	0.018	2,82±0,46	2,77±0,32 [a]	0.772	2,97±0,11	2,35±0,39 [b]	**0.000**	2,55±0,43	1,28±0,28 [c]	**0.000**	0.050	**0.000**
Metabolik değerler														
Albumin ***(g/dl)***	2,78±0,41	3,36±0,23 [a]	**0.000**	2,92±0,48	3,01±0,31 [c]	0.614	2,65±0,41	3,22±0,20 [a b]	**0.001**	2,70±0,40	3,14±0,20 [bc]	**0.001**	0.568	**0.003**
T.protein ***(g/dl)***	5,24±0,86	6,95±0,76 [c]	**0.000**	5,93±0,88	6,77±0,72 [c]	**0.022**	5,55±0,97	7,64±0,61 [b]	**0.000**	5,61±0,67	8,26±0,79 [a]	**0.000**	0.459	**0.000**
Ca ***(mg/dl)***	8,69±0,86	9,00±0,45	0.287	9,06±0,79	9,08±0,57	0.952	8,36±1,09	9,77±0,61	**0.002**	9,50±0,86	9,51±1,65	0.992	0.094	0.189
Glikoz ***(mg/dl)***	123,13±20,72	120,54±18,55 [a]	0.770	115,63±12,91	110,47±14,83 [a b]	0.417	126,00±27,44	107,18±14,76 [b]	0.070	122,75±15,51	101,88±9,75 [b]	**0.001**	0.755	**0.012**
Enzimatik değerler														
AST ***(IU/L)***	103,13±19,15	127,69±22,40	**0.019**	108,35±18,43	125,58±17,46	**0.038**	96,78±13,53	123,12±24,98	**0.015**	90,25±8,10	125,28±22,56	**0.000**	0.128	0.966
ALT ***(IU/L)***	77,88±8,13	67,92±10,66 [a]	0.036	74,63±10,36	68,40±9,41 [a]	0.159	70,25±8,05	62,09±11,56 [ab]	0.105	73,75±10,69	58,25±9,46 [b]	**0.001**	0,458	**0.024**
LDH ***(IU/L)***	1462±160,41	1604±321,47	0.260	1397±181,11	1735±332,97	**0.015**	1523±166,99	1777±216,30	**0.013**	1508±113,91	1610±290,06	0.353	0.390	0.344
Lipid parametreleri														
Trigliserit ***(mg/dl)***	174,00±13,39	179,08±48,02 [a]	0.775	183,13±28,06	155,87±36,11 [ab]	0.078	173,75±23,29	151,36±29,90 [bc]	0.096	170,25±13,40	126,25±14,78 [c]	**0.000**	0.617	**0.001**
Toplam Kol. ***(mg/dl)***	109,38±11,59	107,08±8,37 [ab]	0.603	105,25±13,80	111,22±11,10 [a]	0.271	104,63±15,28	101,28±5,61 [b]	0.510	103,88±12,72	88,82±12,43 [c]	**0.011**	0.847	**0.000**
HDL ***(mg/dl)***	29,84±6,40	35,11±5,93 [c]	0.070	28,40±6,61	40,78±9,99 [b]	**0.005**	33,02±4,84	49,26±6,59 [a]	**0.000**	26,92±7,23	52,14±5,34 [a]	**0.000**	0.276	**0.000**
LDL ***(mg/dl)***	39,63±5,88	46,46±4,89 [a]	**0.010**	37,95±8,23	40,47±7,35 [b]	0.461	31,86±3,76	31,45±8,74 [c]	0.903	36,33±10,09	26,75±6,17 [c]	**0.008**	0.205	**0.000**
Fosfolipid ***(mg/dl)***	186,75±25,50	188,38±18,07 [b]	0.865	198,87±19,69	164,93±25,95 [c]	**0.004**	196,13±25,37	226,00±26,29 [a]	**0.024**	191,25±20,84	240,56±24,39 [a]	**0.000**	0.730	**0.000**

*P1 değerleri her bir grubun 1.gün ve 60 gün değerleri arasındaki t testi farklılıklarını; P2 değerleri ise 4 grup arasındaki varyans analizi sonuçlarını belirtmektedir.

Aynı satırda verilen ve harflendirilen değerler P2 değerlerinin Duncan testi sonucu olup, birbirinden farklıdır.

CA; Canlı ağırlık

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada, içme sularına farklı oranlarda (0, 10, 20, 30 mg/kgCA/gün) propolis katılan erkek farelerde lipid peroksidasyonu (MDA) değişiklikleri ile bazı metabolik, enzimatik ve lipid değerlerinde ortaya çıkan değişimler incelenmiştir.

Son yıllarda alternatif tedavi seçeneklerinin tıbbi tedaviye ilave olarak özellikle beşeri hekimlik alanında, giderek artan bir ilgi ile denendiği görülmektedir. Doğal ve bitkisel ürünler bu alanda farklı amaçlarla kullanılmakta ise de içerik yönünden çok farklı bileşenlere sahip olan bu ürünlerin kullanımında ve içerik analizlerinin denetiminde dikkatli olunması gerekliliği de unutulmamalıdır.

Propolis, belirtilen bu doğal ürünlerin başında gelen ve biyolojik yönden aktif olan birçok bileşiği içeriğinde barındıran bir 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. Pek çok alanda, özellikle içeriğinde bulunan ve antioksidan etkili olan flavonoidler sayesinde tedavi edici etkiye sahip propolisin, kompleks kompozisyonu nedeni ile canlı organizmalarda uzun süreli ya da yüksek miktarlarda kullanımları sonucu metabolik ve dokusal hasarlar da oluşabileceği bildirilmektedir (Sforcin ve ark 2000).

Sunulan çalışmada, kullanılan propolis örneği ticari bir ürün olup (Nature's Goodness Australia) içerik analizi gaz kromatografik (GC-MS) olarak yapılmış (Çizelge 2.2); içerik olarak büyük oranda alkol (%39.60) ve flavonoid (%20.73) lerden oluştuğu görülmüştür. Alkoller grubunda *proponediol,* flavonoidler grubunda da *di-OH flavonoik türevler* biyolojik olarak kıymetli olan bileşiklerdir. Propolis ürünlerinin genel olarak belirtilen bu kompozisyonları ise örneklerin toplandığı bitki türüne ve coğrafi bölgeye göre büyük oranda değişiklik gösterebilmektedir. Propolis örnekleri ile yürütülen çalışmalarda (Isla ve ark 2001, Choi ve ark 2006, Mohammadzadeh ve ark 2007) da özellikle antioksidan etkinliğin propolis içeriğinde bulunan flavonoid miktarı ile doğru orantılı olduğu belirtilmektedir. Biyolojik sistemlerde flavonoidlerden beklenen antioksidan etkiler; serbest radikallere elektron

transferi, şelat yapma yetenekleri, metal iyonu katalize edebilmeleri (Ferrali ve ark 1997), antioksidan enzim aktivasyonu (Elliott ve ark 1992), alfa tokoferol radikali indirgeme özellikleri ve oksidazları inhibe etmeleri (Hirano ve ark 2001) esasına dayanmaktadır. Ancak, sözü edilen bu biyokimyasal mekanizmalar özellikle flavonoid türlerinin sahip oldukları yapısal modifikasyonlara bağlı olarak değişir. Bu modifikasyonlar; hidroksil grubu eklenmesi, metilasyon ya da glikronidasyon gibi metabolizma süresince devam ederek emilim ve fonksiyonel aktiviteyi etkileyen aşamalardır (Heim ve ark 2002).

Sunulan çalışmada, flavonoid içeriğini oluşturan bileşiklerin (% 20.73) büyük bir kısmının biyolojik etkili dihidroksi flavonoidler olduğu görülmektedir. 2-Propen-1-one; 1- (2,6-dihydroxy-4-methoxyphenyl) - 3-phenyl- *(% 8.32);* 4H -1-Benzopyran - 4-one; 2,3 - dihydro-5,7 - dihydroxy - 2-phenyl (*Hesperidin - % 5.40*); özellikle diyabetiklerde etkili olan *aldoz redüktaz* enziminin inhibitörü 4H-1-Benzopyran-4 one; 5-hydroxy-7-methoxy-2-phenyl *(% 5.19)* ve *Chrisin-5,7-di OH flavon (% 1.82)* (Çizelge 2.2) değerli flavonoid bileşikleri arasında yer almaktadırlar. Antioksidan kapasite açısından değerlendirildiğinde özellikle flavonoidlerde B halkası (Şekil 1.2) nda mevcut 3-OH taşıyan türler (Quercetin) en kıymetli olanları olarak değerlendirilebilmektedir (Burda ve ark 2001)**.** Sunulan tez çalışmasında flavonoid kapsamında sözü edilen değerli ve 3-OH grubu taşıyan Qercetin bileşiğine rastlanmamıştır. Bu durum propolis örneklerinin coğrafi bölgelere göre içerik yönünden farklılıklar gösterdiği ve fizyolojik etkinliğinin de buna bağlı olarak farklı olabileceği görüşünü desteklemektedir.

İncelenen propolis örneğinde elde edilen (% 5.19) diğer bir flavonoid bileşiği de 4H-1-Benzopyran-4-one, 5-hydroxy-7-methoxy-2-phenyl dir (Çizelge 2.2). Benzopyran-4-one ve diğer türev bileşikleri *aldoz redüktaz inhibitörü* olarak aktivite gösteren bileşiklerdir. Aldoz redüktaz ise glikozun sorbitole dönüşümünü sağlayan bir enzimdir. Polyol yolu (sorbitol yolu) olarak bilinen bu enzimatik yol, normal kan glikoz konsantrasyonlarında hemen hemen hiç işlemeyen, ancak hiperglisemi durumlarında artan glikozun sorbitole dönüşümünü sağlayan enzimatik bir yoldur. Bu yolda aldoz redüktaz enzimi hekzokinaz ile kompetetif olarak yarışır. Ancak, hücre içinde artan sorbitol, hücre dışına kolay bir şekilde sızamayarak intraselüler konsantrasyonu artar, hücre içi elektrolit imbalansı ile Na-K, ATP az bozuklukları

şekillenir. Hücre membranı kalınlaşmasını ise hücre ölümü takip eder (Costantino ve ark 2001). Diyabetiklerde başta gözde olmak üzere hassas doku ve organlarda ortaya çıkan bozuklukların temelinde bu mekanizma yatmaktadır. Buna bağlı olarak aldoz redüktaz inhibitörleri ve diğer benzer birtakım inhibitörler tedavide bir seçenek oluşturmuş olmakla birlikte bu inhibitörler üzerindeki denemeler halen devam etmektedir (Akduman ve Öz 2002).

Diğer taraftan propolisin su ve etanol ekstraktlarının flavonoid miktarları yönünden farklılık göstereceği de bir gerçektir. Çalışmada kullanılan propolis örneklerinin su ekstraktları ile elde edilen propolis örnekleri olması bu olasılığı ortaya koymaktadır.

Çalışmada lipid peroksidasyon ölçütü olarak MDA değerleri incelenmiş olup (Çizelge 3.1), düşük doz propolis uygulanan 2.grupta grup ortalamalarının kontrol grubuna yakın olduğu gözlenirken, 3. ve 4. gruplarda ortalamaların hem 0. güne oranla, hem de diğer gruplara göre önemli ($P<0.001$) düşüş gösterdiği belirlenmiştir. Bu düşüşün propolis flavonoidlerinin etkisi ile olduğu düşünülmektedir. Isla ve ark (2001) ile Mohammadzadeh ve ark (2007), farklı bölgelerden toplayarak ekstrakte ettikleri propolis örneklerinin flavonoid içerikleri (mg/g propolis) ile MDA oluşum inhibisyon değerlerini (%) karşılaştırdıkları çalışmalarında flavonoid değeri ile MDA inhibisyonunun her örnekte doğrusal olmadığını, diğer bir ifade ile flavonoid konsantrasyonu düşük olan örneklerin MDA inhibisyonunda daha etkin olduğunu gözlemleyerek, flavonoidlerden beklenen antioksidan etkide total flavonoid miktarından öte flavonoidin yapısal türünün önemli olabileceğini vurgulamışlardır. Hoşnuter ve ark (2004) da benzer şekilde ratlarda, propolisin önemli bir bileşiği olan CAPE uygulaması ile MDA değerlerinde kontrol grubuna oranla önemli düşüş tespit etmişlerdir. Propolis ve lipid peroksidasyonunu inhibe etme etkinliği yönünde yapılan diğer araştırmalarda (Nagai ve ark 2003, Fuliang ve ark 2005, Okutan ve ark 2005, Jasprica ve ark 2007) da gerek MDA oluşum inhibisyonu gerekse OH* oluşumunu ve membran lipoproteinlerinin oksidasyonunun önlenmesi mekanizmalarında propolis flavonoidlerinin değişen oranlarda etkili olduğu belirtilmiştir.

Propolis, içerdiği flavonoidler etkisiyle antioksidan etkili bir bileşik olmasının yanında kompleks yapısı sayesinde diğer metabolik verilerde de etkili olabilmektedir. Sunulan çalışmada Ca değerlerinde gruplararası ve grupiçi farklı dönemlere ait ortalamalarda herhangi bir değişim gözlenmez iken; diğer metabolik parametrelerden glikoz değerleri incelendiğinde gruplararası ortalamaların 60. gün sonunda önemli düşüş (P=0.012) gösterdiği izlenmektedir. Denemede 2. ve 3.gruplarda başlangıç (1. gün) ile deneme sonu (60.gün) değerleri arasında istatistiksel bir önem görülmemekle (P1) birlikte ortalamaların düşüş eğiliminde oldukları dikkati çekmekte olup, 4. grupta bu düşüşün önemli (P<0.001) değere ulaştığı görülmektedir. Yapılan farklı araştırmalarda (Fuliang ve ark 2005, Eraslan ve ark 2007, Newairy ve ark 2009) propolisin glikoz metabolizmasını düzenleyici ve kan glikoz düzeylerini kontrol edici etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Newairy ve ark (2009) erkek ratlarda aluminyum klorit ($AlCl_3$) toksikasyonu ve propolisin koruyucu etkisini araştırdıkları çalışmalarında glikoz düzeylerinin $AlCl_3$ verilen grupta kontrole oranla yükselen kan glikoz düzeylerinin $AlCl_3$ + propolis uygulanan hayvanlarda kontrol grubu düzeylerine geldiğini tespit etmişlerdir. Fuliang ve ark (2004) ise alloxan diyabeti oluşturulmuş ratlarda propolisin glikoz metabolizmasını düzenlediğini; bunun kanıtı olarak ta düşen kan glikoz konsantrasyonları yanısıra propolis grubunda diyabetli gruba oranla düşük bulunan fruktozamin konsantrasyonları olduğunu belirtmişlerdir. Serum fruktozamin, glikoz ve serum proteinleri arasında non-enzimatik irreversibl bir reaksiyon sonucu oluşan ve kronik hipergliseminin tanısında kullanılan bir parametredir. Birçok canlıda albuminin ortalama yarılanma ömrü 10-15 gündür ve fruktozamin 1-3 hafta süreyle serum glikoz durumu hakkında sağlıklı bilgi verebilir (Kurt 2003).

Bulgular çizelgesi (Çizelge 3.1) incelendiğinde görülmektedir ki, denemede kullanılan propolis örneğinin yapılan analizinde alkol grubundan *1,2 Propanediol (Propilen glikol-PG)* bileşiği yüksek oranda (%30.61) analiz edilmiştir. Propilen glikol, süt ineklerinde özellikle ketozis tedavisinde glikoz kaynağı olarak kullanılan, karaciğerde piruvata ve de oxaloasetat yolu ile glikoza dönüşen glikojenik ($C_3H_8O_2$) bir maddedir (Rizos ve ark 2008). Propilen glikol tedavisine yanıt olarak süt ineklerinde kan insulin ve glikoz konsantrasyonları artarken, non esterifiye yağ asiti konsantrasyonları azalmakta, insuline yanıt ise artış göstermektedir (Studer ve ark 1993, Formigoni ve ark 1996). Özellikle de insülin sekresyonunda oluşan yanıt

diyetsel karbonhidrat alımı sonucunda oluşan yanıta göre daha etkili olmaktadır (Studer ve ark 1993). Sunulan bu çalışmada kan glikoz konsantrasyonlarında normal sınırlar içerisinde gerçekleşen düşüşün ise bu etkinlikle ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Emery ve ark (1992), propanediol bileşiğinin ratlarda glikojenik etkili olduğunu ileri sürerek laktik asit prekursörü olarak etkidiğini belirterek bu etkideki mekanizmanın *enolaz inhibisyonunu* takiben devam eden glikogenesisin propanediolün direkt olarak glikojenik trioz fosfatlara dönüşmesi olduğunu ifade etmişlerdir. Diğer bir deyişle piruvatın ozalasetata karboksilasyonu yolu ile karaciğerde direk olarak glikoza dönüşüm gerçekleşmektedir. Ruminal dönüşüm ise süt ineklerinde 1,2 propanediolün propiyonik asite dönüşümü şeklinde olmakta; bu etki sayesinde 1,2 propanediol süt ineklerinde ketozis tedavisinde kullanılan çok etkili bir bileşik olarak pratikte yer almaktadır (Utter ve ark 1964)

Bu açıklamalara ilave olarak, propolis ve diyabet ilişkisinin incelendiği çalışmalarda (Okutan ve ark 2005, Türkyılmaz ve ark 2008), şeker hastalığında hücre membranlarının oksidatif hasara karşı artan duyarlılıklarının değişik oranlardaki propolis ile beslenme sonucunda azaldığı, oksidatif parametrelerde azalma ile birlikte antioksidan enzim (SOD, CAT, GPx gibi) aktivitelerinin ise arttığı belirtilmiştir. Sunulan çalışmada ise belirtilen bu enzim çalışmaları gerçekleştirilmemiştir.

Toplam protein ve albumin değerleri hem grup içi hemde gruplararası ortalamalar esas alındığında tüm deneme gruplarında artış göstermiştir. Eraslan ve ark (2007), içme suyu ile ratlarda 21 gün süreli olarak 200mg/kg propolis/canlı ağ oranında verdikleri grupta toplam protein değerlerinde kontrol grubuna oranla önemsiz yükselme tespit ederken, sodyum florid toksikasyonu ile karaciğer tahribatı oluşturulan gruba propolis ilavesi ile toplam proteinde önemli artış elde etmişlerdir. Benzer etki Newairy ve ark (2009) tarafından bildirilmiş olup, çalışmada ($AlCl_3$) toksikasyonu oluşturulan grupta önemli oranda düşen toplam protein ve albumin değerlerinin propolis katkısı ile sadece propolis verilen grup değerlerine ulaştığı gözlenmiştir. Ancak, Kolankaya ve ark (2002) tarafından alkol ilaveli ratlarda propolis etkilerinin araştırıldığı denemede benzer bulgulara rastlanılmayıp, alkol ilaveli grupta toplam protein ve albumin değerlerinin alkol verilmeyen ve alkol +

propolis uygulanan gruplara oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Aynı çalışmada daha ileride tartışılacağı üzere alkol uygulaması yapılan gruplarda karaciğer enzim aktivitelerinin de normal seyirde olması, uygulanan alkol miktarı ve süresinin tahribat oluşturacak ölçülerde olmadığını düşündürebilmektedir.

Enzimatik değerler incelendiğinde (Çizelge 3.1), LDH enziminde grup içi ve gruplararası değerlerde önemli bir farklılık gözlenmemiştir. Mani ve ark (2006) kısa ve uzun dönem propolis uyguladıkları ratlarda LDH enzim değerlerinde farklılık tespit etmez iken, Newairy ve ark (2009) $AlCl_3$ toksikasyonu oluşturulan rat grubunda LDH aktivitesinde önemli artış, propolis verilen gruplarda yine önemli düzeyde düşüş olduğunu belirtmişlerdir. Kolankaya ve ark (2002) ise alkol ilavesi yaptıkları ratlarda propolis grubuna göre LDH aktivitesinin düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Türkyılmaz ve ark (2008) akut nekrotize pankreatitis oluşturdukları ratlarda LDH düzeyini oldukça önemli düzeyde ($P<0.001$) yükselmiş bulurken, propolis (CAPE) ve pankreatitis+CAPE grubu hayvanlarda ise önemli oranda düştüğünü saptamışlardır.

Çalışmada incelenen diğer enzimler olan AST ve ALT aktivitelerindeki değişimler değerlendirildiğinde ise AST enziminin gruplararası ortalamalarda önemli bir değişim göstermezken, grupiçi değerlerin özellikle 4. grupta belirgin olmak üzere tüm deneme gruplarında 60. günde 1. güne oranla önemli bir yükseliş gösterdiği izlenmektedir. ALT aktivitesinde ise durum AST aktivitesinin tersine bir seyir izleyerek grup içi dönemler arasında (1-60.gün) 4. grupta önem arz etmek üzere tüm deneme gruplarında düşüş seyri izlemiştir. Benzer durum Eraslan ve ark (2007) nın sodyum florid uygulayarak uzun ve kısa süreli propolis takviyesinin düzenleyici etkisini incelediği çalışmasında da gözlenmiş olup, propolis uygulanan gruplarda sodyum florid verilen gruba oranla ALT enziminin daha yüksek, AST enziminin ise daha düşük olduğu dikkati çekmektedir. Kolankaya ve ark (2002) nın alkol indüksiyonlu hapatotoksisite araştırmalarında alkol verilen grubun AST aktivitesi ALT den çok daha belirgin bir yükselme göstermiş, alkol+propolis grubunda ise bu yükselmenin normal seyrine ulaştığı gözlenmiştir. ALT enziminde ise belirtilen gruplarda bu şekilde spesifik bir ilişki tespit edilememiştir. Mani ve ark (2006) da benzer şekilde, 1, 3 ve 6 mg/kg/gün miktarında propolis uyguladıkları ratlarda AST düzeylerinde herhangi bir değişiklik saptamamışlardır.

Lipid parametreleri yönünden değerler incelendiğinde de trigliserit ve toplam kolesterol düzeylerinin özellikle 30 mg propolis/kg CA grubunda önemli ($P<0.001$) oranda düştüğü, diğer deneme gruplarında istatistiksel önem taşımayan rakamsal düşüşler ortaya çıktığı görülmektedir. HDL kolesterol değerlerinin ise tüm propolis gruplarında istatistiki artış gösterdiği tespit edilmiştir. Özellikle 3. ve 4. propolis gruplarında bu artış çok daha belirgin olarak gerçekleşmiştir. LDL kolesterol değerleri ise sadece 4. grupta belirgin ve anlamlı bir düşüş göstermiştir. Bulunan sonuçlar bu konuda yapılan diğer birçok çalışma (Kolankaya ve ark 2002, Fuliang ve ark 2005, Newairy ve ark 2009, Alves ve ark 2008) ile uyumludur. Söz konusu çalışmalarda propolisin kolesterol düzeyini birtakım mekanizmalar eşliğinde düşürdüğü vurgulanmaktadır. Bu mekanizmalar;

1. Gastrointestinal kanaldan kolesterol emiliminin azaltılması,
2. LDL-c reseptör aracılığı ile kandan LDL kolesterolün elimine edilmesi ,
3. Kolesterol-7-hidroksilaz gibi kolesterol yıkımlayıcı enzimlerin aktivitelerinin yükselmesi (Newairy ve ark 2009).

Bu şekilde absorbsiyon, yıkımlanma ve eliminasyon mekanizmaları ile kolesterol ve LDL-c düzeyi kontrol edilebilmektedir. Bunun yanısıra propolis içeriğinde bulunan etken maddeler (özellikle esterler ve flavonoidler) etkisi ile kolesterolün ekstrahepatik dokulardan alınıp, katabolize edildiği karaciğere taşınmasının aktive edildiği de araştırıcılar (Kolonkaya ve ark 2002, Fuliang ve ark 2005) tarafından belirtilmektedir. Alves ve ark (2008) ise propolisin hipokolesterolemik etkisinin karaciğer üzerindeki direkt, tiroid hormonları üzerindeki ise indirekt etkisi ile gerçekleştiğini desteklemektedirler. Zira, tiroid hormonları üzerindeki bu etki ile lipid metabolizmasında önemli değişiklikler gerçekleşebilmektedir (Newairy ve ark 2009). Kanda yüksek HDL, düşük LDL düzeyleri ile koroner kalp hastalıkları ve aterosklerozis arasında güçlü bir ilişkinin varlığı yıllardan beri bilinen bir gerçektir. Özellikle HDL kolesterol, bireysel bir koruma sağlamasının yanısıra LDL moleküllerini oksidasyona karşı koruyarak ya da arteriyel duvarlarda okside olmuş LDL nin aterojenik etkisini nötralize ederek etkinlik gösteren bir yapıdadır (Francis ve Perry 1999).

Fosfolipid değerlerindeki değişimler ise, propolis yoğunluğu ile orantılı olarak gelişmiş, kontrol grubu ile diğer gruplar arasında önemli artışlar göstermiştir (Çizelge 3.1). Fosfolipid değerlerindeki bu artışlar ile, benzer grupların trigliserit değerlerindeki düşüşün paralellik göstermesi lipid metabolizması yönünden anlamlıdır. Bu konuda değerlerin karşılaştırılacağı benzer bir çalışma örneği bulunmamakla birlikte, elde edilen verilerden lipoliz sonucu oluşan yağ asitlerinin propolis uygulanan gruplarda trigliserit sentezi yerine yapısal bir komponent olan fosfolipid sentezinde kullanıldığı anlaşılabilmektedir. Ancak, lipid metabolizmasındaki bu mekanizmanın daha çok genç organizmalarda geçerlilik göstermesi nedeni ile, daha ileri yaş periyodundaki hayvan materyalleri ile yapılacak çalışmalarla net ve iddialı sonuçlar elde edilebileceği kanısına varılmıştır.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak; erkek farelerde içme suyu ile kg canlı ağırlık başına günlük 10, 20 ve 30 mg miktarında uygulanan propolisin lipid peroksidasyon göstergesi olan MDA değerlerini 20 ve 30 mg propolis gruplarında önemli olmak üzere düşürdüğü, metabolik, enzimatik ve lipid değerlerinde de genel olarak canlı organizma lehine olabilecek değişimler sağladığı belirlenmiştir. Denemede propolisin herhangi bir toksik ya da alerjik etkisi ortaya çıkmamıştır.

Farelerde yürütülen bu çalışma ile, elde edilen veriler değişik türden canlı organizmaların beslenmesinde ve bu konuda yapılacak farklı çalışmaların değerlendirilmesinde yararlı olabilecektir.

Ayrıca farklı yaş grubundaki denekler, propolisin daha yüksek miktarları ve de farklı ekstraksiyon metotları (su, etanol vb.) kullanılarak elde edilen propolis örneklerinin denenmesi ile yapılacak çalışmalardan alınabilecek farklı sonuçların pratikte yararlı olabileceği kanaatine varılmıştır.

6. ÖZET

T.C.
S.Ü. SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Farklı Düzeylerde Propolis Uygulamalarının Farelerde Lipid Peroksidasyonu (MDA) ile Bazı Biyokimyasal Parametrelere Etkilerinin Değerlendirilmesi

Ahu Fatma BOZKURT

Biyokimya (VET) Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ /KONYA 2010

Bu çalışmada içme sularına farklı oranlarda (0, 10, 20, 30 mg/kgCA/gün) propolis katılan erkek farelerde lipid peroksidasyonu (MDA) değişiklikleri ile bazı metabolik, enzimatik ve lipid değerlerinde ortaya çıkan değişimler incelenmiştir.

Araştırmada 3 aylık yaşta, canlı ağırlıkları birbirine yakın, toplam 128 adet beyaz erkek fare kullanıldı. Bu hayvanlar herbirinde 32 adet fare içeren 4 gruba ayrıldı. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesi'nde yürütülen araştırma 60 gün sürdürüldü. Çalışmada kontrol ile 10 mg Propolis / kg canlı ağ/gün; 20 mg Propolis / kg canlı ağ/gün ve 30 mg Propolis / kg canlı ağ/gün; olmak üzere toplam 4 deneme grubu oluşturuldu. Deneme başında ve sonunda olmak üzere iki periyot halinde (1. gün ve 60. gün) alınan kan örneklerinde, spektrofotometrik olarak MDA ile bazı metabolik (Toplam protein, albumin, Ca, glikoz) enzimatik (AST, ALT, LDH) ve lipid (total kolesterol, HDL-LDL kolesterol, trigliserit, fosfolipid) değerlerinin ölçümleri gerçekleştirildi.

Malondialdehit (MDA), 3. ve 4. gruplarda önemli oranda düşüş göstermiştir. Albumin verilerinin 2. grup dışındaki gruplarda 1. güne oranla 60 günde önemli artışlar içerisinde olduğu görülmüştür. Kalsiyum (Ca) değerlerinde gruplar arasında belirgin bir değişim gözlenmez iken glikoz değerlerinde hem her bir grubun 1. gün ve 60. gün değerlerinde hem de 4. grupta belirgin ve anlamlı ($P<0.012$) olmak üzere tüm gruplarda düşüş gösterdiği gözlenmektedir.

AST değerlerinin her bir grupta 1. güne göre 60 günde anlamlı yükselmeler gösterirken; 4. grupta bu yükselmenin daha belirgin ($P<0.000$) olduğu saptanmıştır. ALT değerlerinde ise sadece 4. grupta belirgin olan değişim, AST değerlerinin aksine, düşüş şeklinde gerçekleşmiştir.

Lipid parametreleri yönünden yapılan incelemede ise trigliserit ve toplam kolesterol değerlerinin her ikisi de gruplar da azalma eğilimi göstermiş, ancak bu düşüş 4. grupta belirgin ve istatistiki olarak anlamlı ($P<0.001$) bulunmuştur. HDL değerlerinin 2. gruptan itibaren anlamlı şekilde yükseldiği; LDL değerlerinin ise sadece 4. grupta anlamlı ($P<0.000$) olarak düşüş gösterdiği, diğer gruplarda spesifik olmayan değişimler içerisinde olduğu belirlenmiştir. Fosfolipid değerlerinde ise 3. ($P<0.024$) ve 4. ($P<0.000$) gruplarda belirgin bir yükselme ortaya çıkmıştır.

Sonuç olarak; farelerde içme suyu ile uygulanan propolisin lipid peroksidasyon göstergesi olan MDA değerlerini 20 ve 30 mg propolis gruplarında önemli olmak üzere düşürdüğü, metabolik, enzimatik ve lipid değerlerinde de genel olarak canlı organizma lehine olabilecek değişimler sağladığı belirlenmiştir. Farelerde yürütülen bu çalışma ile elde edilen verilerin değişik türden canlı organizmaların beslenmesinde ve bu konuda yapılacak farklı çalışmaların değerlendirilmesinde yararlı olacağı kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Fare; propolis; MDA; biyokimyasal değerler.

7. SUMMARY

Evaluation of the Effects of Propolis Administrations with Several Levels on Lipid Peroxidation (MDA) and Some Biochemical Parameters of Mice

In this study, the effects of propolis supplementation with several levels (0, 10, 20, 30 mg/kg live weight /day) into drinking water of male mice on plasma lipid peroxidation (MDA), and some metabolic, enzymatic and lipid parameters were investigated.

In this trial, a total of 128 Swiss Albino male mice which have 3 months age, in equal of body weight were used. Animals were housed in S.Ü. Veterinary Faculty Experimental Animals Unit. Experimental period was lasted at 60. day. There were four experimental groups in this study as following; 1. Control (no supplementation) 2. 10 mg propolis/kg live weight/day, 3. 20 mg propolis/kg live weight/day and 4. 30 mg propolis/kg live weight/day. At the beginning (1.day) and end of the experiment (60. day), blood samples were taken by cardiac puncture; plasma MDA and some metabolic (total protein, albumin, Ca, glucose) enzymatic (AST, ALT, LDH), lipid (total cholesterol, HDL-LDL cholesterol, trygliceride, phospholipid) levels of mice were determined.

Plasma MDA levels were spectrophotometrically determined and it was found that these levels statistically decreased in 3. and 4. experimental groups. It was seen that albumin levels represented with increase trend in all groups except for 2. during the 60 day. Also, total protein levels increased in the all groups; especially in 4. group that received 30 mg propolis /kg live weight/day total protein levels were determined as higher than the levels reported for this species. While there were no any statistically differences in calcium (Ca) levels, glucose statistically decreased between not only 1. and 60. day levels of each group but also same significant ($P<0.012$) differences in 4. group was determined.

For enzymatic parameters, it was shown that AST levels increase in 60. day levels of each groups but these increases had more significance (($P<0.000$) in 4. group. But, ALT levels decreased especially in 4. group.

In the lipid parameters, it was found that triglyceride and total cholesterol levels showed gradually decreases in the groups but especially in group 4 ($P<0.001$). HDL values significantly increased except for control group, but LDL values significantly ($P<0.000$) decreased in group 4 only. Phospholipid levels significantly increased in group 3 ($P<0.024$) and 4 ($P<0.000$).

As a result, the findings of the present study on mice suggest that blood antioxidant data (MDA) decreased in 20 and 30 mg propolis / kg live weight groups; metabolic, enzymatic and lipid parameters positively changed for live organisms. The findings of the present study may be useful for feeding types of more animal species and estimation for several study that will be made in this subject on the future.

Key Words: Mice; propolis; MDA; biochemical parameters.

8. KAYNAKLAR

1. Akduman L, Öz Ö. Diabetik makula ödeminde medikal tedavi. Ret-Vit. 2002; 10: 203-208.
2. Aksoy Z, Dığrak M. Bingöl yöresinda toplanan bal ve propolisin antimikrobiyal etkisi üzerinde ın vitro araştırmalar. Science and Eng. J. of Fırat Univ. 2006; 18: 471-478.
3. Alves MJQF, Mesquita FF, Sakaguti M, Tardivo AC. Hypocholesterolemic effect of propolis caffeic acids. Revist Brasil de Plant Med. 2008; 10: 100-105.
4. Bankova V. Chemical diversty of propolis and the problem of standardization. J of Ethnopharm. 2005; 100: 114-117.
5. Bankova V, Dyulgerov A, Popov S, Evstateieva L, Kuleva L, Pureb O, Zamjansan Z. Propolis produced in bulgaria and mongolia: Phenolic compounds and plant origin. Apidologie. 1992; 23: 79-85.
6. Basnet P, Matsushige K, Hase K, Kadota S, Nanba T. Four di-o-caffeoyl quinic acid derivatives from propolis. Potent hepatoprotective activity in experimental liver injurymodels. Biol. & Pharmceutical Bull. 1996; 19: 1479-1484.
7. Baumann J, Von-Bruchhausen F, Wurn GA. A structure activity study on the influence of phenolic compounds and bioflavanoids on renal prostaglandin synthetase. Naunyn Schmiedebergs. Archive des Pharmazie. 1980a; 307: 73-78.
8. Baumann J, Von-Bruchhausen F, Wurn GA. Flavonoids and related compounds as inhibitors of archidonic acid peroxidation. Prostaglandins. 1980b; 20: 627-639.
9. Benkovıc V, Knezevıc HA, Brozovic G, Knezevıc F, Dikici D, Bevanda M, Basıc I, Orsolıc N. Enhanced antitumor activity of irinotecan combined with propolis and its polyphenolic compounds on ehrlich ascites tumor in mice. Biomed&Pharmacotheraphy. 2007; 61:292-297.
10. Bianchi EM. The preparation of the tincture, the soft extract, the ointment, the soap and other propolis. Apiacta. 1995; 3-4: 56-62.
11. Borrelli F, İzzo AA, Di Carlo G. Effect of a propolis extract and caffeic acid phenethyl ester on formation of aberrant crypt foci and tumors in rat colon. Fitoterapia 2002; 73: 38.
12. Brodiscua LP, Papon Y, Brodiscua AF. Effects of dry plant extracts of feed degradation and the production of rumen microbial biomass in a dual outflow fermenter. Anim Feed Sci and Tech. 2002; 101: 183-189.
13. Buratti S, Benedetti S, Cosio MS. Evaluation of the antioxidant power of honey, propolis and royal jelly by amperometric flow injection analysis. Talanta 2007; 71: 1387-1392
14. Burda S, Oleszek W. Antioxidant and antiradical activites of flavonoids. J Agric Food Chem. 2001; 2774-2779.
15. Burdock GA. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. Food and Chem Toxicol. 1998; 36; 347-363.
16. Cao G, Sofic E, Prior RL. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. Free Radic Biol Med. 1997; 22: 749-760.

17. Cebovic T, Popovic M, Kaurinovic B. Effect of propolis and olive oil on lipid peroxidation and production of radicals in liposomes. Available from http://www.Prague 2003. Fsu.Edu, Strana.
18. Choi YM, Noh DO, Choi SY, Suh HJ, Kim KM, Kim JM. Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. Lwt . 2006; 39: 756-761.
19. Cook NC, Samman S. Flavonoids: chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources. J Nutr Biochem. 1996; 7: 66-76.
20. Costantino L, Corso AD, Rastelli G, Petrash JM, Mura U. 7- Hydroxy-2-substituted-4-H-1-benzopyran-4-one derivatives as aldoz reductase inhibitors: a sar study. J. Med. Chem. 2001; 36: 697-703.
21. Denli M, Cankaya S, Silici S, Okan F, Uluocak AN. Effect of dietary addition of turkish propolis on the growth performance, carcass characteristics and serum variables of quail. Asian- Aust. J. Anim. Sci. 2005; 18: 848-854.
22. Dığrak M, Yılmaz Ö, Çelik S, Yıldız S. Propolisdeki yağ asitleri ve antimikrobiyal etkisi üzerine in vitro araştırmalar. Sci and Eng. J. of Fırat Univ. 1995; 20: 249-255.
23. Dobrowolski JW, Vohoraq Sb, Sharma K, Shah SA, Naqvi SAH, Dandiya PC. Antibacterial, antifungal, antimoebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. J. Ethnopharmacol. 1991; 35: 77-82.
24. Elliot AJ, Scheiber SA, Thomas C, Pardini RS. İnhibition of glutathione reductase by flavonoids, Biochem Pharmacol. 1992; 44: 1603-1608.
25. Emery RS, Brown RE and Black AL. Metabolism of DL-1,2-Propanediol-2-14C in a Lactating Cow. J of Nutr. 1992; 67:348-356.
26. Eraslan G, Kanbur M, Silici S. Evaluation of propolis effects on some biochemical parameters in rats treated with sodium fluoride. Pesticide Biochem and Physiol. 2007; 88: 273-283.
27. Erlund I, Alfthan G, Maenpaa J, Aro A. Tea and coronary heart disease: the flavonoid quercetin is more bioavailable from rutin in women than in man. Arch Intern Med. 2001; 161: 1919-1921.
28. Ferrali M, Signorono C, Caciotti B, Sugherini L, Ciccoli L, Giachetti D, Comporti M. Protection against oxidative damage of iron chelating activity. FEBS Lett. 1997; 416: 123-129.
29. Fıscher G, Cleff MB, Dummer LA, Paulıno N, Paulino AS, Vılela CO,Campos FS, Storch T, Vargas GA, Hubner SO, Vıdor T. Adjuvant effect of green propolis on humoral ımmune response of bovines ımmunized with bovine herpesvirus type 5. Vet Immun and Immunopathol. 2007; 116: 79-84.
30. Formigoni A, Cornil MC, Prandi A, Mordenti A, Rossi A, Portetelle D. Effect of propylene glycol supplementation around parturition on milk yield, reproductive performance and some hormonal and metabolic characteristics in dairy cows. J Dairy Res. 1996; 63: 11-24.

31. Francis GA, Perry RJ. Targeting HDL – Mediated cellular cholesterol efflux for the treatment and prevention of atherosclerosis. Clin Chem Acta. 1999; 286: 219-230.
32. Frenkel K, Wei H, Bhimani R, Ye J, Zadunaisky JA, Huang MT, Ferraro T, Conney AH, Grunberger D. Inhibition of tumor promoter- mediated processes in mouse skin and bovine lens by caffeic acid phenethyl ester. Cancer Res. 1993; 53: 1255-1261.
33. Fulıang HU, Hepburn HR, Xuan H, Chen M, Daya S, Radloff SE. Effects of propolis on blood glucose, blood lipid and free radicals ın rats with diabetes mellitus. Pharmacol Res. 2005; 51: 147 -152.
34. Gabrys J, Konecki J, Krol W, Scheller S, Shani J. Free amino acids in bee hive products (propolis) as ıdentified and quantified by gas– liquid chromatography. Pharmacol Res Comn. 1986; 18: 513-518.
35. Garcia - Viguera C, Ferreres F, Tomas-Barberan FA. Study of canadian propolis by gc-ms and hplc. Z. Naturforsch. 1993; 48: 731-735.
36. Golychev VN. Use of honey ın conservative treatment of senile cataract. Vestn Oftalmol. 1990; 106: 59-62.
37. Greenaway W, Scaysbrook T, Whatley FR. The analysis of bud exsudate of populus x euramericana and of propolis. By Gas Chromatography -Mass Spectrometry. Proc R Soc. 1987; 232: 249-272.
38. Greenaway W, Scaysbrook T, Whatley FR. Identification by gas chramatography – mass spectrometry of 150 compounds in propolis. Zeitchrift fur Natur. 1991; 46:111-121.
39. Gubicza A, Molnar P. Propolis in the rearing of alves. Magyar Mezogazdasag. 1987; 42: 14.
40. Gunduz C, Biray C, Kosova B, Yılmaz B, Eroglu Z, Şahin F, Omay SB, Cogulu O. Evaluation of manisa propolis effect on leukemia cell line by telomerase activity. Leukemia Res. 2005; 29: 1343-1346.
41. Hammerstone JF, Lazarus SA, Schmitz HH. Procyanidin content and variation in some commonly consumed foods. J Nutr. 2000; 130: 2086S-2092S.
42. Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. J of Nutr Biochem. 2002; 13: 572-584.
43. Hepşen İF, Tilgen F, Er H. Propolis: Tıbbi özellikleri ve oftalmolojik kullanımı. Turgut Özal Tıp Merkezi Derg. 1996; 3: 386-391.
44. Hirano R, Sasamoto W, Matsumoto A, Itakura H, Igarashi O, Kondo K. Antioxidant ability of various flavonoids aganist DPPH radicals and LDL oxidation. J Nutr Sci Vitaminol. 2001; 47: 357-362.
45. Hollman PC, Bijsman MN, Gameran YV, Cnossen EP, Vries JH, Katan MB. The sugar moiety is a major determinant of the absorption of dietary flavonoid glycosides in man. Free Radic Res. 1999a; 31: 569-573.
46. Hollman PC, Katan MB. Dietary flavonoids: intake,health effects and bioavailability. Food Chem Toxicol. 1999b; 37: 937-942.

47. Hoşnuter M, Gürel A, Babucçu O, Armutcu F, Kargi E, Işıkdemir A.The effect of capeon lipid peroxidation and nitric oxide levels in the plasma of rats following thermal injury. Burns. 2004; 30: 121-125.
48. Isla MI, Nieva Moreno MI, Sampietro AR, Vattuone MA. Antioxidant activity of argentine propolis extracts. J of Ethnopharm. 2001; 76: 165-170.
49. Ivanov DF, Tikanov AL, Krivenchuk PE, Liurskaia FV. Propolis and its clinical usage. Oftolmol Zh. 1973; 28: 104-107.
50. Jasprica I, Mornar A, Debeljak Z, Smolcic-Bubalo A, Medic-Saric M, Mayer L, Romic Z, Bucan K, Balog T, Sobocanec S, Sverko V. In vivo study of propolis supplementation effects on antioxidative status and red blood cells. J of Ethnopharm. 2007; 110: 548-554.
51. Kleinrok Z, Borzecki Z, Scheller S, Matuga W. Biological properties and clinical application of propolis: X. Preliminary Pharmacological Evaluation of Ethanol Extarct of Propolis (Eep). Arzneim Forrsch/Drug Res. 1978; 28: 291-292.
52. Koç A, Nedret, Silici S, Sarıgüzel FM, Sagdic O. Antifungal activity of propolis ın four different Fruit Juices. 2007; 45: 57-61.
53. Kolankaya D, Selmanoğlu G, Sorkun K, Salih B. Protective effects of turkish propolis on alcohol-ınduced serum lipid changes and liver ınjury ın male rats. Food Chem. 2002; 78: 213-217.
54. Koru O, Toksoy F, Acikel CH, Tunca YM, Baysallar M,Guclu AU, Akca E, Tuylu AO, Sorkun K Tanyuksel M, Salih B. In vıtro antimicrobial activity of propolis samples from different geographical origins against certain oral pathogens. Anaerobe. 2007; 13 : 140-145.
55. Krol W, Czuba Z, Scheller S, Gabrys J, Grabiec S, Shani J. Anti-oxidant property of etanolic extract of propolis (Eep) evaluated by ınhibiting the chemilumnescence oxidation of luminol. Biochem Int. 1990; 21: 593-597.
56. Kumova U, Korkmaz A, Avcı BC, Ceyran G. An ımportant bee product: Propolis. Uludağ Bee Journal. 2002; 2: 10-24.
57. Kurt İ. Glikozile hemoglobin (HbA1c) ölçümü ve diyabetes mellitusun uzun dönem glisemik kontrolünde kullanılması. Gülhane Tıp Dergisi 2003; 45: 387-395.
58. Lee TP, Matteliano ML, Middleton E. Effect of qurcetin on human polymorphonuclear leukocyte enzyme release and phospholipid metabolism. Life Sci. 1982; 31: 2765-2774.
59. Mani F, Damasceno HCR, Novellı ELB, Martıns EAM, Sforcın JM. Propolis: Effect of different concentrations extracts and intake period on seric biochemical variables. J of Ethnopharm. 2006; 105: 95-98.
60. Mohammadzadeh S, Sharriatpanahi M, Hamedi M, Amanzadeh Y, Ebrahimi SES, Ostad SN. Antioxidant power of ıranian propolis extract. Food Chem. 2007; 103: 729-733.
61. Mozherenkov VP, Prokofeva Gl. Apitherapy of eye disease. Vestn Oftalmol. 1991; 107: 73-75.
62. Nagai T**,** Inoue R, Inoue H, Suzukı N. Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis. Food Chem. 2003; 80: 29-33.

63. Newairy ASA, Salama AF, Hussien HM, Yousef MI. Propolis alleviates aluminium-induced lipid peroxidation and biochemical parameters in male rats. Food and Chem Toxicol 2009; 47: 1093-1098.
64. Okutan H, Özçelik N, Yılmaz HR, Uz E. Effects of caffeic acid phenethyl ester on lipid peroxidation and antioksidant enzymes in diabetic rat heart. Clin Biochem. 2005; 38: 191-196.
65. Ötleş S. Bal ve Bal Teknolojisi. Alaşehir MYO Yayınları 1995; 2: 41-44.
66. Özyurt B, Özyurt H, Atış Ö, Akbaş A, Yılmaz HR, Söğüt S. Deneysel olarak oluşturulan akciğer fibrozisinde E vitamini ve kafeik asit fenetil esterin akciğer dokusundaki bazı metabolik enzimlere Etkisi. Tıp Araştırma Dergisi. 2006; 4: 14-18.
67. Poole RC, Bowden NJ, Halestrap AP. Derivatives of cinnamic acid Interact with the nucleotide binding site of mitocondrial aldehyde dehidrogenase. Effects on the dehydrogenase reaction and stimulation of esterase activity by nucleotides. Biochem. Pharmacol. 1993; 45: 1621-30.
68. Rao CV, Desai D, Simi B, Kulkarni N, Amin S, Redyy BS. Inhibitory effect of caffeic acid esters on azoxymethane-induced biochemical changes and aberrant crypr foci formation in rat colon. Cancer Res. 1993; 55: 3576-3583.
69. Rao CV, Desai D, Rivenson A, Simi B, Amin S, Redyy BS. Chemoprevention of colon carcinogenesis by phenylethyl -3-methyl caffeate. Cancer Res. 1995; 55: 2310-2315.
70. Rizos D, Kenny DA, Griffin W, Quinn KM, Duffy P, Mulligan FJ, Roche JF, Boland MP, Lonergan P.The effect of feding propylene glycol to dairy cows during the early postpartum period on follicular Dynamics and on metabolic parameters related to fertility. Theriogenol. 2008; 69: 688-699.
71. Seven İ , Aksu T, Tatlı Seven P. Propolis ve hayvan beslemede kullanımı. YÜÜ Vet. Fak. Derg. 2007; 18: 79-84.
72. Seven PT, Seven I, Yılmaz M, Şimşek ÜG. The effects of turkish propolis on growth and carcass characteristics in broilers under heat stres. Anim Feed Sci and Techn. 2008; 137-148.
73. Sforcin JM. Propolis and the ımmune system: a review. J of Ethnopharmacol. 2007; 113: 1-14.
74. Sforcin JM, Fernandes JA, Lopes CAM, Bankova V, Funari SRC. Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. J of Ethnopharmacol. 2000; 73: 243-249.
75. Song YS, Jin C, Jung KJ, Park EH. Estrogenic effects of ethanol and ether extracts of propolis. J of Ethnopharmacol. 2002; 82: 89-95.
76. Stefano C, Francesco C. Propolis an old remedy used in modern medicine. Fitoterapia 2002; 73: 1-6.
77. Strehl E, Volper. R, Elstner EF. Biochemical activities of propolis extracts. Inhibitinon of dahydrofolate reductase. Z Naturforsch. 1994; 49: 39-43.
78. Studer VA, Grummer RG, Bertics SJ, Reynols CK. Effect of prepartum propylene glycol administration on periparturient fatty liver in dairy cows. J Dairy Sci.1993; 76: 2931-9.

79. Şahinler N. Arı ürünleri ve ınsan sağlığı açısından önemi. MKÜ. Ziraat Fak. Derg. 2000; 5: 139-148.
80. Şahinler N, Kurt Ş, Kaftanoğlu O. The effects of propolis on chalkbrood (Ascosphera Apis) disease ın honey bee colonies. Uludag Bee J. 2003; 37-39.
81. Talas ZS, Gulhan MF. Effect of various propolis concentrations on biochemical and hematological parameters of rainbow trout (oncorhynchus mykiss). Ecotoxicol and Environm. Safety. 2009; 72: 1994-1998.
82. Turkyılmaz S, Altan E, Ercin C, Vanizor BK, Kaklikkaya N, Ates B, Erdogan S, Topaloglu. Effect of caffeic acid phenethyl ester on pancreatitis in rats. J of Surg Res. 2008; 145:19-24.
83. Utter MF, Keech DB, Scrutton MC. A possible role for acetyl CoA in the control of gluconeogenesis. In: Weber G, editor. Advances in Enzyme Regulation: 2nd ed. New York: Macmillan Comp. 1964. p.49.

9. ÖZGEÇMİŞ

Adana 1982 doğumludur. İlk, orta ve lise öğrenimini Osmaniye'de tamamladı. 2002 yılında girdiği Niğde Üniversitesi Aksaray Sağlık Yüksekokulu Sağlık Memurluğu bölümünden 2006 yılında mezun oldu. Temmuz 2007 yılında Osmaniye Devlet Hastanesine sözleşmeli Sağlık Memuru olarak atandı. Eylül 2007 yılında Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı' nda yüksek lisans öğrenimine başladı. Halen Osmaniye Devlet Hastanesinde Sağlık Memuru olarak görev yapmaktadır. Evlidir.