

T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

ORAL PROPOLİS KULLNIMININ İZOLE EDİLMİŞ SIÇAN KALBİNDE MİYOKARDİYAL İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINA ETKİSİ

Hazırlayan

Turgut Alperen ASLANER

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Halil Fatih AŞGÜN

KALP VE DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

PERFÜZYONİST PROGRAMI

ÇANAKKALE-2020



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

ORAL PROPOLİS KULLNIMININ İZOLE EDİLMİŞ SIÇAN KALBİNDE MİYOKARDİYAL İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINA ETKİSİ

Hazırlayan

Turgut Alperen ASLANER

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Halil Fatih AŞGÜN

KALP VE DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

PERFÜZYONİST PROGRAMI

ÇANAKKALE-2020

TEZ ONAY FORMU

Kurum Adı	: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Bilimleri
Enstitüsü	
Program Adı	: Perfüzyonist Tezli
Programın Seviyesi	: Yüksek Lisans (x) Doktora ()
Anabilim Dalı	: Kalp ve Damar Cerrahisi
Tez Sahibi Adı ve Soyadı	: Turgut Alperen ASLANER
Tez Başlığı	: Oral Propolis Kullanımının İzole Edilmiş Sıçan Kalbinde Miyokardiyal İskemi-Reperfüzyon Hasarına Etkisi
Sınav Yeri	:ÇOMÜ Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi
Sınav Tarihi	:31/08/2020

Yukarıda tanıtımı yapılan tez, Tez Sınav Jürisi tarafından okunmuş, kapsam ve kalite yönünden başarılı bulunarak Yüksek Lisans/Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Sınav Jürisi

Danışman (Unvan ve Adı)	**Kurumu**	**İmza**
Doç. Dr. Halil Fatih AŞGÜN	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı	
Sınav Jüri Üyeleri (Unvan ve Adları)		
Prof. Dr. Ahmet Coşkun ÖZDEMİR	Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı	
Doç. Dr. Tolga KURT	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı	

Tez sınav jürisi tarafından başarılı olarak kabul edilen Yüksek Lisans/Doktora Tezi Enstitü Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ...../...../..... Tarih ve …. sayılı kararı ile onaylanmıştır.

THESIS APPROVAL FORM

Institute Name	: Çanakkalale Onsekiz Mart University Institute of Health Sciences
Programme Name	: Perfusionist
Programme Level	: Master of Science (x) Doctor of Philosophy ( )
Department	: Cardiovascular Surgery
Student Name and Surname	: Turgut Alperen ASLANER
Title of the Thesis	: Effect Of Oral Propolis Usage On Myocardial İschemia-Reperfusion Damage İn The İsolated Rat Heart.
Examination Place	: Çanakkale Onsekiz Mart University Health Practice and Research Hospital
Examination Date	: 31/08/2020

We have investigated the present thesis in regard to content and quality and have approved as a Master of Science / Doctor of Philosophy Thesis.

Supervisor (Title and Name)	**Institution**	**Signature**
Assoc. Dr. Halil Fatih AŞGÜN	Çanakkale Onsekiz Mart University, Faculty of Medicine, Department of Cardiovascular Surgery	
Members of Examination Jury (Titles and Names)		
Prof. Dr. Ahmet Coşkun ÖZDEMİR	Karadeniz Technical University Faculty of Medicine, Department of Cardiovascular Surgery	
Assoc. Dr. Tolga KURT	Çanakkale Onsekiz Mart University, Faculty of Medicine, Department of Cardiovascular Surgery	

The above examination jury decision has been approved by Administrative Board of Health Science Institute, Canakkale Onsekiz Mart University, with decision dated ..... and numbered

BEYAN FORMU

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığının, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi, Madde 8' de belirtilen ve ayrıntılı olarak tanımlanan etiğe aykırı eylemleri (intihal, sahtecilik, çarpıtma, tekrar yayım, dilimleme, haksız yazarlık ve diğer etik ihlali türleri) yapmadığımı onurumla beyan ederim.

Tarih:

Tez Sahibinin Adı ve Soyadı: Turgut Alperen ASLANER

İmza:

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde ve yüksek lisans eğitimim süresince, bilgi ve deneyimleri ile beni yönlendiren, mesleki, insani ve etik tecrübelerinden çok şey öğrendiğim, bana her zaman destek olan değerli tez danışmanım Doç. Dr. Halil Fatih AŞGÜN' e

Eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden istifade ettiğim, anlayışlarını ve yardımlarını hiçbir zaman esirgememiş olan Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı' ndaki tüm hocalarıma,

Uzakta olmama rağmen hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen ve yaşamımdaki tüm zorluklarda arkamda durup beni motive eden babam Ramazan ASLANER, annem Raife ASLANER, abim Sırrı ASLANER ve kardeşim Fatih Yunus ASLANER' e

Eğitim hayatım süresince, mesleğimin inceliklerini öğrenirken tanışmaktan dolayı şanslı olduğumu hissettiğim, tezimin her aşamasında yardımlarını hiç esirgemeyen Levent ÇİFTÇİve Derya KILIÇ' a

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana destek olan, emeğini ve sabrını esirgemeyen değerli insanlar, Mehtap TÜBLEK ve Esra DEĞİRMENCİ BAKKAL' a sonsuz teşekkür ederim.

Turgut Alperen ASLANER
ÇANAKKALE
2020

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK ..... **II**
TEZ ONAY FORMU ..... **III**
THESIS APPROVAL FORM ..... **IV**
BEYAN FORMU ..... **V**
TEŞEKKÜR ..... **VI**
LİSTELER ..... **IX**
Simge ve Kısaltmalar ..... **IX**
TABLO, ŞEKİL VE RESİMLER ..... **X**
ÖZET ..... **XII**
ABSTRACT ..... **XIII**
1. GİRİŞ VE AMAÇ **1**
2. GENEL BİLGİLER **4**
2.1.1. İşleyiş 4
2.1.2. Kardiyoplejik Arrest 5
2.2 İskemi / Reperfüzyon Hasarı 6
2.2.1. Oksidanlar 9
2.2.2. Antioksidanlar 10
2.3. Propolis ve Etkinliği 13
2.4. Vitamin E ve Etkinliği 14
2.5. Çalışmanın Değerlendirme Yöntemleri 15
2.5.1. Miyokardiyal Hasarı Değerlendirme Yöntemleri 15
2.5.2. Oksidatif Stresi Değerlendirme Yöntemleri 16
2.5.3. Hemodinamik Verilerin Ölçülme ve Değerlendirme Yöntemleri 18
2.5.4 Araştırmanın Amacı 19
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER **20**
3.1. Deney Hayvanları ve Deney Ortamı 20
3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması 20
3.3. Kalp Eksizyonunun Gerçekleştirilmesi 21
3.4. Langendorff Sisteminin Başlatılması ve Deneyin Sürdürülmesi 25
3.5. Kardiyoplejik Arrestin Sağlanması 25

3.6. Biyokimyasal Ölçümlerin Yapılması İçin Numune Toplanması ve Ölçümü 26
3.7. Hemodinamik Ölçümlerin Kaydedilmesi 27
3.8. İstatistiksel Yöntem 28
4.BULGULAR 29
4.1.Biyokimyasal Veriler 29
4.2.Antioksidan Verilerin Değerlendirme Sonuçları 33
4.3Hemodinamik Verilerin Değerlendirme Sonuçları. 40
5. TARTIŞMA 45
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 53
7. KAYNAKÇA 54
8. EKLER 60
8.1.ÖZGEÇMİŞ 60
8.2. HAYVAN DENEYLERİ ETİK RAPORU 61

LİSTELER

Simge ve Kısaltmalar

TAS	: Total Antioksidan Seviyesi
TOS	: Total Oksidan Seviyesi
OSI	: Oksidatif Stres İndeksi
TTL	: Total Tiyol Seviyesi
NTL	: Native Tiyol Seviyesi
DS	: Disülfit Seviyesi
TnI	: Troponin I
CK	: Kreatin Kinaz
CK-MB	: Kreatin Kinaz-MB
LDH	: Laktat Dehidrogenez
AB	: Aort Basıncı
SV	: Sol Ventrikül
SVB	: Sol Ventrikül Basıncı
SVEDB	: Sol Ventrikül End-Diastolik Basınç
SVESB	: Sol Ventrikül End-Sistolik Basınç
KPB	: Kardiyopulmoner Baypas
K/H	: Krebs Henselit
I/R	: İskemi/Reperfüzyon
SF	: Serum Fizyolojik
CAPE	: Kafeik Asit Fenetil Ester

TABLO, GRAFİK VE RESİMLER

RESİM 1. TESPİT EDİLMİŞ VE KARIN BÖLGESİNDEN KESİYE BAŞLANMIŞ OLAN DENEK. 22
RESİM 2.. EKSİZYON AŞAMASI İÇİN GÜĞÜS BOŞLUĞU TAMAMEN AÇILMIŞ DENEK. 22
RESİM 3. EKSİZYON SONRASI SOĞUK K/H SOLÜSYONUNA DALDIRILAN KALP. 23
RESİM 4. LANGENDORFF DÜZENEĞİNE ASIM AŞAMASINDA OLAN KALP. 24
RESİM 5. LANGENDORFF DÜZENEĞİNE ASILMIŞ VE STABİLİZASYONU TAMAMLANMIŞ KALP. 24
RESİM 6. EPPENDORF TÜPLERİNE KODLANAN NUMUNELER. 27
RESİM 7. HEMODİNAMİK ÖLÇÜMLERİN KAYDEDİLMESİ. 28

TABLO 1: BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİN İSKEMİ ÖNCESİ VE İSKEMİ SONRASI ORTALAMA VE STANDART SAPMA DEĞERLERİNİN GRUPLARA KIYASLANMASI. 29
TABLO 2: BİYOKİMYASAL VERİLERİN ANTİOKSİDAN SONUÇLARI ÜZERİNE KORELASYONU 32
TABLO 3: ANTİOKSİDAN SONUÇLARININ ORTALAMA VE STANDART SAPMALARININ GRUP KIYASI. 33
TABLO 4: ANTİOKSİDAN MEKANİZMALARININ POST-HOC OLARAK GRUPLAR ARASI KIYASLAMASI. 34
TABLO 5: ANTİOKSİDAN MEKANİZMALARININ DİSÜLFİT, TOTAL THİOL VE NATİVE THİOL PARAMETRELERİNE KORELASYONU. 35
TABLO 6: HEMODİNAMİK ÖLÇÜMLERİN ORTALAMA VE STANDART SAPMALARININ GRUP KIYASI. 40
TABLO 7: HEMODİNAMİK ÖLÇÜMLERİN GRUPLAR ARASI POST-HOC KIYASLANMASI . 40
TABLO 8: HEMODİNAMİK VERİLERİN ANTİOKSİDANLARA KORELASYONU. 43

GRAFİK 1: GRUPLARDAKİ LDH TEST SONUÇLARI. 30
GRAFİK 2: GRUPLARDAKİ CK TEST SONUÇLARI. 30
GRAFİK 3: GRUPLARDAKİ CK-MB TEST SONUÇLARI. 31
GRAFİK 4: GRUPLARDAKİ TNI TEST SONUÇLARI. 31
GRAFİK 5: GRUPLARDAKİ TAS TEST SONUÇLARI (*: İSTATİSTİKSEL ANLAMLI FARK MEVCUT). 35
GRAFİK 6: GRUPLARDAKİ TOS TEST SONUÇLARI. 36
GRAFİK 7: GRUPLARDAKİ OSI TEST SONUÇLARI (*: İSTATİSTİKSEL ANLAMLI FARK MEVCUT). 36

GRAFİK 8: GRUPLARDAKİ TTL TEST SONUÇLARI (*: İSTATİSTİKSEL ANLAMLI FARK MEVCUT). 37
GRAFİK 9: GRUPLARDAKİ NTL TEST SONUÇLARI 37
GRAFİK 10: GRUPLARDAKİ DS TEST SONUÇLARI (*: İSTATİSTİKSEL ANLAMLI FARK MEVCUT). 38
GRAFİK 11: GRUPLARDAKİ DS/TTL ORAN SONUÇLARI. 38
GRAFİK 12: GRUPLARDAKİ DS/NTL ORAN SONUÇLARI (*: İSTATİSTİKSEL ANLAMLI FARK MEVCUT). 39
GRAFİK 13: GRUPLARDAKİ NTL/TTL ORAN SONUÇLARI. 39
GRAFİK 14: GRUPLARDAKİ AORT BASINCI ÖLÇÜM SONUÇLARI (*: İSTATİSTİKSEL ANLAMLI FARK MEVCUT). 41
GRAFİK 15: GRUPLARDAKİ KALP HIZI ÖLÇÜM SONUÇLARI. 41
GRAFİK 16: GRUPLARDAKİ SOL VENTRİKÜL SİSTOLİK BASINÇ ÖLÇÜM SONUÇLARI (*: İSTATİSTİKSEL ANLAMLI FARK MEVCUT). 42
GRAFİK 17: GRUPLARDAKİ SOL VENTRİKÜL END-DİASTOLİK BASINÇ ÖLÇÜM SONUÇLARI. 42

ÖZET

Kalp hastalıklarının tedavisinde özellikle cerrahi gereksinimin olduğu durumlarda kardiyopulmoner bypass (KPB) yapılmakta olup bu esnada kalp belli süreler ile aralıklı ya da devamlı iskemiye maruz bırakılıp tekrar perfüzyonu sağlanmaktadır. Bu tür uygulamalar kalpte hasara yol açmaktadır. Vitamin E'nin miyokard koruması üzerinde immün ve antioksidan sistem regülasyonu ile iskemi-reperfüzyon (I/R) hasarı üzerine olumlu etkileri bilinmektedir. Çalışmamızın amacı, oral propolisin koroner bypass ve diğer kalp ameliyatlarında karşılaşılan I/R hasarına karşı myokardiyoprotektif etkinliğini belirlemek.

Çalışmamızda, 32 tane rat Propolis (Grup 1), E Vitamini (Grup 2), Kontrol (Grup 3), Sham (Grup 4) olacak şekilde eşit olarak dağıtıldı. Oral propolis ve Vitamin E serum fizyolojik içerisinde çözdürülerek 21 gün süre ile deneklere gavaj yolu ile uygulandı. Kontrol ve sham gruplarına aynı yolla ve aynı sürede sadece serum fizyolojik verildi. Gavaj uygulama süresinin ardından genel anestezi altında kalpler eksize edildi ve Langendorff düzeneğine asıldı. Tüm gruplarda başlangıçta 30 dakikalık perfüzyon sürecini takiben kardiyak arrest sağlamak için kardiyoplejik solüsyon verildi. Grup 1, 2 ve 3'te perfüzyon solüsyonu ardışık olarak kesilip tekrar gönderilmesi ile 45 dk iskemi ve 30 dk reperfüzyon uygulandı. Grup 4'te sürekli perfüzyon uygulandı ve hemodinamik ölçümler tüm deney süresince kaydedildi. Düzeneğin rezervuarında biriken perfüzyon sıvısından alınan örnekler biyokimyasal testlere tabi tutuldu.

Propolis uygulamasının antioksidan mekanizmalar üzerinde etkili olmadığı, I/R azalttığı ancak iskemi sonrası miyokardiyal fonksiyonu koruyarak sol ventrikül (SV) kontraktilitesinde etkisi bulunmuştur. İskemi sonrası SV sistolik basıncı propolis grubunda diğer gruplardan daha yüksek ölçülmüş olup istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Propolis bu etkinliğini antioksidan mekanizmalar üzerinden gerçekleştirmemiştir. Yapılacak olan ileri çalışmalarda bu etkinliği nasıl sağladığı öngörülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Propolis, Myokardiyal İskemi/Reperfüzyon, Langendorf, Kardiyopulmoner Baypass.

ABSTRACT

Cardiopulmonary bypass (CPB) performed in surgical treatment of various heart diseases.During CPB, the heart is exposed to intermittent or continuous ischemia for a certain period of time and re-perfusion is applied subsequentlly. Such applications result damage to the heart. The positive effects of vitamin E in prevention of myocardial ischemia-reperfusion(I/R) ınjury is obtained by regulation of the immune system and the antioxidant system. The aim of this study is to determine the myocardioprotective effects of oral propolis against I/R damage occurred in coronary bypass and other cardiac surgeries.

In our study, 32 rats, were distributed equally into 3 groups consisting propolis (Group 1), vitamin E (Group 2), control (Group 3) and sham (Group 4) groups. Oral propolis and vitamin E were dissolved in saline and applied to rats by oral gavage for 21 days while the rats in control and sham groups received only saline by the same way and for the same time At the end of the gavage period, the hearts were harvested under general anesthesia and mounted on the Langendorff apparatus. Following an initial perfusion period for 30 minutes in all groups, cardioplegic solution was administred to obtain cardiac arrest. Ischemia for 45 minutes and reperfusion for 30 minutes were performed in Groups 1, 2 and 3 by consequtive cessation and continuation of the perfusion solution. Continuous perfusion without cardiac arrest was performed in Group 4.hemodynamic parameters were recorded throughout the process.Samples from cardiac perfusion solution accumulated in the reservoir were obtained for biochemical analysis.

İt was found that propolis is not effective on antioxidant mechanisms in preventing I / R damage, but it was found to be effective in LV contractility by maintaining myocardial function after ischemia. LV systolic pressure after ischemia was higher in the propolis group than other groups and was found statistically significant ($p < 0.05$). Propolis did not perform this activity through antioxidant mechanisms. It is anticipated how this effectiveness will be achieved in further studies.

Keywords: Propolis, myocardial ischemia/re-perfusion, Langendorff, Cardiopulmonary bypass

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dünyadaki en sık ölüm sebebi kalp ve damar hastalıklarıdır. Bunlar arasında koroner arter hastalığı ve serebrovasküler hastalıklar ilk iki sırada yer almaktadır. Kalp hastalıklarının tedavisinde kullanılan en önemli yöntemlerden biri açık kalp cerrahisidir (Fallahi *vd.*, 2015). Bu yöntemle koroner arter hastalıkları başta olmak üzere, kalp kapak hastalıkları, doğuştan gelen kalp hastalıkları, aort hastalıkları gibi birçok ölümcül hastalık yüksek başarı oranlarıyla tedavi edilebilmektedir. Açık kalp cerrahisi esnasında kan dolaşımı ve solunum fonksiyonu geçici bir süre kalp-akciğer makinasına devredilmektedir.

KPB olarak isimlendirilen bu yöntemde, deoksijenize kan kanüller ve hatlar yardımıyla vücut dışına alınır. Rezervuara toplanan deoksijenize kan ısı değiştiricisin den geçerek oksijenatörde gaz farkı kullanılarak oksijen seviyesi yükseltilir ve kanüller vasıtası ile sistemik kan dolaşımına gönderilir. Kalp üzerinde yapılacak cerrahi işlemin tamamlanabilmesi için çoğunlukla kalbin durdurulması (kardiyak arrest) bir zorunluluktur. Kalp cerrahisinde KPB sistemi ile kalp belirli aralıklar ile ya da sürekli iskemiye maruz bırakılır. Cerrahi işlem sonucu oluşan kan ve sıvılar ortamdan uzaklaştırılarak kansız, durağan ve temiz bir saha oluşturulur. Kardiyak arrest amacıyla kalbe giden kan akımı durdurulmakta ve kardiyopleji olarak isimlendirilen koruyucu bir sıvı tatbik edilmektedir. Her ne kadar kardiyoplejik arrest büyük ölçüde kalbi kansız kalmaya bağlı oluşan iskemiden koruyor olsa da belli ölçüde iskemik hasar kaçınılmaz biçimde oluşmaktadır (Paç M. ve ark., 2013).

Oluşan akut iskemi sonrasında kalbe tekrardan kan akımının kısa sürede sağlanması miyokardı kalıcı hasardan korumak için gereklidir. Ancak reperfüzyonun kendisi de iskemik kalp dokusunda belli derecelerde hasara yol açmaktadır. Bu durum I/R hasarı olarak isimlendirilmektedir. I/R'a bağlı oluşan hasar açık kalp cerrahisi uygulanan durumlarda ciddi bir komplikasyona neden olmaktadır (Chang *vd.*, 2007).

Uygulanan perfüzyon sonrasında kalpte inflamasyon ve hücre ölümü artmaktadır. Bu süreç reperfüze edilmiş iskemik dokuda serbest radikal üretimindeki artışla ilişkilidir. Sebest oksijen radikalleri son derece aktif oksijen deriveleri olup birçok organik yapı ile reaksiyona girme ve bu yapıların bütünlüğünü bozma

kabiliyetine sahiptir. Hücre zarı, hücre içi yapılar ve organeller, hücre çekirdeği ve DNA bu radikallerden etkilenir. Normal koşullarda hücreyi serbest radikal hasarından koruyan ve oluşan hasarı hızla düzelten antioksidan mekanizmalar bulunur. Ancak bu mekanizmalar çoğunlukla hücrenin metabolik aktivitesine ihtiyaç duyarlar ve iskemik hücrede kısa sürede devre dışı kalırlar. Antioksidan koruma mekanizmalarının ortadan kalktığı iskemik dokuya bol miktarda oksijenin reperfüzyonla girmesi kaçınılmaz olarak büyük miktarda oksijen radikali üretimine ve buna bağlı hücre hasarının oluşmasına yol açar. Hücre hasarı inflamatuvar mekanizmaları tetikler ve sahaya ulaşan lökositlerden salgılanan enzimler ve radikaller hasarın daha da büyümesine yol açar. Bu noktada antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklere sahip maddelerin I/R hasarını çeşitli derecelerde azalttığını gösteren çok sayıda yayın mevcuttur (Aşgün H.F 2016)

Propolis; bal arıları tarafından üretilen, geleneksel tıpta yüzlerce yıldır kullanılmakta olan, antibakteriyel, antifungal, antiinflamatuvar, antioksidan, immünmodülatör etkileri gösterilmiş doğal bir üründür. Arılar tarafından bitki eksüdalarından toplanan reçinemsi maddedir. Balarıları bu ürünü kovanlarının iç yüzey kaplamasında ve kovan içerisinde bakteri üremesini engellemede kullanır. Bunların yanı sıra kovana dışarıdan parazit, böcek vb. gibi canlıların girmesini engellemede ve kovan içerisinde ölen arıların mumyalanmasında kullanılmak üzere toplarlar.

Propolisin içerisinde 300'den fazla biyolojik bileşen barındırmaktadır, esterler, terpenler, fenolik bileşikler, flavanoidler, aldehit ve alkoller, stilben terpenler ve beta steroidler bunlardan bazılarıdır. Bunların yanı sıra %5 oranında polen, %10 oranında eteri yağlar, %30 oranında mum ve %50 gibi büyük bir oranda da reçine bulunmaktadır. Özellikle fenolik bileşikler antioksidan etkisi, antibakteriyel etki, antiviral etki, antiinflamatuar etkisi gibi tıbbi amaçlar doğrultusunda değerlendirilir (Yücel, Çek ve Lu, 2014).

Bunlar arasında yer alan polifenoller (özellikle flavanoidler ve fenolik asitler), insanların vücutlarında biyolojik açıdan geniş bir etkiden sorumlu olan antioksidan etkinliğine sahiptir. Çalışmalar, çeşitli mekanizmaların; (i) oksijen radikallerinin oluşumunda rol oynayan enzimlerin aktivasyonunu azaltarak oksijen

radikal oluşumunu engellemek, (ii) serbest dolaşımda olan metal iyonlarına bağlanarak iyon aktivitesini ortadan kaldırmak (iii) serbest radikalin aradan çıkarmak ve böylece lipitlerin peroksidasyonuna sebep olan reaksiyon dizilerini ve (iv) diğer antioksidanlarla olan sinerjik etkinliği engellemek gibi eylemlerin antioksidatif etkisinden sorumlu olduğunu ortaya çıkarmıştır (Liu *vd.*, 2008).

Polifenollerin antioksidatif etki onların yapılarına bağlıdır. Propolis, içerdiği bileşenleri (kuersetin, kaemferol, galangin, apigenin, luteolin, krisin, asasetin, kafeik asit ve kafeik asit fenetil ester (CAPE)) sayesinde anti-oksidan ve anti-inflamatuvar yanıtları çok yüksek olan bir bileşiktir (Ozyurt *vd.*, 2007)

Propolisin sahip olduğu anti-oksidan ve anti-inflamauvar etkilerin, KPB esnasında görülen miyokariyal I/R hasarı üzerine koruyucu etkile sergileyebileceği hipotezinin araştırılması amacıyla bu çalışmayı planlandık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Kardiyopulmoner Baypas

Kalp cerrahisinde kansız ortam ve durağanlık gibi optimum koşulların sağlanması gerekmektedir. Bu optimum koşullar KPB sistemi sayesinde uygulanabilir. KPB sistemi kalpten kanı yerçekimi etkisi ile uzaklaştıran, geçici olarak kalbin pompalama ve akciğerin gaz değişimi ortamını yapay olarak sağlayan sistem bütünüdür. Kanın kalpten uzaklaşması ile durağan ve optimum cerrahi koşulları sağlar.

2.1.1. İşleyiş

KPB sistemi, işleyişi bakımından birçok bileşenin bir araya gelmesi ile oluşan bir bütündür. Sistemi oluşturan bileşenler kanı ileri doğru itmekten sorumlu bir pompa (genelde roller pompa), kalpten kanı alıp tekrardan hastaya verilmesinin sağlayan kanüller ve bu kanüllerin bağlandığı içinde kanın aktığı tüp hattı, hastadan alınan kanda gaz değişimini (gaz karışımındaki oksijenin kana, kandaki karbondioksitin gaz karışımına aktarılmasını) sağlayan membran oksijenatör, hipotermi için gerekli olan ısı farkını sağlayan ısıtıcı-soğutucu cihazı ve hastadan alınan kanın geçici süre ile toplandığı bir hazne olan rezervuardır. Kısaca hastadan alınan deoksijenize kan venöz kanül ve hatlar ile yerçekimi yardımı ile rezervuara alınır oradan ivme ve basıncın sağlanması için ana pompa başının yardımı ile ısı değiştiricisine ve ardından membran oksijenatöre gelir, gaz değişimi sağlanan ve oksijenlenmiş olan kan genellikle asendan aorta dan aort hat ve kanül vasıtası ile vücuda ulaştırılır (Aşgün H.F., 2016).

Bu oluşturulmuş olan sirkülasyonun takibi için belirli bölgelerden basınç, sıcaklık takibi, oksijen seviyesi ve elektrolit takibi yapılması amacı ile belirli sensörler mevcuttur. Bu sensörler sayesinde KPB süresi boyunca hastanın hemodinamik veri takibi yapılmasını mümkün kılan bir sistemdir (Demirkılıç U. ve ark., 2008).

2.1.2. Kardiyoplejik Arrest

Açık kalp cerrahisinde yapılan müdahalenin üst düzeyde yararlı olabilmesi için optimum koşulların sağlanması önemlidir. Optimum koşulların başında da durağanlık yani stabil ve hareketsiz bir cerrahi saha gelmektedir. Aortanın çapraz klemplenmesi ile kalp sistemik dolaşımdan ayrılır ve iskemik bir dönem başlar. Çapraz klemp altındaki kalbin çalışmaya devam etmesi myokardiyal kreatin fosfatın tüketilmesine ve kontraksiyon fonksiyonun düzelmesinde gecikmeye yol açar. Kalbi girmiş olduğu bu durumdan en az zararla çıkartabilmek için çapraz klemp altındaki kalbin geçici süre ile (çapraz klemp kaldırılana kadar) fonksiyonlarının durdurulması gerekir. Bu eylemi açık kalp cerrahisinde çeşitli kardiyoplejik solüsyonlar yardımı ile yapılır. Kardiyopleji solüsyonun kalbi diyastol fazında iken hızlı bir şekilde arrest edilmesi temeline dayanır. Bu süre içerisinde, kalp dokusunun ihtiyacı olan oksijen başta olmak üzere, hücre düzeyinde fonksiyonun devamlılığı için gerekli olan madde ve mineralleri barındırarak iskemi süresi boyunca hücre hasarını minimum seviyeye düşürmektir (Paç M. ve ark., 2013).

Kardiyopleji solüsyonu içerisinde glukoz, magnezyum, sodyum bikarbonat, kalsiyum ve yüksek oranda potasyum bulunur. Yüksek orandaki potasyum hücre zarındaki polarizasyonu bozarak hücre içerisine yüksek oranda potasyum girişi ile birlikte kalbin diyastol fazında arrest olmasını sağlarken, hücre düzeyinde aerobik ve anaerobik aktivitenin devamlılığının glukoz sağlar. Arrest esnasında kalp kasındaki kontraktilitenin durması gerekmektedir. Plejinin pH dengesinin sağlanması için sodyum bikarbonat eklenirken magnezyum da hücre içine kalsiyum girişini engellemek için plejiye eklenir (Suat Buket, Çağatay Engin, Halil Uç, 2004).

Yüksek K içeren KP solüsyonları ile sağlanan depolarize kardiyak arrest miyokard korumasında altın standarttır. Ekstrasellüler alandaki K artışı membran potansiyelini daha düşük bir değere çekerek voltaj bağımlı olan hızlı Na kapılarının aktive olmasını engellerler. Bu da depolarizasyon fazını durdurur. Membran depolarize olamadığı için de L-tipi Ca kanalları açılamaz ve sitoplazmaya Ca

dolamaz (influx). Sitoplazmik Ca düzeyi düşük olduğu için troponin-aktin-miyozin mekanizması aktive olup çalışamaz. Böylece hem aksiyon potansiyeli hem de mekanik faaliyet durdurulmuş olur (elektromekanik sessizlik). Na/Ca değişim kapılarının rolü repolarizasyon aşamasında daha belirgindir. Hücre içi iyon durumunu istirahat halindeki duruma döndürülmesinde rol alır. (Aşgün H.F., 2016).

2.2 İskemi / Reperfüzyon Hasarı

Açık kalp ameliyatlarında planlı ya da ani gelişen iskemi ve sonrasında perfüzyon bolca yaşanmaktadır. Bu planlı veya plansız süreçler istemsiz olarak miyokard hasarına sebebiyet vermektedir. Kardiyopleji solüsyonun eşit dağılmaması veya yetersizliği ve perfüzyon sonrası gelişen iskemi bunlara örnek olarak verilebilir. Bu türde oluşacak her türlü iskemik olay ardından bir perfüzyon süreci ile devam eder (Bougioukas *vd.*, 2018).

I/R hasarının fizyopatolojisi birbirleri ile ilgili karmaşık ilişkili çeşitli ve humoral olaylar serisidir. I/R hasarının oluşmasında etkili olan dört ana etmen vardır. Bunlar;

1: Serbest Radikaller: Eşleşmemiş elektron içeren atom ve moleküllerdir. Normalde elektronlar atom ve molekülde eşlenik ve reaktif değillerdir. Fazladan bir elektron eklenmesi ya da kaybı reaktif hale geçmelerine neden olur. Oluşan serbest radikallerin endojen kaynakları oksijen, nitrik oksit (NO), mitokondriyal elektron transport sistemi, uyarılmış nötrofil, peroksizom, plazma membranı ve endoplazmik retikulum olarak bilinir. Süper oksit radikali, oksijene bir elektron eklenmesi sonucu oluşur ve oksidan hasar oluşumu ile birlikte artan süperoksit dismutaz (SOD) aracılığı ile hidrojen peroksit (H_2O_2)' e indirgenir. Oldukça reaktif olan hidroksil radikali çok çabuk tepkimeye girer. Elektronegativitesi ile DNA, protein, lipitler ve karbonhidrat gibi moleküller ile reaksiyona girerek oksidatif hasara neden olur.

2: Polimorf Nüveli Lökositler (PMNL): I/R' a bağlı olarak kemotaksis, lökosit aktivasyonu ve lökosit endotel hücre adhezyonu meydana gelir. PMNL yüksek oranda SOR üretme kapasitene sahiptir. I/R hasarında PMNL nin rolü,

mikrovasküler oklüzyon, sitoplazmik enzim salınımı, vasküler permiabilite artışı, SOR salınımı ve sitokin salınım mekanizmaları önemli rol oynar.

3: Kompleman Rolü: I/R hasarında kompleman sistemin rolü tam anlamıyla açıklanamamaktadır. Proinflamatuar medyatörler kompleman sistemin aktivasyonu sonucu oluşurlar. Bunlar; C3a, C5a, iC3b ve C5b-9 olarak bilinir. C3a ve C5a lökositleri aktive eden anaflatoksinlerdir. C5a aynı zamanda makrofaj üretimini uyararak inflamatuar mekanizmasının aktif olmasını sağlar.

4: Endotel Hücresinin Rolü: Oksidatif stres endotelin aktivasyonun ve işlevinin bozulmasına neden olmaktadır. SOR üretim kaynağı olan endotel hücreleri aynı zamanda SOR' un potansiyel hedefidir. Oksidatif stres sonucun aktif olan endotel hücrelerinde, lökosit adhezyon ve SOR üretiminin artmasının yanında kendi bazal membranını sindiren kollajenazların salınımı da artar (Göksel ve Yeğen, 2009)

5: Renin-Angiotensin Aldestereron Sistemi (RAAS): RASS 'ın bir ürünü olan angiotensin-II, miyositlerin hücre içindeki kalsiyum düzeyinde arttırarak pozitif inotropik etkinin yanı sıra diyastolik fonksiyonları bozarak koroner vazokonstrüksiyon yol açar. Bu etki sonucunda miyokardiyal reperfüzyon dönemindeki hasara neden olur.

6: Trombositler: I/R sonrası aktif olan trombositler hasar bölgesinde birikirler. Trombositler ve trombosit ürünleri olan tromboksan A2 ve serotonin, mikro vasküler spazm, trombozis ve koroner akımda yavaşlama gibi etkiler göstererek I/R hasarının boyutunu arttırır.

7: Hücre İçi Kalsiyum (Ca^{++}) Birikimi: İskemi hücre zarındaki iyon dengesini bozarak hücre dışından ve hücre içi depolardan akımın artışı ile sitoplazmada Ca^{++} düzeyinin artmasına neden olur. Reperfüzyon döneminde ise bu durum toksik düzeye çıkar. Sitoplazmik Ca^{++} düzeyindeki artış miyofibrillerin duyarlılığını azaltarak kontraktür gelişimine neden olur. Bu tür kontraktür çoğunluklar kısa süreli iskemi periyodunu izleyen reperfüzyon döneminde hızla yükselen ATP düzeyleriyle ilişkilidir (Akkoç, 2008)

Neticede oluşacak olan her bir iskemi ve ardından takip eden perfüzyon miyokarda bir hasara neden olur. Bu hasarları kendi arasında dört sınıfa ayırabiliriz; i) koroner kan akımının ciddi oranda azaldığı ancak temel hücresel faaliyetlerin

devamını sağlamaya yetecek miktarda akımın mevcut olduğu, hücre ve içeriğinde hasarın olmadığı ancak ATP üretiminin düşük olduğu durumda; miyosit kontraksiyon yapamaz. Reperfüzyonla miyosit kontraksiyona devam eder, bu duruma Hibernasyon denir. ii) Daha ciddi oranda azalmış kan akımı sonucunda hücresel elektromekanik faaliyet durur, hücre canlıdır ancak hücresel bileşenlerde ve kontraktilite proteinlerinde geri dönüşümlü hasar oluşur. Bu durumda reperfüzyonla birlikte öncelikle hücresel hasar onarılır ve kontraktilite hemen başlamaz. Kontraktilite hasarın boyutuna göre saatler günler belki de haftalar sonra başlar, bu duruma Stunning denir. iii) Hücresel hasar çok büyüktür ancak hücresel bütünlük devam etmektedir. Onarılamayacak boyutta olan bu hasar sonrası hücre inflamatuar mekanizmaları aktif hale geçirmemek için ölümü seçer ve kendisini paketler. Buna Apoptozis denir. Fakat bunu yapabilmesi için hücrenin gene de bir miktar enerjiye ihtiyacı vardır. Çünkü programlı hücre ölümü enerji gerektiren bir süreçtir. Fakat en azından inflamatuvar mekanizmalar aktive olmadığından hücre ölümü sadece apoptotik hücre ile sınırlıdır. iv) Son evre olarak da çok ağır iskemi sonrası hücre yapısını ve bütünlüğünü koruyamaz. Hücre içerisine fazla oranda giren sodyum ozmotik basınç artışına neden olur ve hücre içerisine hızla su girerek hücrenin parçalanmasına neden olur. Sitoplazmik içeriğin dışarı çıkması ile birlikte makrofajlar uyarılır ve zincirleme inflamatuar bir reaksiyon başlar ve çok sayıdaki makrofaj etraftaki hücrelere de zarar verir. Bu şekilde tek bir hücrede meydana gelen olayın birden fazla hücreyi de etkilemesi sonucu meydana gelen olaya nekroz denir. (Aşgün H.F., 2016).

Bu oluşan iskemiye bağlı olarak oluşan hasarlı bölgelerde reperfüzyonun sağlanması sonucu ortamdaki oksijen miktarında meydana gelen artışın sonucunda oksijen radikallerinin oluşumu söz konusudur. Oluşan bu serbest radikaller reperfüzyon meydana gelmesinden sonra antioksidan mekanizmaları tarafından tam olarak ortamdan uzaklaştırılamazlar ve yörüngelerinde odaklanmamış elektron barındıran bu yapılar ve diğer hücresel yapılara hasar vererek hücre hasarına neden olmaya başlarlar (Chang *vd.*, 2007). E vitamini katalaz ve tioller gibi antioksidanların bu oluşan iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkinliği olduğu kanıtlanmış ve bilinmektedir. Her ne kadar iskemi sonrası reperfüzyon sağlanmış olsa da bu yeterli oranda olmaya bilir ve bu duruma da no-reflow fenomeni denir. I/R hasarının

en ağır formu olan Bu olay karşımıza trombosit kümeleşmesi, endotel ve buna bağlı miyokard hasarının yanı sıra miyokardiyal ödem olarak multifaktöryel bir durum olarak çıkar (Cobert *vd.,* 2010).

Kalpte I/R hasarı sonucu miyokardiyal sertleşme, miyositlerde nekroz, koroner disfonksiyon ve aritmiler görülür. I/R sonrası oluşan miyokardiyal disfonksiyon, ödem, trombosit kaynaklı mikrovasküler tıkanıklıklar ve oksidatif hasar mikrovasküler disfonksiyona yol açar. Kalpte oluşan disfonksiyonun oluştuğu bölgede reperfüzyon sonrası kısıtlı kan akımı ve hipoperfüze alanlar görülür (Akkoç, 2008).

Genel anlamda I/R hasarı; koroner kan akışında azalma, hücresel kontraksiyon fonksiyon bozuklukları, hücre içerisine yüksek oranda kalsiyum artışı, hücre şişmesi ve buna bağlı olarak hücresel parçalanma, mitokondriyal membranın parçalanması ve oksidatif streste artışına neden olmaktadır (Zweier ve Talukder, 2006)

2.2.1. Oksidanlar

Oksidanlar, aerobik ve anaerobik metabolizmaların normal bir ürünü olarak oluşur ancak normal metabolik koşulların altında yani patofizyolojik koşullarda üretimi fazladır (Mcquaid ve Keenan, 1997). Reaktif olan azot, oksijen ve kükürt benzeri serbest radikal oksidanları hücre içerisinde mitokondriyal faaliyetler sonucunda üretilir. Metabolik faaliyetlerin yan ürünü olarak süperoksit (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil (OH) meydana gelir. Hücre içinde oluşan ROS' un %90' mitokondriumun iç membranında aerobik solunum reaksiyonu zincirinde üretilir. Hücre düzeyinde oluşan yüksek oranda reaktif oksidanın negatif etkilerinden oksidatif stres ve oksidatif hasardan korunmak üzere vücut tarafından savunma amaçlı oluşturulan çok önemli anti oksidan mekanizmalar mevcuttur (Bahoran *vd.*, 2007).

Hücresel olarak gerçekleşen bu oksidan seviyesindeki artış hücresel anlamda kalsiyum birikimine neden olmaktadır, hücre içerisinde üretimi artan oksidanlar sarkoplazmik retikulumun kalsiyum $ATPaz_1$ düzeyinin inhibe etmesiyle hücre içerisinde kalsiyum birikimine ve bunun yanı sırada potasyum ATPaz'ın sodyuma inhibe edilmesi aracılığı ile yine kalsiyum birikimi tetiklenir. Hücre içerisinde

yüksek oranda kalsiyum varlığı dışarıdan gelen ileti sinyallerinin hücre içerisine geçişini bloke eder ve bunun sonucunda senkronizasyon bozularak aritmi ve kontraktilite bozuklukları meydana gelir (Tsutsui, Kinugawa ve Matsushima, 2011)

Oksidan özellikte olan bu metabolik yan ürünler DNA, protein ve hücre tahribatına neden olurlar (Zweier ve Talukder, 2006). Meydana gelen yüksek orandaki serbest radikallerdeki artış ve bunu takiben antioksidan seviyesindeki azalmaya bağlı olarak hücre içindeki redoks hemeostazının bozulması lipit, protein ve DNA yapılarının oksidatif modifikasyonlar ve oksidatif stres sonucu geri dönüşümsüz olarak bozulması hücrenin sinyalizasyon mekanizmasını etkileyerek hücre zarının yapısının bozulmasına ve hücreyi apoptoz sürecine sürüklediği bilinmektedir (Sheean et al., 2008)

2.2.2. Antioksidanlar

Oksijen radikallerinin neden olduğu oksidan hasarının etkileri ortadan kaldırmak veya engellemek için hücresel düzeyde oluşturdukları savunma sistemine antioksidan sistemi denir. (Pinchuk *vd.*, 2012)

Aerobik metabolizma tarafından üretilen reaktif oksidanların antioksidan seviyesinden daha yüksek olması yani oksidan-antioksidan dengenin oksidan lehine bozulmasına oksidatif stres denir. Bu oluşan olumsuz etkiye karşılık olarak hücresel düzeyde koruma önlemleri birçok seviyede organize edilir ve bunu sağlayan mekanizmaya antioksidan mekanizması denir (SIES, 1993). Meydana gelen bu oksidan etkinin ortadan kaldırılması için yani toksik halde bulunan oksijen radikallerinin etkilerinin engellenmesi için vücudun geliştirmiş olduğu belli başlı anti oksidan savunma mekanizmaları mevcuttur ve savunma mekanizmaları proteinleri, lipid yapılarını ve özelliklede DNA yapısını korumaktadır (Pei *vd.*, 2016). Antioksidan mekanizmalar; süperoksit dismutaz (GR) ve glutatyon-S-transferaz (GST) gibi enzimatik yolla veya albumin, laktoferrin, ferritin, melatonin, bilirubin, seroplazmin ve A, C ve E vitaminleri gibi enzimatik olmayan yolla etki edebilir (Göksel ve Yeğen, 2009). Oluşturulan bu savunma mekanizmaları önleme, müdahale ve onarım olmak üzere üç savunma stratejisi olarak ayrılır. Antioksidan kapasitesini düzenlemek, hücresel düzeyde oluşan antioksidan seviyesini yeterli kılmak ve

enzimlerin yanı sıra antioksidan bileşiklerinin de lokalizasyonunun sağlanması demektir (SIES, 1993).

SOR' ların oluşmasını ve neden oldukları hasarı önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak için hücresel olarak geliştirilmiş antioksidan savunma sistemi dört yol ile etkisini göstermektedir. i) SOR' u etkileyerek onları tutma, yok etme, süpürücü etkisini gösterir. ii) ROS' lar ile etkileşip aktif haldeki oksijen radikallerine bir hidrojen atomu aktararak aktivitelerinin azalmasını sağlama ya da inaktif şekle dönüştürücü etkisi. Vitaminler ve flavanoidler yapısal olarak bu etkiyi göstermektedir. iii) ROS' lara bağlanmak suretiyle bağlanma zincir mekanizmalarını kırarak fonksiyonlarını engelleyici yani zincir kırıcı etkisi. Hemoglobin, mineraller ve seruloplazminler yapısal olarak bu etkiyi göstermektedir. iv) SOR' ların neden oldukları hasarı onarma şeklinde onarıcı etki gösterirler (Zweier ve Talukder, 2006)

Antioksidan mekanizmaların en bilinenlerinden bazıları şunlardır;

1: Süperoksit dismutaz (SOD): SOD süperoksit serbest radikalinin ($O_2^{-\cdot}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene katalizleyen en önemli antioksidan enzimdir.

2: Katalaz: Peroksizomda, sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunan H_2O_2 'yi oksijen ve suya parçalayan ve OH oluşumunu engelleyen antioksidan enzimdir.

3: Glutatyon (GSH): GSH, oksidan hasarına karşı hücreleri koruyan hücre içindeki en önemli antioksidandır. Karaciğerde sentezlenir. GSH, proteinlerdeki sülfidril halde tutar ve fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engelleyerek bu grupları oksidasyona karşı korur. Amino asitlerin transportunu sağlar. Eritrosit ve lökositleri oksidan hasarına karşı korumada hayati öneme sahiptir (Göksel ve Yeğen, 2009)

4: Vitamin E: Yağda eriyen çok güçlü bir antioksidan olan Vitamin E hücre zarı fosfolipitlerinde bulunan poliensatüre yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyan ana savunma mekanizmasıdır.(Göksel ve Yeğen, 2009)

Lipid fazda karotenler ve tokoferollerin yanı sıra A vitamini, oksi-karotenoidler ve ubikinoller aktif rol oynarken, sulu fazda askorbat ve Glutatyon gibi

bileşikler aktif rol oynar (Goldberg, Trent ve Schulze, 2012). Sitosolün bunların yanı sıra nükleer ve mitokondriyal matrisler ve tüm hücre dışı sıvı yapısını da korumaktadır (Surekha *vd.*, 2007). Genel olarak bakıldığında düşük moleküler kütleli bu antioksidan molekülleri, süperoksit dismutaz, Glutatyon peroksidaz ve katalaz enzimleri tarafından yapılan antioksidan savunma oksidatif stres ve oksijen radikallerine karşı uygulanan en önemli savunma mekanizmasıdır (Mcquaid ve Keenan, 1997).

İskemiyi takiben gerçekleşen reperfüzyon, oksidatif stresin artmasına ve serbest radikal aracılığıyla oluşan hasarın derinleşmesine yol açar. Bu duruma yol açan nedenler arasında; (i) ATP eksikliği nedeniyle çoğu antioksidan molekülün iskemi esnasında üretilememesi ve bunun sonucunda ortamdaki serbest radikallerin uzaklaştırılamaması, (ii) antioksidan mekanizmaların baskılanmış olduğu ortamda yüksek oksijen içerikli kanla perfüzyon sonucu serbest radikal üretiminde artış, (iii) iskemik hasar sahasına ulaşan lökositlerden ve uyarılan endotel hücrelerinden serbest radikal üretiminin artışı, (iv) iskemik koşullarda yüksek hücre içi kalsiyum miktarının ksantin oksidaz dönüşümünü ve reperfüzyonda hipoksantinden serbest radikal üretimine yol açması ve (v) iskeminin ve artan oksidatif stresin yol açtığı organel hasarı sonucu reperfüzyonda antioksidan moleküllerin üretilememesi sayılabilir (Aşgün. 2016).

Oksidatif stresin artmasına bağlı olarak hücre eş zamanlı hücresel düzeyde hücre zarının şişmesi ve yırtılması gibi komplike olayların yanı sıra kapiller düzeyde nötrofil kemotaksisine bağlı lökosit tıkaçları, mikrovasküler bası, protein denatürasyona, DNA sarmallarında kırılma, nekroz ve hücre ölümüne varacak düzeyde bir takım ardışık komplikasyon dizileri meydana getireceği gibi toksit etkide göstermektedir (Zweier ve Talukder, 2006). Oksidatif stres sonucu meydana gelen bu hasarın azaltılması için aktif olan oksidanların inaktif hale getirilmesi ve antioksidan seviyesinin arttırılması gerekmektedir. Artışı sağlanan antioksidan seviyesinin I/R hasarına karşı koruyucu etkinliği de bilinmektedir (Hamilton *vd.*, 2003)

2.3. Propolis ve Etkinliği

Propolis; bal arıları tarafından üretilen, geleneksel tıpta yüzlerce yıldır kullanılmakta olan, antibakteriyel, antifungal, antiinflamatuvar, antioksidan, immünmodülatör etkileri gösterilmiş doğal bir üründür. Arılar tarafından bitki eksüdalarından toplanan reçinemsi maddedir. Balarıları bu ürünü kovanlarını iç yüzeylerini kaplamada, kovan içerisinde bakteri ve çeşitli organizmanın üreme ve gelişmesinin engellemede, aynı zamanda dışarıda parazitlerin girişine engel olmak ve kovan içerisinde ölen arı, böcek vb. canlıların üzerini mumyalama yöntemi ile kapatarak çürümeyi engellemek amacı ile toplar ve biriktirirler (Alyane *vd.,* 2008).

Propolisin içerisinde 300'den fazla biyolojik bileşen barındırmaktadır, esterler, terpenler, fenolik bileşikler, flavanoidler, aldehit ve alkoller, stilben terpenler ve beta steroidler bunlardan bazılarıdır. Bunların yanı sıra %5 oranında polen, %10 oranında eteri yağlar, %30 oranında mum ve %50 gibi büyük bir oranda da reçine bulunmaktadır. Özellikle fenolik bileşikler antioksidan etkisi, antibakteriyel etki, antiviral etki, antiinflamatuar etkisi gibi tıbbi amaçlar doğrultusunda değerlendirilir (Yücel, Çek ve Lu, 2014).

Bunlar arasında yer alan polifenoller (özellikle flavanoidler ve fenolik asitler), insanların vücutlarında biyolojik açıdan geniş bir etkiden sorumlu olan antioksidan etkinliğine sahiptir. Çalışmalar, çeşitli mekanizmaların; (i) oksijenin reaktif hallerinin oluşturulmasında yer alan enzimlerin meydana gelmesinde etkili olan enzim aktivitesini kısaltarak oksijen reaktiflerinin oluşumunu engellemek, (ii) serbest dolaşımda olan metal iyonlarına bağlanarak iyon aktivitesini ortadan kaldırmak (iii) serbest radikalleri aradan çıkarmak ve böylece lipitlerin peroksidasyonuna sebep olan reaksiyon dizilerini ve (iv) diğer antioksidanlarla olan sinerjik etkinliği engellemek gibi eylemlerin antioksidatif etkisinden sorumlu olduğunu ortaya çıkarmıştır (Liu *vd.,* 2008). Polifenollerin antioksidatif etki onların yapılarına bağlıdır. Propolis, içerdiği bileşenleri (kuersetin, kaemferol, galangin, apigenin, luteolin, krisin, asasetin, kafeik asit ve kafeik asit fenetil ester (CAPE)) sayesinde anti-oksidan ve anti-inflamatuvar yanıtları çok yüksek olan bir bileşiktir (Li *vd.,* 2014)

Braik ve ark, Cezayir propolis' in uzun süreli hipotermik iskeminin neden olduğu oksidatif hasara karşı kardiyoprotektif etkisini kanıtlamak amaçlı ile ex vivo bir çalışma yapmışalardır. Çalışmada farelere servikal dislokasyon uygulandıktan sonra kalpler çıkarılıp önceden hazırlanan kreps sıvısının içine alınmıştır. Kalpler propolis grubunda (50, 150 ve 250 ug/ml) farklı konsantrasyonlarda propolis ile desteklenmiş kreps çözeltisinde 24 saat süre ile +4 ºC de muhafaza edilmiştir. Sonuç olarak propolisin iskemik kalbi oksidatif stres hasarından koruduğunu, doku bütünlüğünü koruduğunu ve hipotermik iskeminin neden olduğu histopatolojik hasarı önlediği görülmüştür. Ayrıca propolisin izole kardiyak mitokondride ROS üretimini azalttığı da belirtilmiştir (Braik *vd.*, 2019).

Wei-Tien ve ark, flavonoidlerin kardiyomiyositlerde oksidan temizleme ve I/R hasarı üzerine bir deney tasarlamışlar. Beş farklı spesifik flavonoidin oksidan temizleme kapasitesi karşılaştırılmış. Sonuç olarak flavonoidlerin I/R hasarına karşı antioksidan koruması flavonoidin tedavi zamanına, membranın geçirgenliğine ve iskemi sonrası üretilen oksidan kapasitesine bağlı olduğu görülmüş. Bu durum flavonoidlerin kimyasal yapısı ile açıklanır. Bu nedenle akut bir tedavi olarak flavonoid uygulandığında, ilgili hücre içi erişimi ve toksik reaktif oksijen türlerinin azalmasını sağlayacağı ve buna bağlı olarak I/R hasarına karşı korumada etkili olacağı belirtilmiştir.

Propolisin sahip olduğu anti-oksidan ve anti-inflamauvar etkilerin, KPB esnasında görülen miyokariyal I-R hasarı üzerine koruyucu etkile sergileyebileceği hipotezinin araştırılması amacıyla bu çalışmanın temelini oluşturmaktadır.

2.4. Vitamin E ve Etkinliği

E vitamini bazı gıdalarda doğal olarak bulunan belirgin antioksidan özelliği olan yağda çözünün bileşik kompleksidir. Doğal olarak oluşan E vitamini, değişik seviyelerde biyolojik aktiviteye sahip (alfa-, beta-, gama- ve delta-tokoferol ve alfa-, beta-, gama- ve delta-tokotrienol) formlarda bulunur (Dietrich M. ve ark., 2006). Bu formalar içerisinde Alfa- (veya α-) tokoferol olarak biline formül insan için gereksinimleri karşıladığı bilinen formüldür (Adluri *vd.*, 2013).

Konsantre vitamin E'nin çeşitli formları (serum) karaciğere bağlanmadan önce bağırsaklarda emildikten sonra karaciğere bağlanır. Karaciğer E vitamini formlarını metabolize eder ve atar (Verhagen H. ve ark., 2006).

Antioksidanlar hücreleri paylaşılmamış elektron içeren molekül olan serbest radikallerin olumsuz etkilerinden korur. E vitamini yağda eriyen çok güçlü bir antioksidandır. Hücre zarında buluna yağ asitlerini ROS' a karşı korumada ilk savunma mekanizmasıdır. Süperoksit ve hidroksil radikallerini, lipit peroksit ve diğer oksijen radikallerini indirgeme özelliğine sahiptir. Lipit peroksidasyonunun zincir reaksiyonunu zincir kırıcı etkisi ile sonlandırır. Bu koruyuşu etki reaksiyonları sırasında Vitamin E radikal formuna dönüşse de askorbik asit, glutasyon ve koenzim Q10 tekrar aktif hale dönüştürülür. Antioksidan etkinliğinin yanı sıra gen ekspresyonun düzenlenmesi, immün sistem ve bağışıklık fonksiyonlarında da rol almaktadır. E vitamininin bu etkinliği çalışmamızda propolis ile karşılaştırmalı olarak kullanılmasının temelini oluşturmaktadır (Göksel ve Yeğen, 2009).

Saleh ve ark., miyokardiyal I/R hasarında Vitamin E' nin koruyucu etkinliğini araştırmak için hazırlamış oldukları deneyde oral Vitamin E ile besledikleri sıçanlarda I/R uygulamışlar ve Vitamin E uygulanan deney grubunda diğer gruplara oranla iskemi sonrası kontraktilite ve miyokard fonksiyonunda kaybın en az olduğunu ve Vitamin E nin iskemiye karşı koruyucu etkinliğinin bulunduğunu bildirmiştir (Saleh ve Saleh, 2010)

2.5. Çalışmanın Değerlendirme Yöntemleri

2.5.1. Miyokardiyal Hasarı Değerlendirme Yöntemleri

Yuan ve ark., miyokardiyal iskemi-reperfüzyonun hasarının araştırılması için tasarlamış oldukları bir Langendorff deneyinde koroner atık suyundan alınan numunelerde miyokardiyal hasarın boyutlarının belirlenmesinde biyokimyasal parametrelerden Laktat Dehidrogenez (LDH) ve Kreatin Kinaz (CK) testi çalışmışlardır. Koroner atık suyundan toplanan numunelerin iskemik hasarın boyutlarını belirlemede yeterli olduklarını göstermişlerdir (Yuan *vd.*, 2015).

LDH, vücutta birden fazla doku ve organda bulunan bu enzim glukolizin ürünü olan piruvatı laktata geri dönüşümlü olarak dönüştüren enzim türüdür. Kalp dokusunda da bulunan bu enzim iskemi sonrası oluşan hücre hasında kana karışarak hasarın boyutunun belirlenmesinde etkilidir. Rotenberg ve ark., akut miyokard enfarktüsünün belirlenmesinde LDH tayinin etkinliğini araştırdıkları bir çalışmada LDH enziminin doku hasarının varlığını göstermede etkili olduğunu kanıtlamışlardır (Rotenberg *vd.,* 1988). Aynı zamanda spesifik olarak kalp dokusunda bulunan Troponin I (TnI) ve iskemiden 4-6 saat sonra aktif hale gelen Kreatin Kinaz (CK) ve Kreatin Kinaz-MB enzimlerinin de iskemi sonrası oluşan doku hasarının boyutlarının anlaşılmasında etkin oldukları bilinmektedir (Penttilä, Penttilä ve Rantanen, 2000).

2.5.2. Oksidatif Stresi Değerlendirme Yöntemleri

2.5.2.1. Total Oksidan Seviyesi (TOS)

Serbest radikalleri belirlemek için yapılan test oksidan mekanizmaları sonucu oluşan molekül, iyon ve oksitlenmemiş atomların ölçülmesine dayandırılan bir belirteç yöntemidir. Oksidatif stres düzeyi ve hücresel düzeyde oluşan oksidanların vermiş oldukları toksik hasar bu yöntem ile ölçülmektedir (Aktas *vd.*, 2017).

Oksidanlar demir iyonu-odianisidin kompleksini demir iyonuna oksitler. Ortamda buluna gliserol reaksiyonun hızını üç kat arttırır. Ferrik iyonlar ortamdaki ksilenol turuncu ile renkli bir bileşik oluştururlar. Bu oluşan renk oksidan miktarı ile ilişkilidir ve spektrofotometre ile ölçülür ve bu ölçüm bize TOS değerini verir (Erel, 2005).

2.5.2.2. Total Antioksidan Durumu (TAS)

Hücresel redoks durumunu korumak ve dengelemek için oksidanların miktarına göre üretimi artar. Redoks durumu gereği oluşan antioksidanların, yoğun oksidan bulunan ortamda oksidanlar ile etkileşimi sağlanarak miktarının belirlenmesi için yapılan analizsel testtir. Hücresel düzeyde oluşan oksidanların vermiş oldukları toksik hasar bu yöntem ile ölçülmektedir (Aktas *vd.*, 2017).

Fe2+-o- diaisidin kompleksi OH radikalinin oluşmasının sağlamak için hidrojen peroksit ile fenton reaksiyonu gerçekleştirir. Güçlü ROS, düşük pH' da renksiz -o- dianisidin molekülü ile reaksiyona girerek sarı-kahverengi dianisidil reaktiflerinin oluşmasını sağlar. Numunelerdeki antioksidanlar bu oksidasyon reaksiyonlarını baskılar ve renk oluşumunu engeller. Bu reaksiyon daspektrofotometrik olarak ölçülür ve bu ölçüm bize TAS değerini verir (Erel, 2005).

2.5.2.3. Oksidatif Stres İndeksi (OSI)

ROS' un yarılanma ömrünün kısa olmasından kaynaklı doğrudan ölçümü zor olmaktadır; bu nedenle de oksidatif stresin dolaylı belirteçlerini aramak ve belirlemek gerekmektedir. TAS, TOS ve OSI oksidasyon ve antioksidasyon arasındaki redoks dengesini yansıtmada en önemli ve kilit faktördür. TOS, ROS' un bir göstergesidir ve OSI, TOS' un TAS' ye oranlanması ile hesaplanır ve oksidatif stresin seviyesini gösterir (Cingi Yirün *vd.*, 2016).

$$OSI = \frac{TOS}{TAS*1000} * 100$$

2.5.2.4. Total Thiol Seviyesi (TTL), Native Thiol Seviyesi (NTL) ve Disülfit Homeostazı (DS)

Vücutta oluşan oksidatif stresin düzeyinin belirlemek amacı ile oksidan ve antioksidan ezim düzeylerini ölçen birden fazla test mevcuttur.

Organik bileşik olan tiyoller, birer adet hidrojen ve karbon atomuna bir adet sülfür atomunun bağlanması ile meydana gelen bir sülfhidril (-SH) içeren bileşiktir. Ölçüm için toplana serumlarda doğal tiyol (-SH) ve toplam tiyol (-SH+-SS-) düzeyleri hesaplanırken disülfür bağı (-SS-)*100/(-SH) ve (-SS-)*100/(-SH+-SS-) formülünden hesaplanır(Erel ve Neselioglu, 2014).

İndirgeyici özelliği olmasından dolayı tiyoller antioksidan moleküllerdir. Açığa çıkan reaktif oksijen radikallerinin yapısında bulunan yüksek orandaki elektron yükünü tiyollere aktarır ve oksitlenmesini sağlayarak disülfit bağ oluşumunu gerçekleştirir. Oluşan bu disülfit bağlarının en önemli özelliği geri dönüşümlü olmasıdır, hücresel düzeyde oksidan/antioksidan dengesini gözeterek yapmış olduğu bağları tekrardan tiyollere dönüştürerek dengenin korunmasını sağlar (Erel ve Neselioglu, 2014). Böylece dinamik bir tiyol/disülfit Homeostazı sağlanmış olur (Gumusyayla, Vural, Bektas, Deniz, *vd.*, 2016).

2.5.3. Hemodinamik Verilerin Ölçülme ve Değerlendirme Yöntemleri

2.5.3.1. Langendorff Doku Perfüzyon Sistemi

1895 yılında organ fizyolojisinin anlaşılması ve çalışması amacı ile Oscar Langendorff tarafından üretilmiştir (Bell, Mocanu ve Yellon, 2011). Çeşitli dokuların perfüzyonun yanı sıra özellikle kalp dokusunun perfüzyonu ve vücut dışında yapay bir ortamda canlılığının korunmasını sağlamak bu süre zarfında perfüze edilen doku üzerinde fizyolojik, patolojik, hematolojik, histolojik, elektrofizyolojik ve patofizyolojik ölçümlerin yapılmasını ve simülasyonunu sağlayan nispeten basit ama kullanışlı bir yöntemdir (Schechter *vd.*, 2014).

Langendorff sistemi kalp ve aortun kanül yardımı ile perfüzyonu metoduna dayanır. Fizyolojik olarak akışın tersi yönünde yani retrograd olarak aort dan aşağı doğru yönde sağlanır ve aort kapak kapalıdır. Aort kapakçığının kapalı olmasından dolayı sinüs valsalvada bulunan koroner ostiumlardan perfüzyon sağlanır. Koroner ostiumlardan sağlanan perfüzyon koroner arterlerden geçerek vasküler yatak boyunca ilerler koroner sinüse ulaşır. Koroner akım boyunca perfüzyon atık suyu toplanır (Motayagheni, 2017).

Langendorff sisteminde memeli kalbi perfüzyonun da kullanılan ve en çok bilinen bikarbonat tamponu olan Krebs ve Henseleit tarafından 1932 yılında bulunan Krebs/Henseleit (K/H) çözeltisidir. K/H tampon çözeltisi 37 ^{o}C de 7,4 pH ya sahip içerisinde 118,5 mM Sodyum Klorür (NaCI), 25 mM Sodyum Bikarbonat

(NaHCO), 4,7 mM Potasyum Klorür (KCI), 1,2 mM Magnezyum Sülfat ($MgSO_4$), 1,2 mM Fosfor (PO_4^-), 11 mM Glikoz ($C_6H_{12}O_6$) ve 2,5 mM Kalsiyum Klorür (CaCI) içeren bir tamponize çözeltidir (Bell, Mocanu ve Yellon, 2011). Oluşturulan K/H çözeltisi sabit vücut sıcaklığında tutulur ve içeriğindeki gaz oranı da %95 oksijen ve %5 CO_2 karışımından oluşur.

Langendorff düzeneği basit teknikler kullanarak fizyolojik ölçümlerin yapılmasına olanak tanır. Kalp hızı, sıcaklık, ventrikül basınçları, elektrokardiyogram ve koroner akış bunların başında gelmektedir.

Langendorff sistemi için aort basıncı koroner kan akımının sağlandığının ya da sağlanmadığının bir göstergesidir. Langendorff düzeneğinin sağlamış olduğu bu yöntemle düşük veya yüksek aort basıncı gibi oluşabilecek dış faktörlerin I/R hasarına etkilerin ölçümünde büyük kolaylık sağlar (Ertuna *vd.*, 2013). Bunun yanı sıra aynı zamanda yüksek kalp hızı I/R hasarı nedeni ile oluşabilecek olan değişikliklerin ölçümünde kullanılmaktadır.

Langendorff sistemi bize Sol Ventrikül Basıncı (SVB)'nın ölçülmesine olanak sağlar. SVB ölçümleri iskemi sonrası miyokard hasarının belirlenmesinde kullanılan bir değişkendir. İskemi öncesi ve sonrasında ölçülen SVB değerinin iskemi sonrası değerinin iskemi öncesine oranla düşük olması miyokardın iskemiden ne derece etkilendiğini gösterir. Bu nedenle I/R hasarının boyutunun belirlenmesinde SVB'nın ölçülmesi son derece önemlidir.

2.5.4 Araştırmanın Amacı

Bu araştırmanın amacı propolisin iskemi-reperfüzyon hasarını önlemede etkili olup olmadığını ve öyle ise bu etkiyi antioksidan mekanizmalarlamı gösterdiğini araştırmaktır.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Deney Hayvanları ve Deney Ortamı

Yapılan çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezinde, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu (Etik Kurul Karar No**:** 2019/01-06) onayı ile gerçekleştirildi.

Yaptığımız çalışmada 230-300 gr ağırlığında 32 adet Wistar albino türü dişi sıçan kullanıldı. Deney süresince denekler 20±2°C sabit oda sıcaklığında, nem oranı %50 ve 12 saatlik gece-gündüz döngüsüne sahip laboratuvarda takip edildi. Deneklerin beslenmesi için standart yem ve musluk suyuna ek olarak araştırmacı tarafından gavaj olarak deneklerin midesine oral propolis, Vitamin E ve plesebo uygulandı.

3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Ratlar rastgele her biri 8 denekten oluşan 4 gruba ayrıldı. Gruplar;

1) Oral Propolis Grubu: Bu grupta oral propolisin deneklere etkin ve eşit şekilde uygulandığından emin olunmak için oral propolis gavaj yoluyla her bir deneğe bizzat araştırmacı tarafından 21 gün süre ile uygulanmıştır. Kaz Dağları'nın endemik bitki türlerinden elde edilen propolis (Propolis Damla 350 mg/mL, İdapolis Arı Ürünleri, Çanakkale, Türkiye) 200 mg/kg dozunda 1:1 oranında Serum Fizyolojik (SF) ile karıştırılarak verildi.

2) Vitamin E Grubu: Bu grupta gavaj yoluyla 21 gün süreyle E Vitamini (EVİGEN®, 2 ml ampul, Aksu Farma Tıbbi Ürünler İlaç Sanayi ve Tic. Ltd. Şti, Türkiye) 100 mg/kg dozunda 1:1 oranında SF ile karıştırılarak verildi.

3) Kontrol Grubu: Bu grupta gavaj yoluyla 21 gün süreyle aynı hacimde sadece (SF) uygulandı.

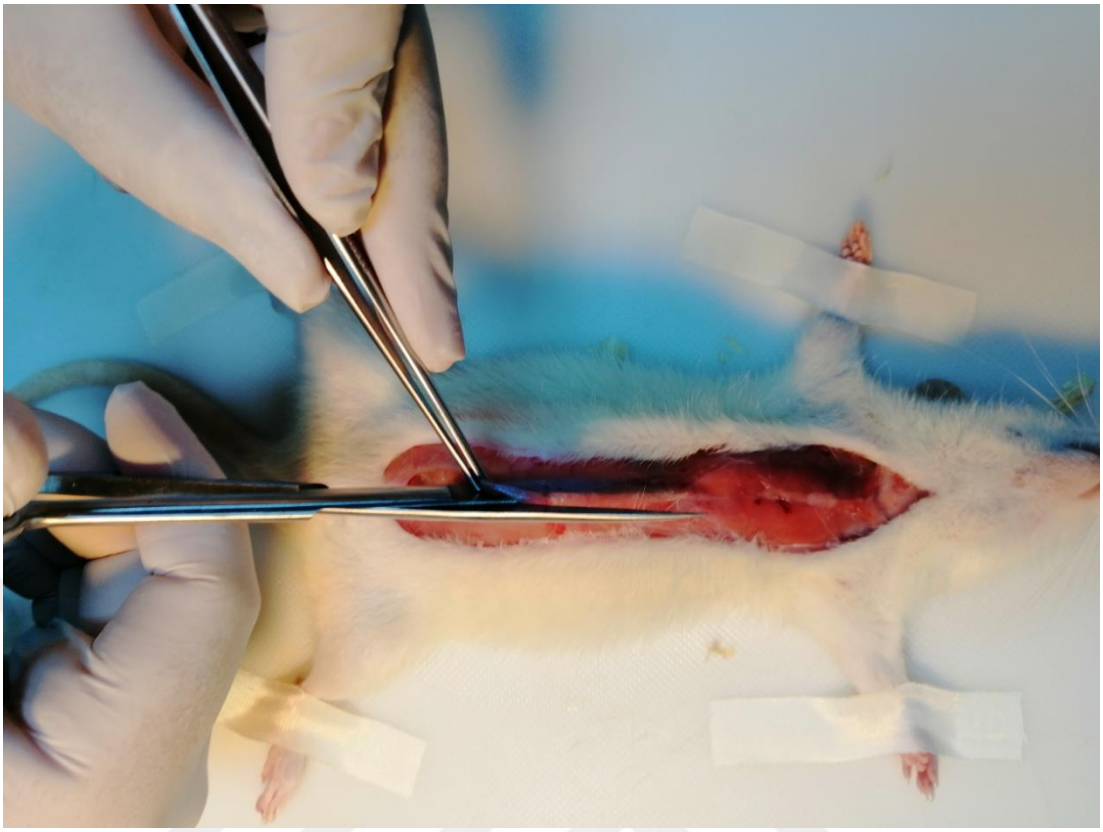
4) Sham Grubu: Bu grupta gavaj uygulanmadı. 21 gün süreyle ad libitum beslendi.

Tüm gruplarda 21 günlük süreli gavaj süresi tamamlandıktan sonra deney aşamasına geçildi. Deneklerin kalbi eksize edilerek Langendorff düzeneğine asıldı. Propolis, vitamin E ve kontrol gruplarında stabilizasyon, kardiyoplejik arrest ve iskemi, reperfüzyon basamakları uygulandı. Sham grubunda ise sadece perfüzyon uygulandı.

3.3. Kalp Eksizyonunun Gerçekleştirilmesi

Deneklerin 21 günlük benlenme sürelerinin ardından kalp eksizyonu için hazırlandı ve her bir denek anestezi öncesi elektronik tartı ile ağırlık ölçümüne tabi tutuldu. Her denek intramüsküler enjeksiyon yoluyla 5- 10 mg / kg ksilazin (%2 Xylazinbio ®) ve 80 mg/kg ketamin (%10 Ketasol®) ile anestezi altına alındı.

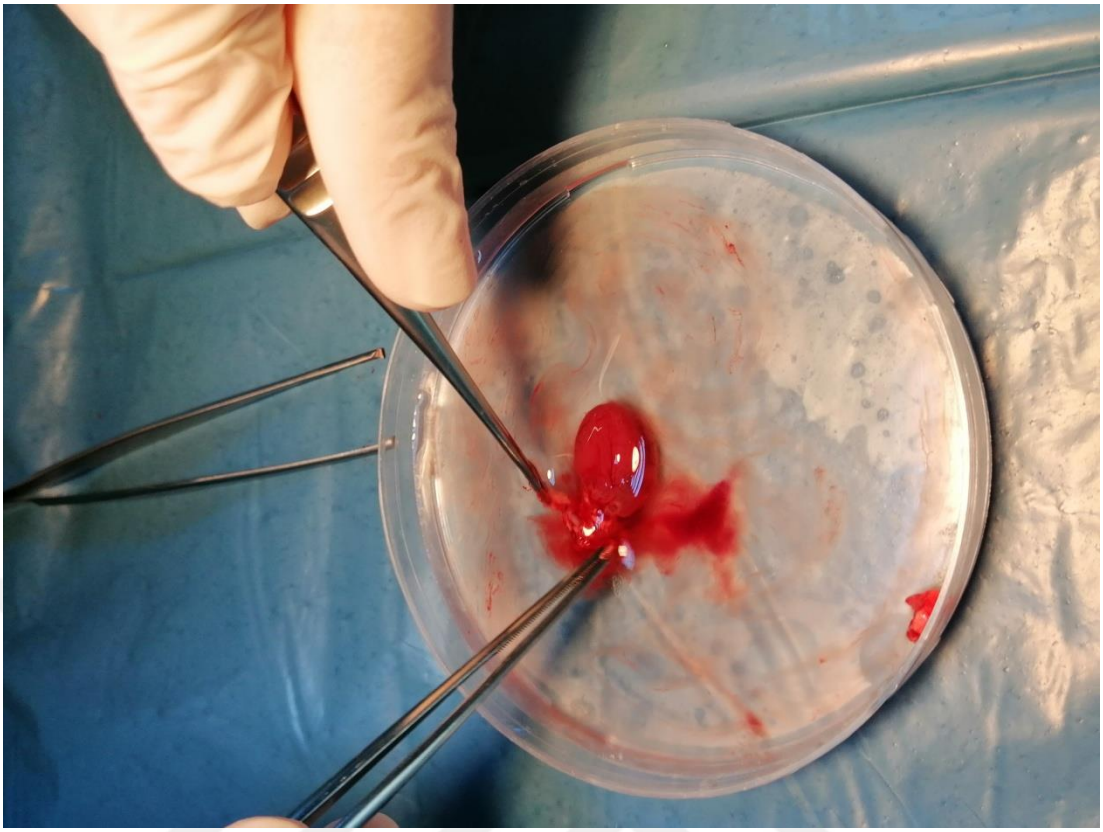
Anestezi uygulanan denekler ameliyat masasına sırt üstü yatırılarak dört ekstremite ve kuyruktan sabitlendi. Ardından karın bölgesinden kesiye başlanarak göğüs bölgesine kadar açıldı (Resim 1). Diyafram görüldü ve kesilerek kaburgalardan ayrıldı, kaburgalar da kesilerek çıkartıldıktan sonra göğüs boşluğu genişletildi (Resim 2). Koagülasyonu sağlama açısından 250'u/kg'dan inferior vena kavadan (IVC) deneğin işlem öncesi ağırlığına göre hesaplanarak heparin (Poliparin®, 5ml/25000 IU flakon, Polifarma İlaç Sanayi ve Tic. A.Ş., Türkiye) uygulandı. Ardından perikard açılarak hassas penset ve makas yardımı ile asendan aort bulunarak kalp hızlıca eksize edildi. Laboratuvarda hazırlanan 40 ml buz soğukluğundaki Krebs-Henseleit (K/H; pH 7,4) solüsyonuna daldırıldı (resim 3) ve kalpler aort vasıtasıyla Langendorff cihazına (May LS 09, Commat Ltd., Türkiye) monte edilmek üzere hazırlandı.



Resim 1 Tespit edilmiş ve karın bölgesinden kesiye başlanmış olan denek.

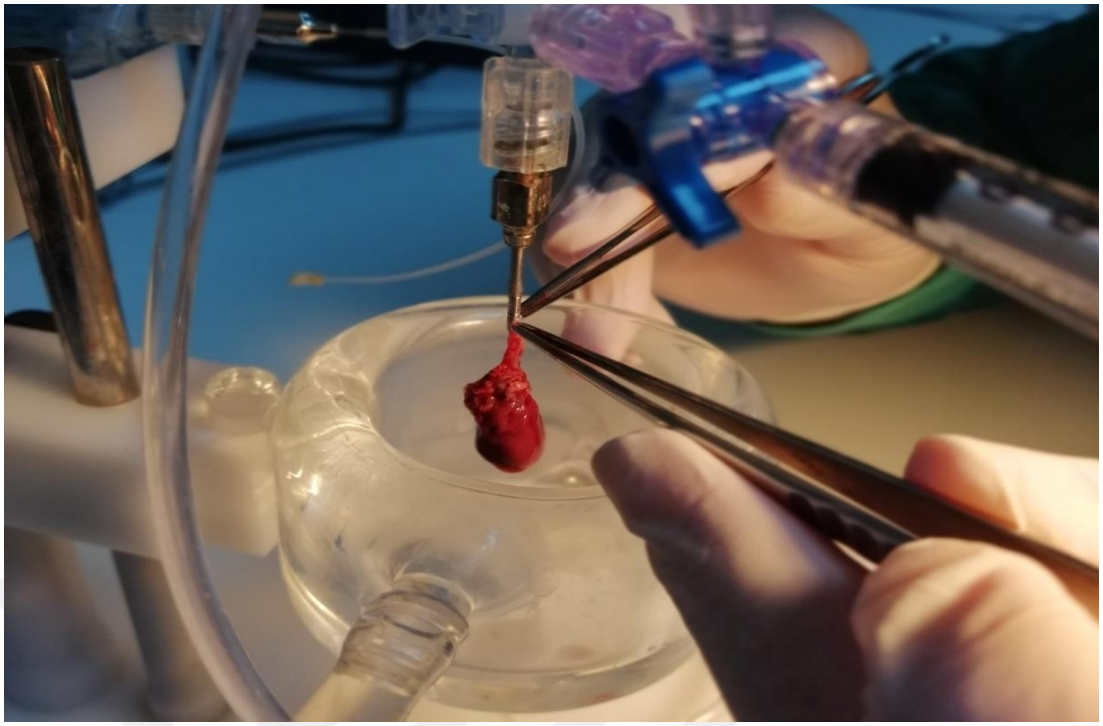


Resim 2. Eksizyon aşaması için güğüs boşluğu tamamen açılmış denek.

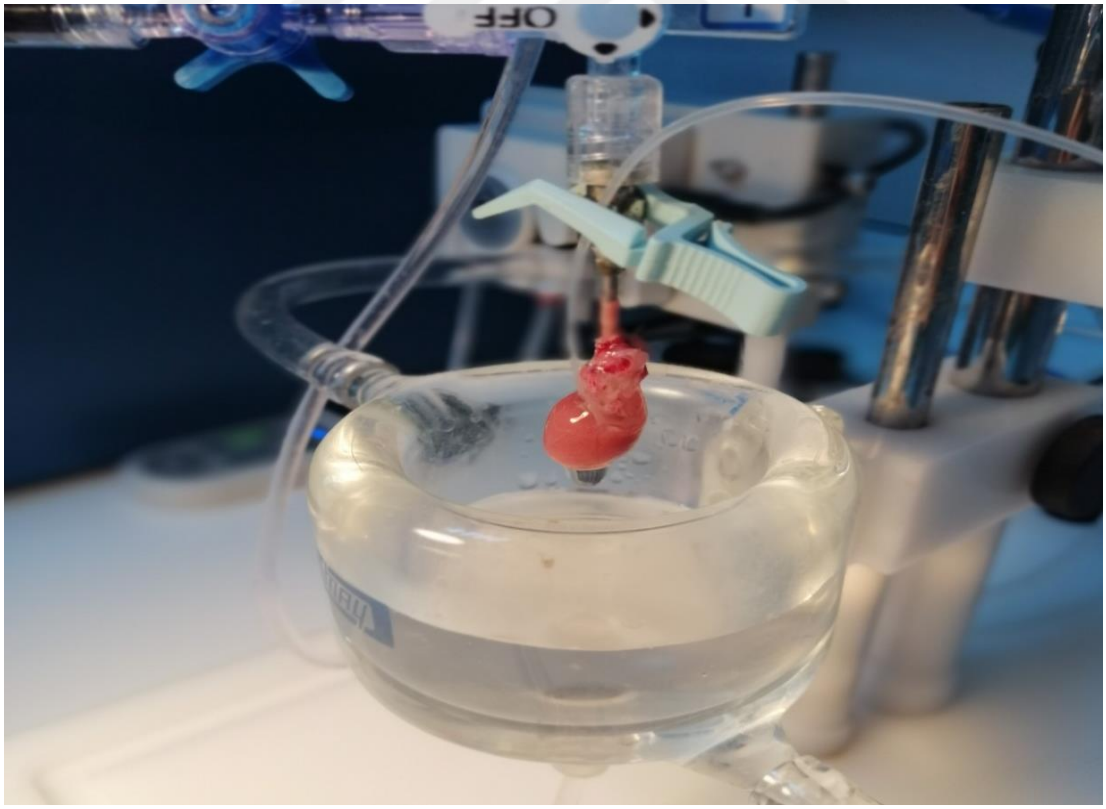


Resim 3. Eksizyon sonrası soğuk K/H solüsyonuna daldırılan kalp.

Eksizyon sonrası soğuk kreps solüsyonuna alınan kalp 1 dakika dan hızlı bir şekil de asendan aortası bulunarak aort kökünden perfüze olacak şekilde Langendorff düzeneğine asıldı ve kreps solüsyonu ile perfüze edilmeye başlandı. (Resim 4). Asendan aort stabilizasyonu sonrası oluşan perfüzyon basıncı ortalaması 60±10 mmHg Aort Basıncı (AB) değerine eşit olacak biçimde perfüzyon basıncı ayarlandı. Langendorff sistemine asılan ve stabilizasyonu sağlanan kalbin sol atriyum apendikulasının açılmak sureti ile atriyuma girilip mitral kapak geçilerek sol ventriküle ulaşıldı. Sol ventrikülün basıncının ölçüle bilmesi için ventrikül içerisine açılan yoldan bir adet balon yerleştirildi. Ventrikül içerisine yerleştirilen balonun içerisinde hava olmayacak ve ventrikülü tam kaplayacak şekilde şişirildi. Ventrikül içi basınç 10±2 olacak şekilde ayarlandı ve perfüzyon süresi boyunca sabit kalması sağlandı. Tam stabilizasyon ve ölçümler sol ventrikül basınç kateterinin yerleştirilmesinin ardından başlatıldı (Resim 5).



Resim 4. Langendorff düzeneğine asım aşamasında olan kalp.



Resim 5. Langendorff düzeneğine asılmış ve stabilizasyonu tamamlanmış kalp.

3.4. Langendorff Sisteminin Başlatılması ve Deneyin Sürdürülmesi

Sistem içerisinde perfüzyon döngüsünün sağlanması için günlük olarak K/H sıvısı hazırlandı. Distile su içine 0,34 mg/lt KCL, 6,9 mg/lt NaCL, 0,19 KH_2PO_4, 2,10 mg/lt $NaHCO_3$, 2,18 mg/lt Glukoz, 0,30 mg/lt $MgSO_4$ ve 0,21 mg/lt $CaCL_2$ (Sigma Aldrich® ABD) tuzları eklenerek K/H solüsyonu 37 ^oC de manyetik karıştırıcıda pH 7,4 olacak şekilde günlük hazırlandı. Solüsyonun asidik durumunda $NaHCO_3$, bazik durumunda ise HCL eklenerek pH 7,4 değeri Hanna HI 9124 pH metre kullanılarak sağlandı. Oluşturulan K/H solüsyonu Langendorff düzeneğine eklendikten sonra tüm sistemin havası prime yapılarak çıkartıldı ve solüsyonun ısı değeri langendorf düzeneğine bağlı ısıtıcı-soğutucu cihazı ile 37 ^oC de sabit tutuldu.

Sham grubu hariç diğer gruplarda kalpler ilk 30 dakika K/H tamponu ile sürekli perfüze edildi (stabilizasyon süresi). Ardından kardiyak arrest kardiyopleji ile sağlandıktan sonra kalp 45 dakika boyunca iskemi bırakmak için K/H perfüzyonu kesildi. 45 dk lık istemi süresince deneklere iskeminin 25. Dk sında ek doz kardiyopleji uygulandı ve toplamda 45 dakikalık iskemi sonrası, 30 dakika boyunca K/H tamponu ile reperfüzyon sağlandı. Kalpler, 37° C'de %95 O2 ve %5 C02 ihtiva eden K/H tamponu ile sabit basınçta (75 mmHg) perfüze edildi. Bu şekilde her grup istisnasız şekilde 115 dk Langendorff sistemine tabi tutuldu.

3.5. Kardiyoplejik Arrestin Sağlanması

Çalışmada kardiyopleji solüsyonu olarak hazır halde bulunan Plegisol (Plegisol, Pfizer®, ABD) kullanıldı. Kullanıma hazır olan Plegisol her denek için 20 mg/kg olacak şekilde ağırlık hesabına göre ayarlandı. Langendorff düzeneğinde asılı olan kalbin aort köküne kanülasyon için kullanılan kanülün üzerine üç yollu musluk adapte edildi. Perfüzyon akışının yan yolu üzerine kardiyopleji enjektörü takıldı. Perfüzyon akışı engellenerek önceden hesaplanan kardiyopleji dozu aort kanül vasıtası ile koroner sinüslerden perfüze edilmek ile birlikte arrest sağlandı, 45 dk iskemi süresinin 25. dk sında ek doz olarak 10 mg/kg lık Plegisol uygulandı.

3.6. Biyokimyasal Ölçümlerin Yapılması İçin Numune Toplanması ve Ölçümü

Her grup için toplanan numuneler 30 dk boyunca sağlanan perfüzyonun koroner atık sularından alındı. Numuneler stabilizasyon sonrası sağlanan perfüzyon süresinin son 5 dakikasında korner atık suyundan alınırken ikinci numune örnekleri de uygulanan iskemi sonrası reperfüzyon sürecinin son 5 dakikasından toplandı. Alınan numuneler Eppendorf tüplerine 1,5 cc olacak şekilde kondu ve tüpler numune alınımın ardında gün içerisinde -20 ^{o}C tüm numuneler alındıktan sonra da -80 ^{o}C de muhafaza edildi. Her bir örnek için kodlanan isimler Eppendorf tüplerine yazıldı (Resim 6).

Alınan numunelerinin hepsinin ölçümü Baran Medikal San. Tic. Ltd. Şti. tarafından gerçekleştirildi. Ölçümler Relassay (Relassay® Türkiye) kitleri ile Mindray BS300 (Mindray® Türkiye) cihazı ile tam otomatik olarak çalışıldı. TAS testinin çalışma protokolü; Otomatik cihaz tarafından Reaktif 1'den 300 µL alındı, numuneden 18 µL alındı. Ardından küvet içinde karıştırılıp 30 saniye sonra ilk okuma 660 nm yapıldı. Ardından reaktif 2'den 45 µL karıştırıldı ve inkübatörde 5 dakika bekletilip ikinci okuma 660nm yapıldı. TOS testinin çalışma protokolü ise; Otomatik cihaz tarafından Reaktif 1'den 300 µL alındı, numuneden 45 µL alındı, ardından küvet içinde karıştırılıp 30 saniye sonra ilk okuma 530nm yapıldı. Ardından reaktif 2'den 15 µL karıştırıldı ve inkübatörde 5 dakika bekletilip ikinci okuma 530 nm yapıldı. TAS testi mmol/L biriminde, TOS testi µmol/L biriminde sonuçlar elde edildi. OSI hesaplandı.

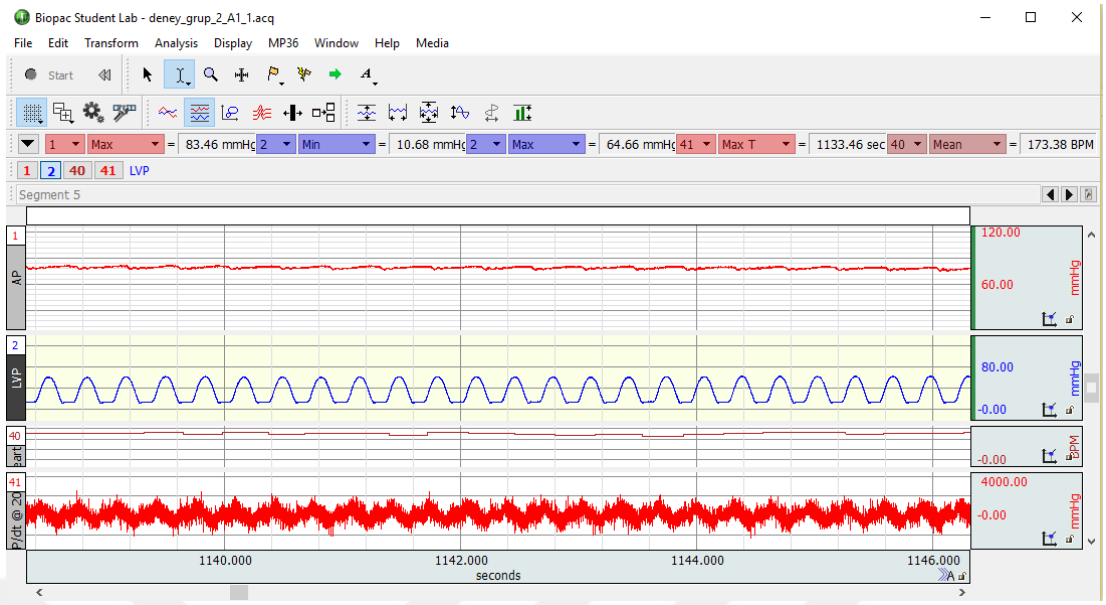
Tiyol protokolü Erel ve Neselioğlu tarafından geliştirilen ve ticari olarak temin edilebilen yeni bir otomatik ve spektrofotometrik yöntem kullanılarak ölçüldü (Rel Assay Diagnostics, Türkiye). Bu yöntemde, numunelerdeki dinamik ve indirgenebilir disülfür bağları sodyum bromhidrik kullanılarak serbest fonksiyonel tiyol gruplarına indirgendi. Kullanılmayan indirgenmiş sodyum borohidritin ditiyonit-2 nitrobenzoik (DTNB) 'ye indirgenmesini önlemek için NaBH4 formaldehit ile çıkarıldı. DTNB ile reaksiyondan sonra doğal tiyol (NTL) ve toplam tiyol (TTL) seviyeleri belirlendi ve ölçüldü. Doğal tiyol miktarının toplam tiyol içeriğinden çıkarılmasıyla elde edilen sonucun farkının yarısı disülfid (DS) seviyesini gösterdi.



Resim 6. Eppendorf tüplerine kodlanan numuneler.

3.7. Hemodinamik Ölçümlerin Kaydedilmesi

Kalp hızı, sol ventrikül basıncı, aort basıncı gibi hemodinamik öneme sahip ölçümler veri toplama ve değerlendirme sistemi (Biopac MP36, BİOPAC® Systems Inc, Goleta, ABD) cihazı kullanılarak yapıldı. Ölçümler deneklerin Langendorff'a asılması ve stabilizasyonun sağlanmasından sonra başladı ve perfüzyon sürecinin sonuna kadar kaydedildi (Resim 7).



Resim 7. Hemodinamik Ölçümlerin Kaydedilmesi.

3.8. İstatistiksel Yöntem

İstatistiksel analizler Jamovi Versiyon 1.1.9.0 (The Jamovi Project, https://www.jamovi.org) istatistik programı kullanılarak yapıldı. Tamamı numerik olan veriler ortalama ve standart sapma olarak ifade edildi. SVB, sistol ve diyastol sonu SVB farkı şeklinde tanımlandı. OSI, nativ tiyol/total tiyol oranı, disülfit/nativ tiyol oranı ve disülfit/total tiyol oranları hesaplandı. Gruplar arası kıyas Kruskal-Wallis testi kullanılarak yapıldı. Post Hoc analiz Dwass-Steel-Critchlow-Fligner eşleşmeli kıyası ile sağlandı. İskemi öncesi ve sonrası ölçülen değerlerin kıyası Wilcoxon eşleştirilmiş örnek testi kullanılarak gerçekleştirildi. Veriler arasındaki korelasyonun analizi için Spearman korelasyon analizinden faydalanıldı. İstatistiksel anlamlılık %95 güven aralığında $p<0,05$ olarak kabul edildi.

4.BULGULAR

4.1.Biyokimyasal Veriler

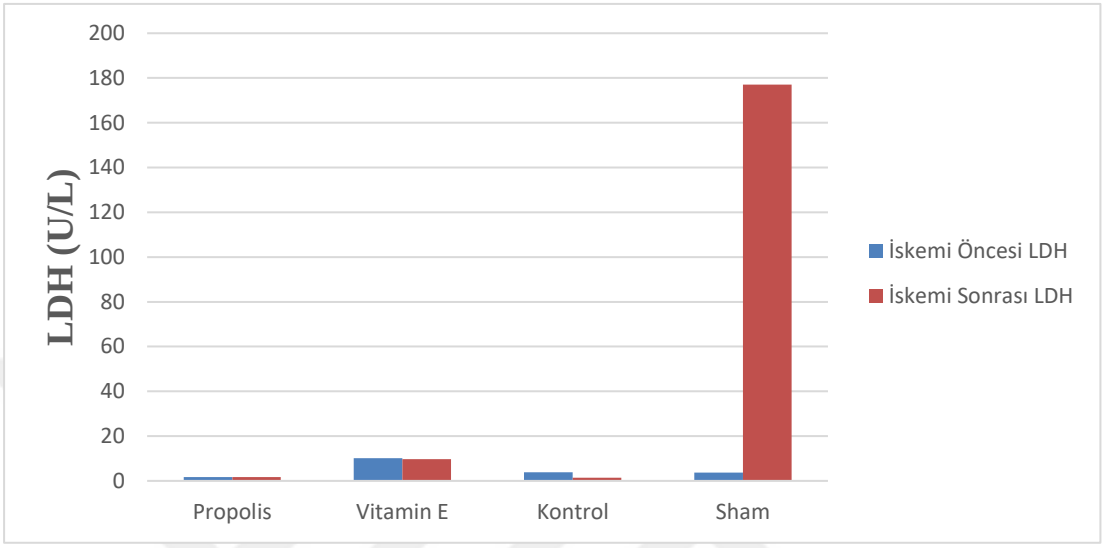
LDH, CK, CK-MB ve Troponin I verilerin ortalamaları ve standart saplamaları tablo halinde sunulmuştur (Tablo 1).

Tablo 1: Biyokimyasal parametrelerin iskemi öncesi ve iskemi sonrası ortalama ve standart sapma değerlerinin gruplara kıyaslanması.

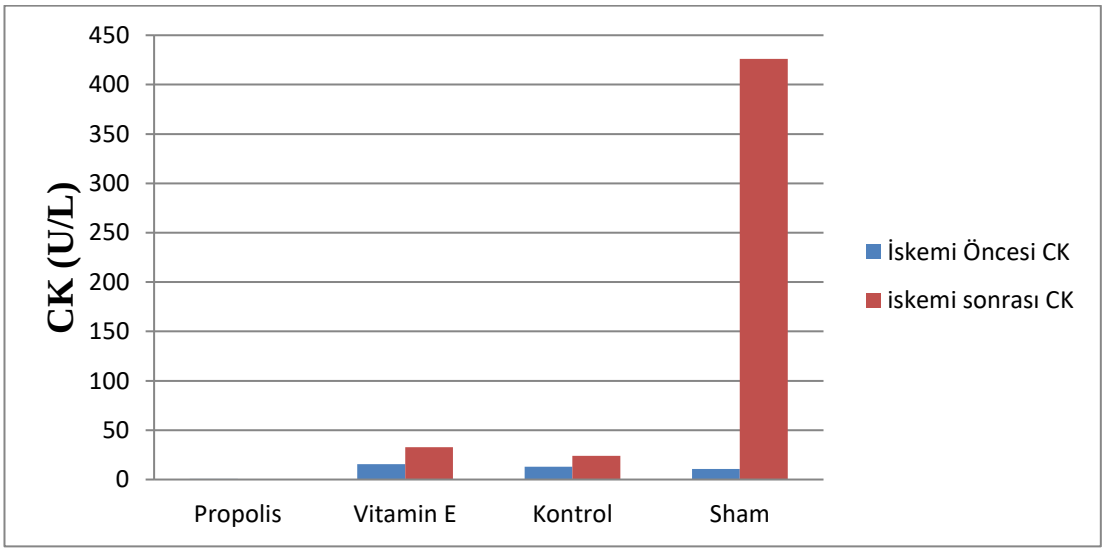
Değişken	Birim	Propolis	Vitamin E	Kontrol	Sham	p
CK-1	U/L	0,8±0,51	15,46±39,84	13,06±23,06	10,83±20,08	0,522
CK-2	U/L	0,28±0,4	32,84±75,97	24,01±22,81	426,05±814,84	0,073
CKMB-1	U/L	0,58±0,3	5,21±12	4,5±6,21	4,19±6,2	0,366
CKMB-2	U/L	0,62±0,35	7,56±14,58	8,2±6,41	77,83±148,22	0,054
LDH-1	U/L	1,77±0,82	10,15±24,59	3,91±4,11	3,66±7,03	0,31
LDH-2	U/L	1,68±0,88	9,78±18,32	1,38±0,9	177,08±261,62	0,195
TnI-1	ng/mL	0,17±0,06	0,26±0,28	0,24±0,17	0,83±1	0,244
TnI-2	ng/mL	4,36±10,11	1,64±4,15	1,52±1,3	6,81±11,25	0,142

CK-1: İskemi Öncesi CK düzeyi, CK-2: İskemi sonrası CK düzeyi, CK-MB-1: İskemi Öncesi CK-MB düzeyi, CK-MB-2: İskemi Sonrası CK-MB düzeyi, LDH-1: İskemi Öncesi LDH düzeyi, LDH-2: İskemi Sonrası LDH düzeyi, TnI-1: İskemi Öncesi TnI düzeyi, TnI-2: İskemi Sonrası TnI düzeyi.

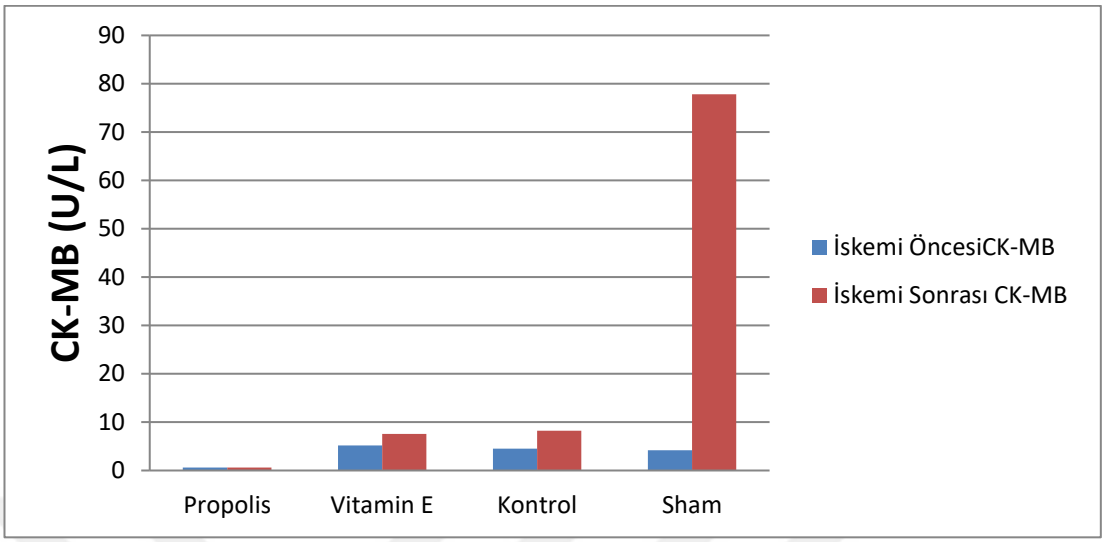
İskemi öncesi ve sonrasının LDH, CK, CK-MB ve TnI değerlerinin gruplara göre dağılımı sırası ile Grafik 1, 2, 3 ve 4'te sunulmuştur.



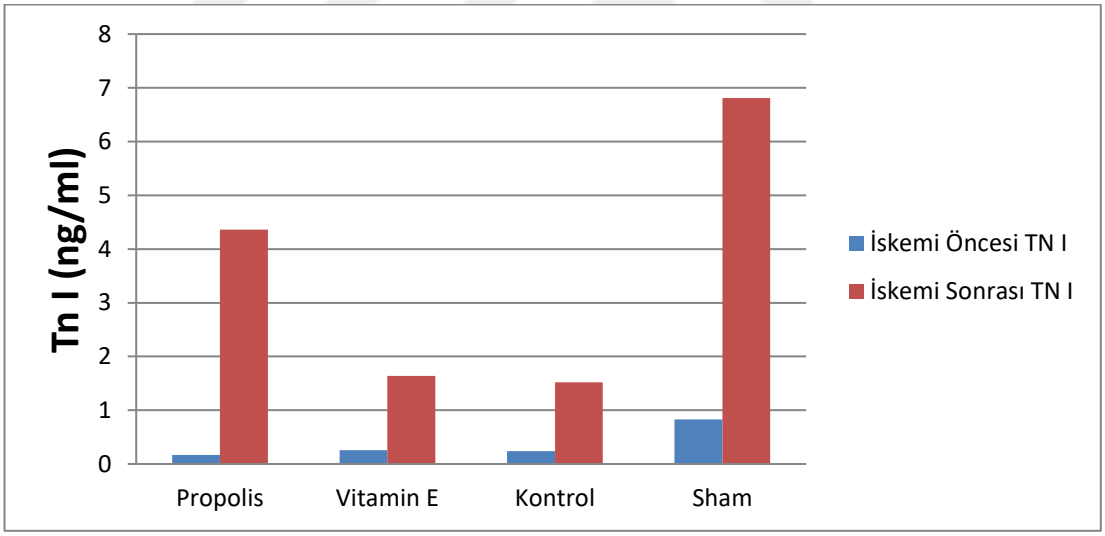
Grafik1: Gruplardaki LDH test sonuçları.



Grafik 2: Gruplardaki CK test sonuçları.



Grafik 3: Gruplardaki CK-MB test sonuçları.



Grafik 4: Gruplardaki TnI test sonuçları.

İskemi sonrası TnI 'nın iskemi öncesi NTL, NTL/TTL ve iskemi sonrası TAS ile negatif, DS/TTL ile pozitif yönde korele olduğu görülmüştür. İskemi sonrası LDH'ın ise iskemi öncesi TAS, iskemi öncesi NTL, NTL/TTL ve iskemi sonrası NTL ile negatif, DS/TTL ile pozitif yönde korele olduğu tespit edilmiştir.

Miyokardiyal hasar ve oksidatif stres belirteçleri arasındaki ilişkiler Tablo 2'de sunulmuştur.

Tablo 2: Biyokimyasal verilerin antioksidan sonuçları üzerine korelasyonu

	CK-2 (U/L)		**CKMB-2 (U/L)**		**LDH-2 (U/L)**		**TnI-2 (ng/mL)**	
	r	p	r	p	r	p	r	p
TAS-1 (mcmol/L)	0,094	0,620	0,039	0,837	-0,360	0,050	-0,312	0,093
TAS-2 (mcmol/L)	0,126	0,507	0,021	0,914	-0,250	0,182	-0,430	0,018
TOS-1 (mcmol/L)	-0,124	0,513	-0,036	0,849	0,067	0,724	0,013	0,945
TOS-2 (mcmol/L)	-0,095	0,616	0,079	0,680	0,270	0,148	0,109	0,565
OSI-1	-0,251	0,181	-0,124	0,514	0,308	0,098	0,201	0,287
OSI-2	-0,222	0,239	-0,050	0,793	0,272	0,146	0,351	0,057
TTL-1 (mcmol/L)	0,224	0,234	0,277	0,138	0,007	0,971	0,198	0,295
TTL-2 (mcmol/L)	0,267	0,154	0,315	0,090	0,042	0,826	0,231	0,219
NTL-1 (mcmol/L)	-0,103	0,587	-0,196	0,300	-0,403	0,027	-0,373	0,042
NTL-2 (mcmol/L)	-0,127	0,503	-0,149	0,431	-0,384	0,036	-0,328	0,077
NTL/TTL-1	-0,230	0,222	-0,313	0,093	-0,399	0,029	-0,469	0,009
NTL/TTL-2	-0,149	0,431	-0,191	0,311	-0,294	0,115	-0,355	0,055
DS-1 (mcmol/L)	0,257	0,171	0,321	0,083	0,114	0,547	0,293	0,117
DS-2 (mcmol/L)	0,269	0,151	0,314	0,091	0,090	0,638	0,313	0,092
DS/NTL-1	0,348	0,059	0,379	0,039	0,272	0,146	0,288	0,122
DS/NTL-2	0,149	0,431	0,191	0,311	0,294	0,115	0,355	0,055
DS/TTL-1	0,230	0,222	0,313	0,093	0,399	0,029	0,469	0,009
DS/TTL-2	0,149	0,431	0,191	0,311	0,294	0,115	0,355	0,055

r: korelasyon katsayısı, TAS-1: İskemi Öncesi TAS düzeyi, TAS-2: İskemi Sonrası TAS düzeyi, TOS-1: İskemi Öncesi TOS düzeyi, TOS-2: İskemi Sonrası TOS düzeyi, OSI-1: İskemi Öncesi OSI düzeyi, OSI-2: İskemi Sonrası OSI düzeyi, TTL-1: İskemi Öncesi TTL düzeyi, TTL-2: İskemi Sonrası TTL düzeyi, NTL-1: İskemi Öncesi NTL düzeyi, NTL-2: İskemi Sonrası NTL düzeyi, NTL/TTL-1: İskemi Öncesi NTL/TTL düzeyi, NTL/TTL-2: İskemi Sonrası NTL/TTL düzeyi, DS-1: İskemi Öncesi DS düzeyi, DS-2: İskemi Sonrası DS düzeyi, DS/NTL-1: İskemi Öncesi DS/NTL düzeyi, DS/NTL-2: İskemi Sonrası DS/NTL düzeyi, DS/TTL-1: İskemi Öncesi DS/TTL düzeyi, DS/TTL-2: İskemi Sonrası DS/TTL düzeyi, CK-2: İskemi Sonrası CK düzeyi, CK-MB-2: İskemi Sonrası BK-MB düzeyi, LDH-2: İskemi Sonrası LDH düzeyi, TnI-2: İskemi Sonrası TnI düzeyi.

4.2.Antioksidan Verilerin Değerlendirme Sonuçları

İskemi öncesi ve sonrası TAS, TOS, OSI, TTL, NTL ve DS düzeylerinin gruplara göre dağılımı Tablo 3'de sunulmuştur.

Tablo 3: Antioksidan sonuçlarının ortalama ve standart sapmalarının grup kıyası.

Değişken	Birim	Propolis	Vitamin E	Kontrol	Sham	p
TAS-1	mcmol/L	0,38±0,53	2,19±0,64	2,02±0,62	0,43±0,44	< ,001
TAS-2	mcmol/L	0,57±1,1	1,92±0,41	1,99±0,54	0,28±0,07	0,001
TOS-1	mcmol/L	0,39±0,18	0,44±0,15	0,33±0,14	0,44±0,14	0,322
TOS-2	mcmol/L	0,38±0,12	0,38±0,13	0,35±0,12	0,43±0,18	0,578
OSI-1		0,25±0,27	0,02±0,01	0,02±0,01	0,17±0,15	< ,001
OSI-2		0,53±0,56	0,02±0,01	0,02±0,01	0,16±0,07	0,001
TTL-1	mcmol/L	151±40,27	176,21±37,66	249,76±77,59	294,64±19,72	< ,001
TTL-2	mcmol/L	158,5±31,07	182,36±30,57	216,83±59,4	288,23±17,6	< ,001
NTL-1	mcmol/L	18,6±13,75	31,52±14,75	24,63±24,06	19,48±12,1	0,564
NTL-2	mcmol/L	18±13,8	33,41±19,74	22,83±11,49	14,88±10,71	0,224
NTL/TTL-1		0,13±0,09	0,2±0,13	0,11±0,11	0,06±0,04	0,102
NTL/TTL-2		0,12±0,09	0,19±0,12	0,12±0,1	0,05±0,03	0,033
DS-1	mcmol/L	66,2±23,14	72,35±23,34	112,57±39,72	137,58±7,54	< ,001
DS-2	mcmol/L	70,25±17,06	74,48±19,5	97±33,92	136,68±5,77	< ,001
DS/NTL-1		16,49±51,14	2,95±1,62	21,47±27,87	12,26±12,13	0,036
DS/NTL-2		10,17±13,19	3,29±2,32	5,82±4,35	18,74±21,72	0,033
DS/TTL-1		0,43±0,05	0,4±0,07	0,45±0,05	0,47±0,02	0,102
DS/TTL-2		0,44±0,05	0,4±0,06	0,44±0,05	0,47±0,02	0,033

r: korelasyon katsayısı, TAS-1: İskemi Öncesi TAS düzeyi, TAS-2: İskemi Sonrası TAS düzeyi, TOS-1: İskemi Öncesi TOS düzeyi, TOS-2: İskemi Sonrası TOS düzeyi, OSI-1: İskemi Öncesi OSI düzeyi, OSI-2: İskemi Sonrası OSI düzeyi, TTL-1: İskemi Öncesi TTL düzeyi, TTL-2: İskemi Sonrası TTL düzeyi, NTL-1: İskemi Öncesi NTL düzeyi, NTL-2: İskemi Sonrası NTL düzeyi, NTL/TTL-1: İskemi Öncesi NTL/TTL düzeyi, NTL/TTL-2: İskemi Sonrası NTL/TTL düzeyi, DS-1: İskemi Öncesi DS düzeyi, DS-2: İskemi Sonrası DS düzeyi, DS/NTL-1: İskemi Öncesi DS/NTL düzeyi, DS/NTL-2: İskemi Sonrası DS/NTL düzeyi, DS/TTL-1: İskemi Öncesi DS/TTL düzeyi, DS/TTL-2: İskemi Sonrası DS/TTL düzeyi.

Gruplar arası çoklu kıyas sonuçları Tablo 4'de sunulmuştur.

Tablo 4: Antioksidan mekanizmalarının Post-Hoc olarak gruplar arası kıyaslaması.

	Propolis Vitamin E	**Propolis Kontrol**	**Propolis Sham**	**Vitamin E Kontrol**	**Vitamin E Sham**	**Kontrol Sham**
TAS-1	0,016	0,016	0,606	0,86	0,007	0,009
TAS-2	0,165	0,165	0,333	1	0,004	0,004
OSI-1	0,023	0,011	0,98	0,836	0,012	0,009
OSI-2	0,165	0,165	0,27	0,953	0,004	0,004
TTL-1	0,651	0,093	0,011	0,19	0,004	0,306
TTL-2	0,336	0,213	0,011	0,589	0,004	0,032
DS-1	0,917	0,125	0,011	0,153	0,004	0,096
DS-2	0,955	0,408	0,011	0,334	0,004	0,057

TAS-1: İskemi Öncesi TAS düzeyi, TAS-2: İskemi Sonrası TAS düzeyi, OSI-1: İskemi Öncesi OSI düzeyi, OSI-2: İskemi Sonrası OSI düzeyi, TTL-1: İskemi Öncesi TTL düzeyi, TTL-2: İskemi Sonrası TTL düzeyi, DS-1: İskemi Öncesi DS düzeyi, DS-2: İskemi Sonrası DS düzeyi.

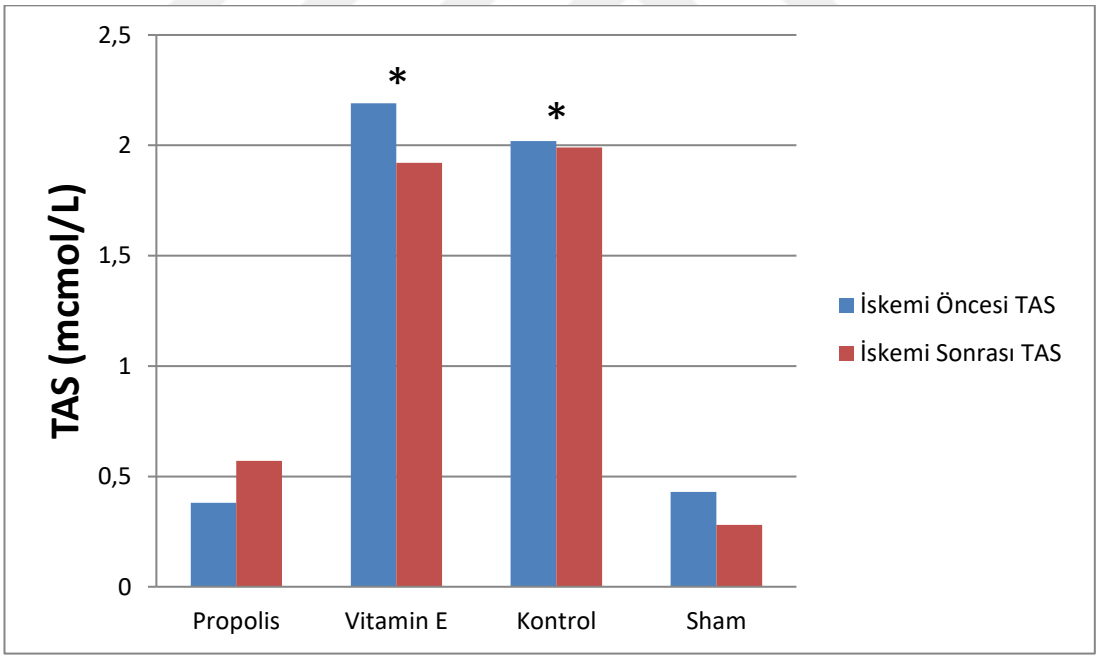
TTL, NTL ve DS düzeylerinin TAS, TOS ve OSI olan ilişkileri Tablo 5'te verilmiştir. TAS değerlerinin NTL ve NTL/TTL ile pozitif, DS, DS/NTL ve DS/TTL ile negatif yönde korele olduğu, OSI değerlerinin ise NTL/TTL ile negatif, DS, DS/NTL ve DS/TTL ile pozitif yönde korele oldukları görülmüştür.

Tablo 5: Antioksidan mekanizmalarının Disülfit, Total Thiol ve Native Thiol parametrelerine korelasyonu.

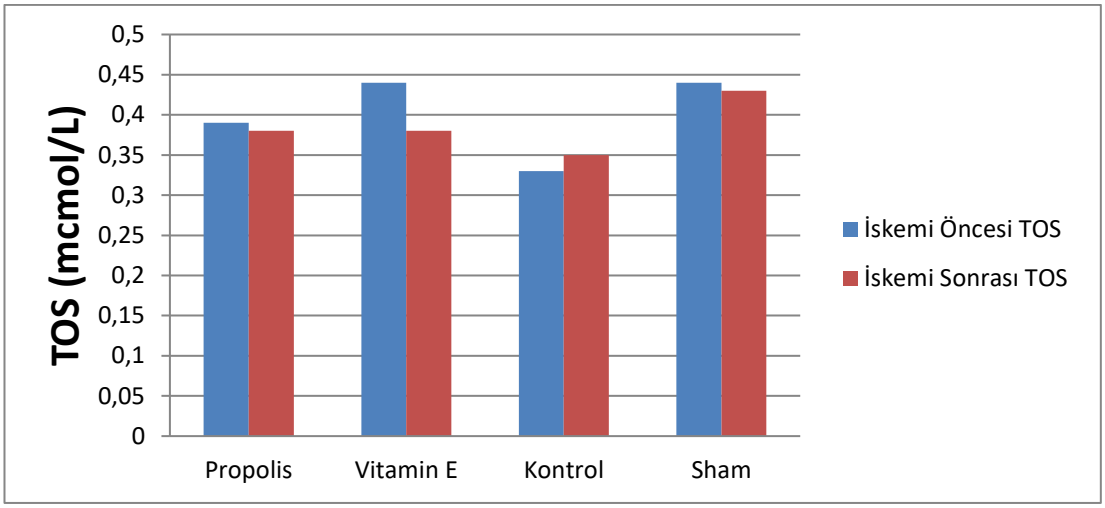
	TAS		TOS		OSI	
	r	**p**	**r**	**p**	**r**	**p**
TTL	-0,195	0,136	0,153	0,245	0,206	0,114
NTL	0,297	0,021	0,101	0,444	-0,201	0,124
NTL_TTL	0,360	0,005	0,025	0,850	-0,278	0,031
DS	-0,281	0,030	0,134	0,308	0,265	0,041
DS_NTL	-0,362	0,004	-0,025	0,849	0,282	0,029
DS_TTL	-0,356	0,005	-0,023	0,860	0,278	0,032

r: korelasyon katsayısı

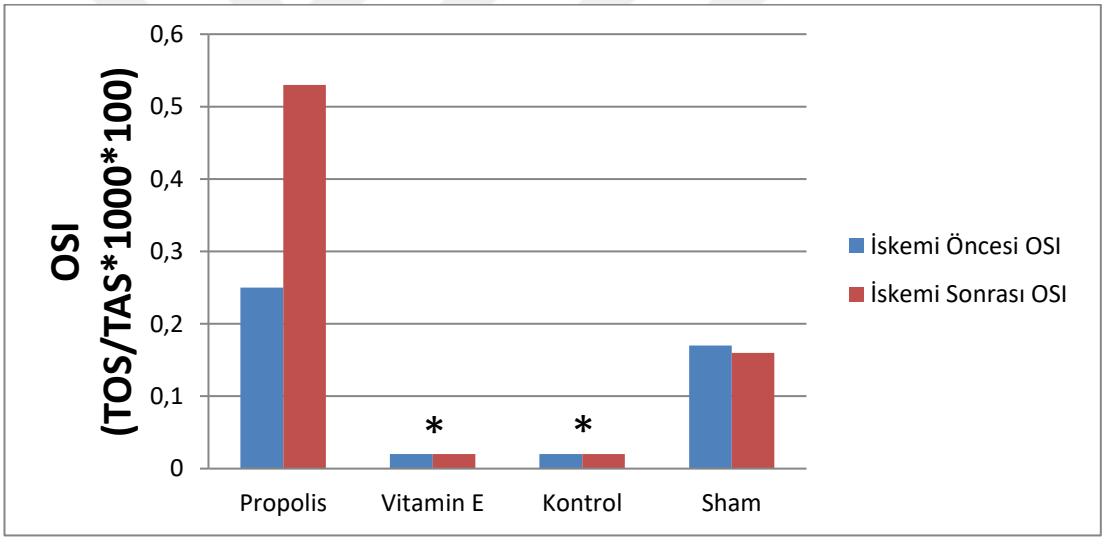
İskemi öncesi ve sonrası TAS, TOS, OSI, TTL, NTL, DS, DS/TTL, DS/NTL ve NTL/TTL değerlerinin gruplara göre dağılımları sırası ile Grafik 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 ve 13'de sunulmuştur.



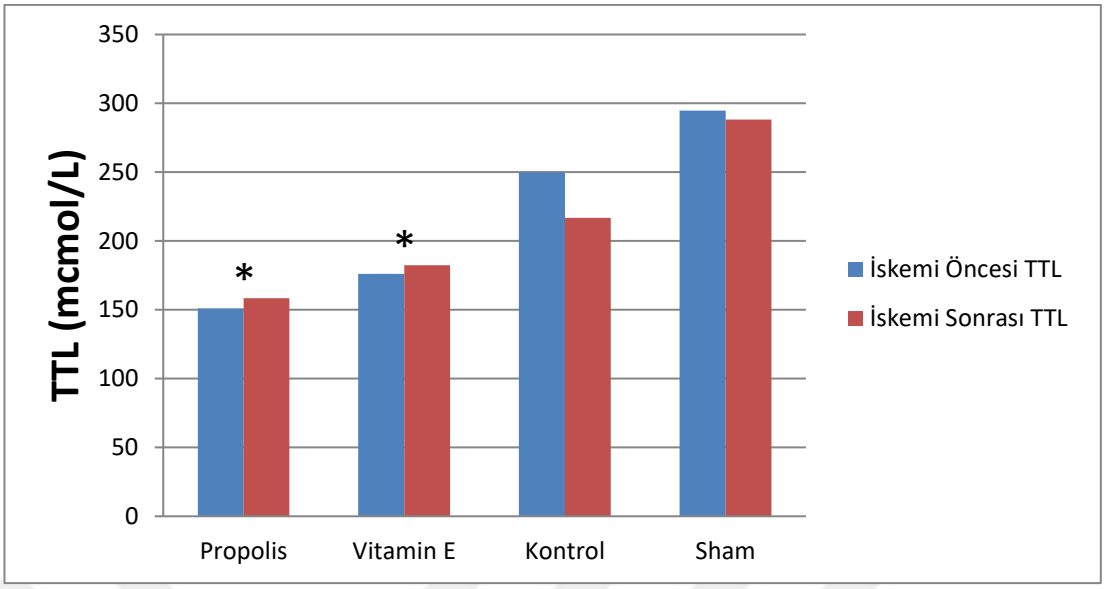
Grafik 5: Gruplardaki TAS test sonuçları (*: İstatistiksel anlamlı fark mevcut).



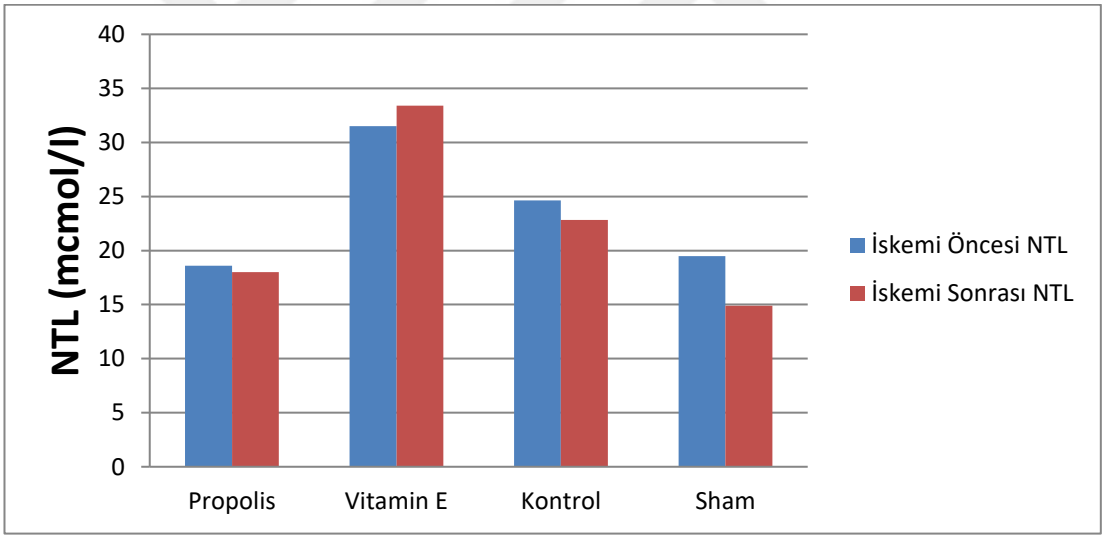
Grafik 6: Gruplardaki TOS test sonuçları.



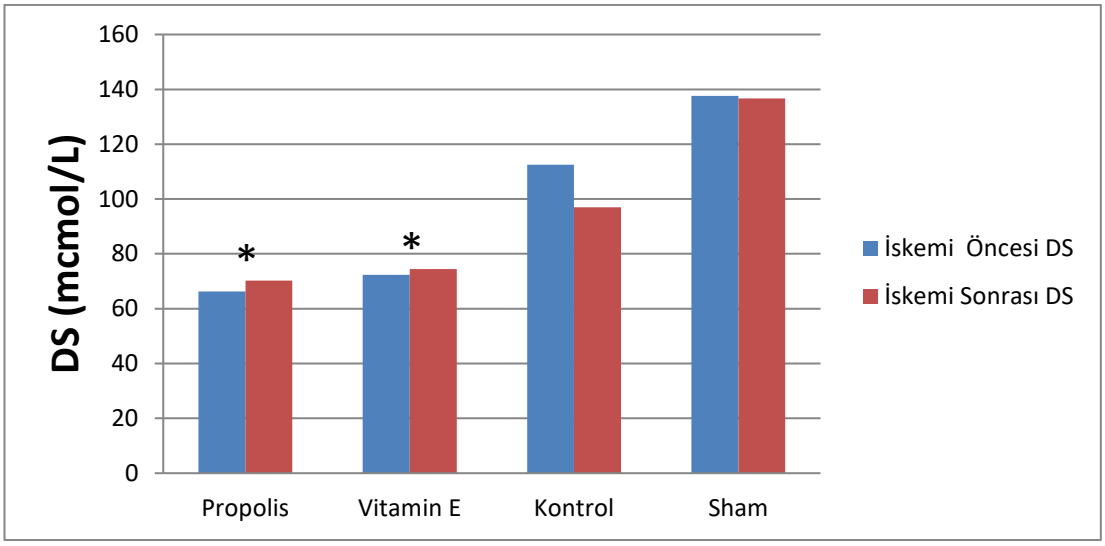
Grafik 7: Gruplardaki OSI test sonuçları (*: İstatistiksel anlamlı fark mevcut).



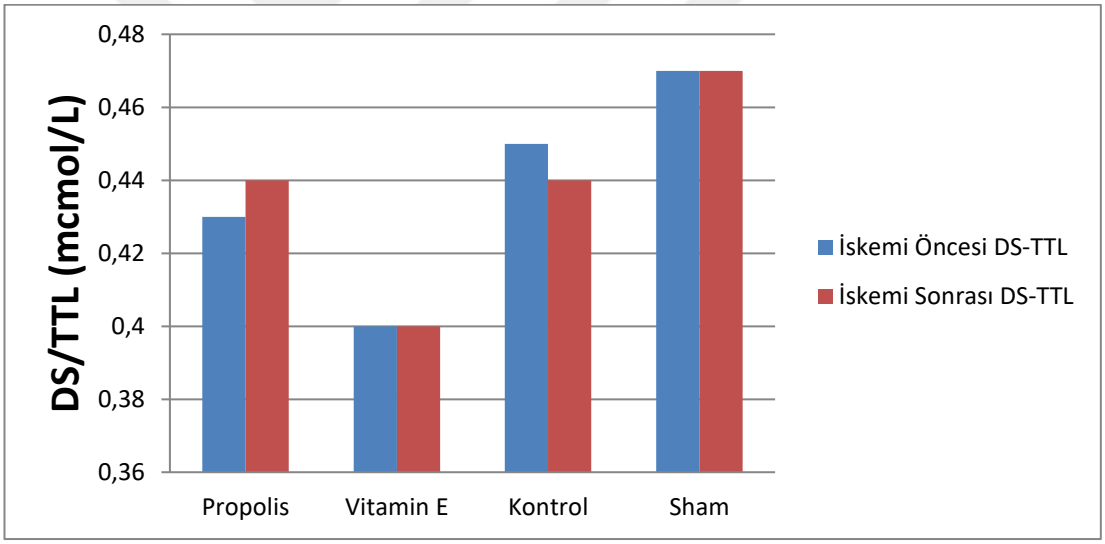
Grafik 8: Gruplardaki TTL test sonuçları (*: İstatistiksel anlamlı fark mevcut).



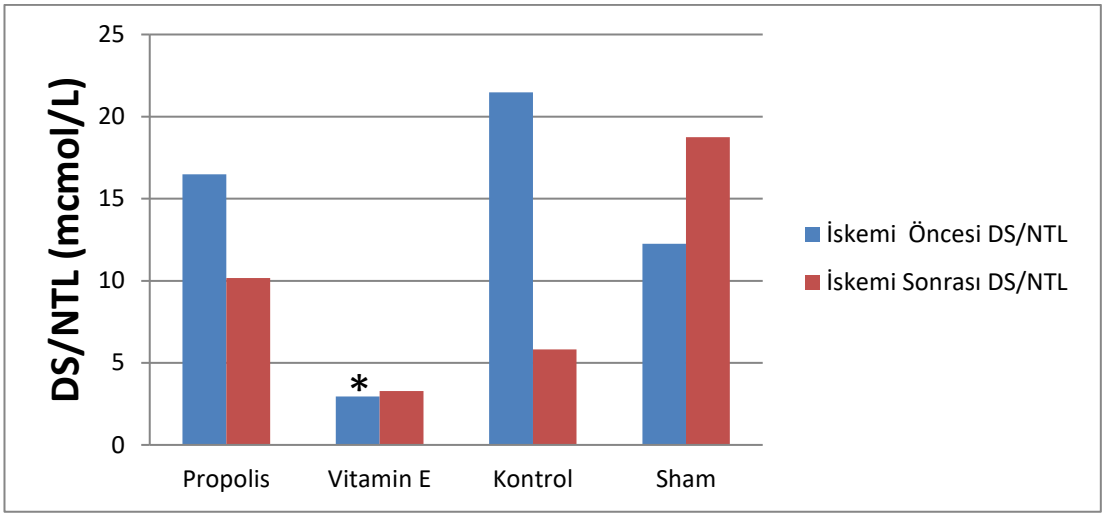
Grafik 9: Gruplardaki NTL test sonuçları



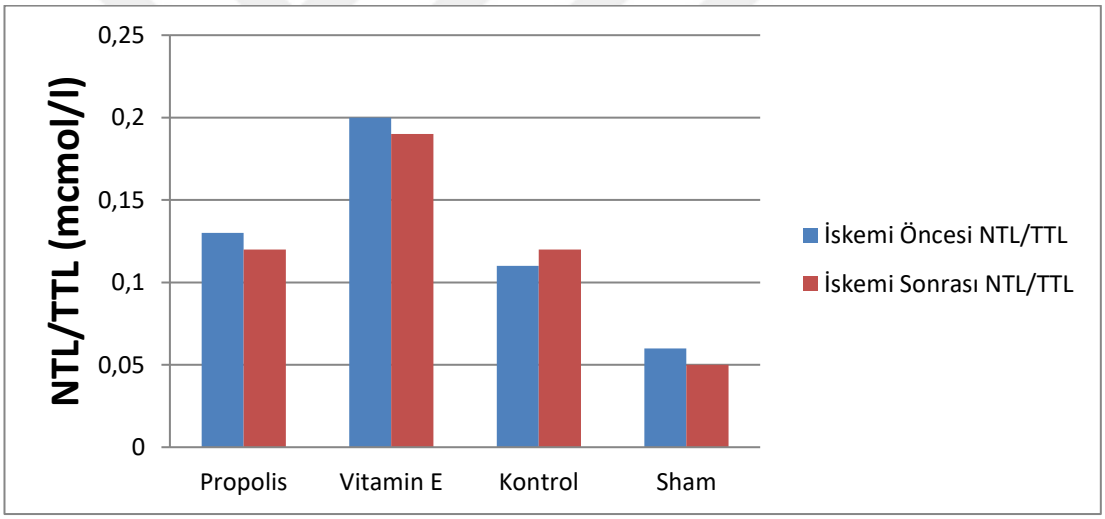
Grafik 10: Gruplardaki DS test sonuçları (*: İstatistiksel anlamlı fark mevcut).



Grafik 11: Gruplardaki DS/TTL oran sonuçları.



Grafik 12: Gruplardaki DS/NTL oran sonuçları (*: İstatistiksel anlamlı fark mevcut).



Grafik 13: Gruplardaki NTL/TTL oran sonuçları.

4.3Hemodinamik Verilerin Değerlendirme Sonuçları.

Hemodinamik veriler Tablo 6'de gösterilmiştir.

Tablo 6: Hemodinamik ölçümlerin ortalama ve standart sapmalarının grup kıyası.

Değişken	Birim	Propolis	Vitamin E	Kontrol	Sham	p
AB-1	mmHg	62,27±8,44	83,62±24,26	109,81±39,05	102,28±52,03	0,046
AB-2	mmHg	105,6±19,15	103,4±37,78	151,42±36,65	119,49±51,12	0,053
SVESB-1	mmHg	68,93±15,15	56,35±18,81	54,93±11,56	50,71±18,41	0,197
SVESB-2	mmHg	83,44±17,49	59,96±31,61	37,67±25,74	37,2±22,42	0,018
SVEDB-1	mmHg	10,8±1,95	14,23±4,66	16,47±6,68	19,17±13,69	0,122
SVEDB-2	mmHg	12,75±2,01	12,22±4,53	15,02±5,68	13,66±2,71	0,497
SVB-1	mmHg	58,13±16,1	42,12±17,41	38,45±15,78	31,54±14,04	0,04
SVB-2	mmHg	70,69±17,95	47,74±31,66	22,66±24,33	23,54±23,23	0,011
KH-1	/dk	166,42±8,36	154,08±8,89	163,12±11,31	148,59±15,72	0,029
KH-2	/dk	168,98±9	165,46±12,65	157,26±21,16	155,53±16,06	0,377

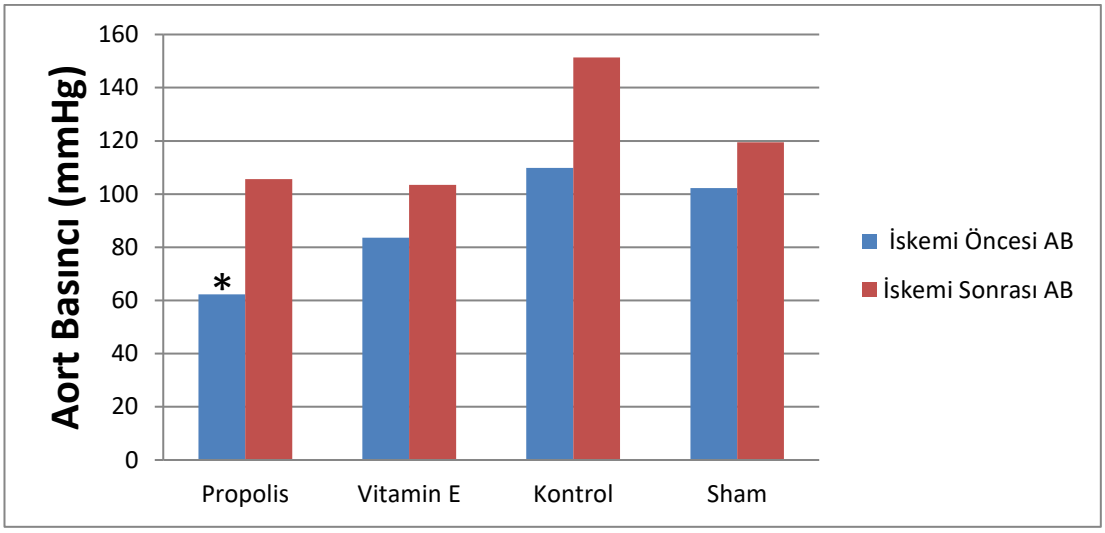
AB-1: İskemi Öncesi AB düzeyi, AB-2: İskemi Sonrası AB düzeyi, SVESB-1: İskemi Öncesi SVESB düzeyi, SVESB-2: İskemi Sonrası SVESB düzeyi, SVEDB-1: İskemi Öncesi SVEDB düzeyi, SVEDB-2: İskemi Sonrası SVEDB düzeyi, SVB-1: İskemi Öncesi SVB düzeyi, SVB-2: İskemi sonrası SVB düzeyi, KH-1: İskemi Öncesi KH düzeyi, KH-2: İskemi Sonrası KH düzeyi.

Tablo 7: Hemodinamik ölçümlerin gruplar arası Post-Hoc kıyaslanması

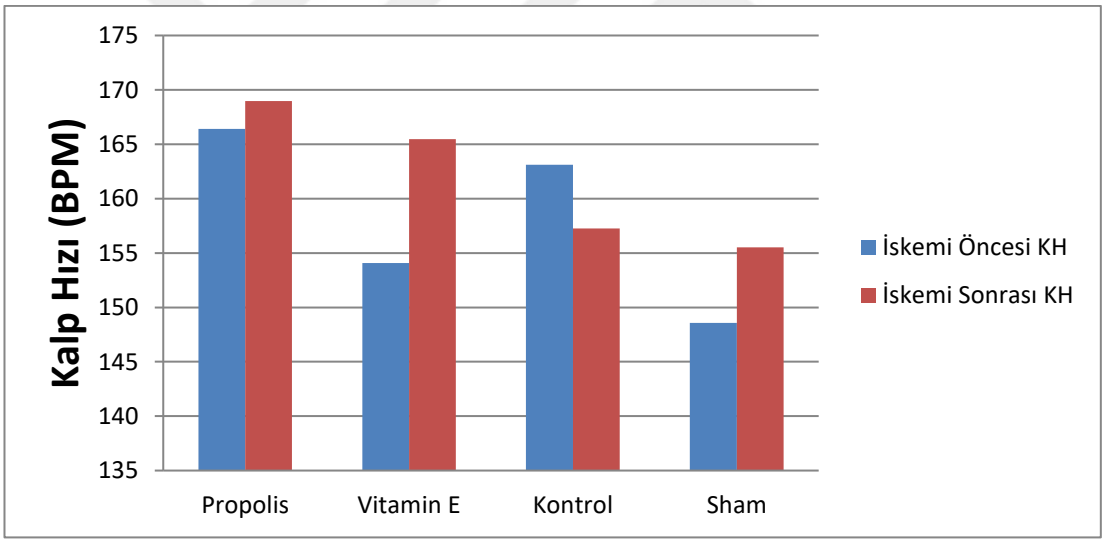
		Propolis	Propolis	Propolis	Vitamin E	Vitamin E	Kontrol
Değişken	**Birim**	**Vitamin E**	**Kontrol**	**Sham**	**Kontrol**	**Sham**	**Sham**
AB-1	mmHg	0,305	0,028	0,435	0,456	0,975	0,836
SVESB-2	mmHg	0,569	0,048	0,023	0,521	0,456	1
SVB-2	mmHg	0,487	0,048	0,023	0,28	0,393	1
KH-2	/dk	0,095	0,967	0,095	0,334	0,883	0,232

AB-1: İskemi Öncesi AB düzeyi, SVESB-2: İskemi Sonrası SVESB düzeyi, SVB-2: İskemi sonrası SVB düzeyi, KH-2: İskemi Sonrası KH düzeyi.

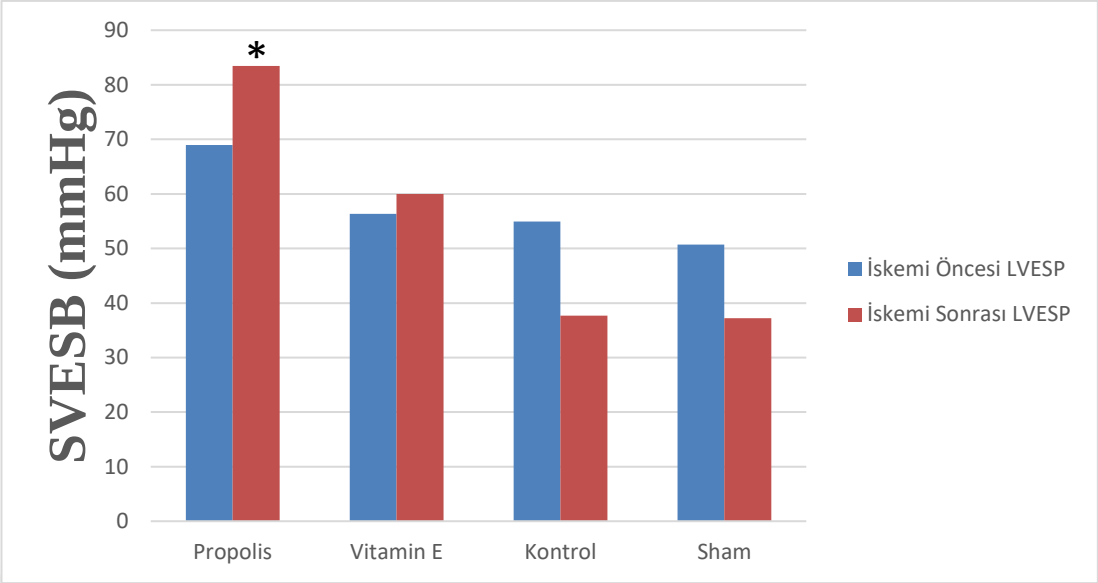
İskemi öncesi ve sonrası AB, KH, SVESB ve SVEDB değerlerinin gruplara göre dağılımları sırası ile Grafik 14, 15, 16 ve 17'de sunulmuştur.



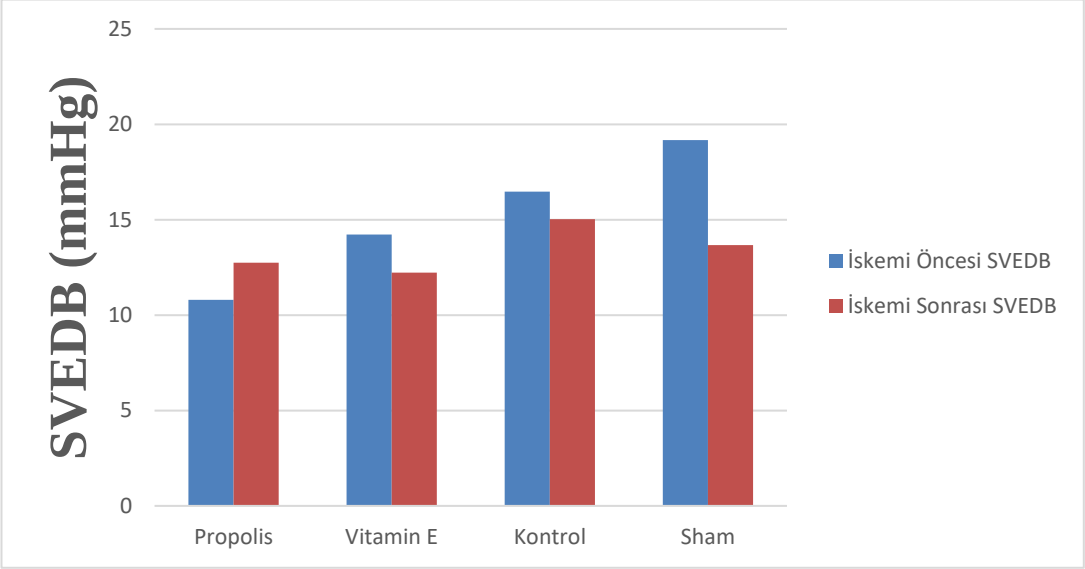
Grafik 14: Gruplardaki Aort Basıncı ölçüm sonuçları (*: İstatistiksel anlamlı fark mevcut).



Grafik 15: Gruplardaki Kalp Hızı ölçüm sonuçları.



Grafik 16: Gruplardaki Sol Ventrikül Sistolik Basınç ölçüm sonuçları (*: İstatistiksel anlamlı fark mevcut).



Grafik 17: Gruplardaki Sol Ventrikül End-Diastolik Basınç ölçüm sonuçları.

İskemi sonrası KH, iskemi öncesi DS/NTL ile negatif, iskemi sonrası SVESB, iskemi öncesi TTL, DS ve DS/NTL ile negatif yönde korele oldukları Tablo 8'de gösterilmiştir.

Tablo 8: Hemodinamik verilerin antioksidanlara korelasyonu.

	AB-2 (mmHg)		**SVESB-2 (mmHg)**		**SVEDB-2 (mmHg)**		**KH-2 (/dk)**	
	r	p	r	p	r	p	r	p
TAS-1 (mcmol/L)	0,118	0,535	-0,113	0,553	0,012	0,952	-0,174	0,359
TAS-2 (mcmol/L)	0,157	0,407	-0,110	0,565	-0,005	0,981	-0,087	0,648
TOS-1 (mcmol/L)	-0,292	0,117	0,242	0,198	-0,039	0,840	0,129	0,495
TOS-2 (mcmol/L)	-0,244	0,194	0,165	0,385	-0,132	0,488	-0,051	0,787
OSI-1	-0,278	0,137	0,239	0,203	-0,082	0,667	0,103	0,588
OSI-2	-0,180	0,340	0,178	0,345	-0,049	0,796	0,089	0,639
TTL-1 (mcmol/L)	0,201	0,287	-0,416	0,022	0,177	0,349	-0,303	0,104
TTL-2 (mcmol/L)	0,117	0,539	-0,317	0,088	0,136	0,472	-0,217	0,249
NTL-1 (mcmol/L)	-0,158	0,404	0,222	0,238	-0,051	0,787	0,181	0,339
NTL-2 (mcmol/L)	0,160	0,400	0,075	0,693	-0,352	0,057	0,167	0,379
NTL/TTL-1	-0,197	0,297	0,304	0,103	-0,164	0,384	0,216	0,253
NTL/TTL-2	0,099	0,601	0,146	0,441	-0,322	0,083	0,177	0,349
DS-1 (mcmol/L)	0,202	0,285	-0,456	0,012	0,174	0,356	-0,295	0,114
DS-2 (mcmol/L)	0,089	0,641	-0,306	0,100	0,193	0,305	-0,227	0,228
DS/NTL-1	0,150	0,428	-0,484	0,007	0,118	0,534	-0,382	0,037
DS/NTL-2	-0,099	0,601	-0,146	0,441	0,322	0,083	-0,177	0,349
DS/TTL-1	0,197	0,297	-0,304	0,103	0,164	0,384	-0,216	0,253
DS/TTL-2	-0,099	0,601	-0,146	0,441	0,322	0,083	-0,177	0,349

r: korelasyon katsayısı, TAS-1: İskemi Öncesi TAS düzeyi, TAS-2: İskemi Sonrası TAS düzeyi, TOS-1: İskemi Öncesi TOS düzeyi, TOS-2: İskemi Sonrası TOS düzeyi, OSI-1: İskemi Öncesi OSI düzeyi, OSI-2: İskemi Sonrası OSI düzeyi, TTL-1: İskemi Öncesi TTL düzeyi, TTL-2: İskemi Sonrası TTL düzeyi, NTL-1: İskemi Öncesi NTL düzeyi, NTL-2: İskemi Sonrası NTL düzeyi, NTL/TTL-1: İskemi Öncesi NTL/TTL düzeyi, NTL/TTL-2: İskemi Sonrası NTL/TTL düzeyi, DS-1: İskemi Öncesi DS düzeyi, DS-2: İskemi Sonrası DS düzeyi, DS/NTL-1: İskemi Öncesi DS/NTL düzeyi, DS/NTL-2: İskemi Sonrası DS/NTL düzeyi, DS/TTL-1:

İskemi Öncesi DS/TTL düzeyi, DS/TTL-2: İskemi Sonrası DS/TTL düzeyi, AB-2: İskemi Sonrası AB düzeyi, SVESB-2: İskemi Sonrası SVESB düzeyi, SVEDB-2: İskemi Sonrası SVEDB düzeyi, SVB-2: İskemi sonrası SVB düzeyi, KH-2: İskemi Sonrası KH düzeyi.

5. TARTIŞMA

Açık kalp cerrahisinin uygulanmasının kolay ve güvenilir bir ortamda yapılmasının en temel yapı taşı KPB sistemidir. Her ne kadar cerrahinin kolaylık ve çeşitli olanakları bulunsa da kısa ve uzun vadede vücudun genel fonksiyonları üzerinde negatif etkileri de bilinmektedir. Cerrahi esnada durağanlık sağlayan kardiyoplejik arrest KPB'ın en önemli özelliklerinin başında gelmektedir. İskemi sonrası sağlanan reperfüzyonun miyokard dokusu üzerindeki zararlı etkilerinden biriside arrest süresidir. Her ne kadar bir dokunun canlılığının devamı için perfüzyon gerekli olsa da iskemi sonrası sağlanan perfüzyonun da hücresel anlamda negatif etkileri olmaktadır.

I/R hasarı denilen olayın ana mekanizması iskemik durumda olan hücrenin reperfüzyon da fazla miktarda oksijen radikali oluşturması ve bu oluşan serbest radikaller çeşitli mekanizmalar ile hücresel fonksiyonları geri dönüşümlü ya da dönüşümsüz olarak bozmasıdır. I/R'un yol açmış olduğu bu hasar bilinmekte ve bu hasarın en alt seviyelere düşürülmesi için çeşitli çalışmalar yapılmaktadır.

Pei ve ark., I/R'un yol açtığı iskemik kalp hastalıkları üzerine yapmış oldukları çalışmada ROS'un hücresel düzeyde oluşturmuş olduğu hasarın vücut tarafından oluşturulan çeşitli karşıt mekanizmalar ile baskılanmaya çalışıldığının ve bu mekanizmaların temelini antioksidanların oluşturduğunu belirlemişlerdir. Mitokondriyal fonksiyonel proteinler ve antioksidan mekanizmalarının I/R'un miyokard üzerinde neden olduğu hasarın önlenmesinde aktif rol aldığını ve ROS üretimini baskıladıklarını belirlemişlerdir (Pei *vd.,* 2016).

Birben ve ark, yaptıkları bir çalışmada, oldukça reaktif moleküler olan ROS'ların hücre zarına, DNA, protein ve lipid gibi hücresel sürecin devamlılığı için hayati önem taşıyan yapıları bozduğunu belirtmişlerdir. Buna karşı devreye giren antioksidan mekanizmalarına rağmen dengenin oksidan mekanizmalara doğru olmasının oksidatif strese yol açtığını, meydana gelen oksidatif stresin de miyokard hasarına doğrudan etkisi olduğunu belirtmiştir. (Birben *vd.,* 2012).

Sies yapmış olduğu bir çalışmada oksidatif stresin neden olduğu zararlı etkilerin azaltılmasından çeşitli antioksidan savunma mekanizmalarının sorumlu olduğunu söylemiş ve bu antioksidan mekanizmalarını i) önleme, ii) müdahale ve iii) onarım olmak üzere üç gruba ayırmıştır. Bu savunma stratejileri antioksidanların lokalizasyonunu, seviyelerinin korunmasını ve kapasitelerinin düzenlenmesini kapsamaktadır (SIES, 1993).

Cremers ve ark., reaktif oksijen türlerinin zararlı oksidatif strese neden olarak yol açtıkları hasarın önlemesi için yapmış oldukları çalışmada serbest oksijenin disülfite olan afinitesini belirlemişlerdir. Disülfit bağlarının geri dönüşümlü olması nedeni ile ortamdaki serbest radikallere bağlanarak, reaktif özelliğini azaltmasıyla oksidatif streste azalmaya doğrudan katkı sağladıklarını belirtmiştir (Cremers ve Jakob, 2013).

Gümüşyayla ve ark., yapmış oldukları bir çalışmada oksidatif stresin sonucu oluşan hasarı engelleyen bir ölçüt olan tiyol/disülfid homeostazının etkinliğini araştırmışlar, toplam tiyol, doğal tiyol ve disülfür bağlarının oranlarını hesaplanmışıdır. Bu disülfür bağlarının serbest halde olan oksijene bağlandıkları bilinmektedir. (Gumusyayla, Vural, Bektas, Neselioglu, *vd.*, 2016).

Sforcin ve ark, yaptıkları in vitro ve in vivo çalışmalarında antioksidan içeren maddelerin analizlerini yapmışlardır. Çalışmalar esnasında içerisinde çok sayıda farmakolojik ve biyolojik özellik barındıran propolis değerlendirilmiştir. Yüksek antioksidan özelliğe sahip olduğu bilinen flavonoidlerden zengin olması nedeniyle propolisin de doğal bir antioksidan olduğu düşünülmektedir. Propolisin bu özelliği nedeniyle ardından I/R hasarının önlenmesi amacı ile kullanılabileceğini savunmuşlardır (Sforcin ve Bankova, 2011).

Huang ve ark, yaptıkları bir araştırmada klinik olarak çok geniş uygulamaları yapılan bir balarısı ürünü olan propolisin içeriğinde 241 adet bileşiğin tanımlandığını belirtmişlerdir. Terpenler, stilbenler, liganlar, fenilpropanoidler ve flavonoidler bunlardan bazılarıdır. Çok çeşitli yöre ve ülkelerde üretimi sağlanan propolisin bulunduğu coğrafik bölge ve faunaya bağlı olarak kimyasal yapısı standart olmayıp

bölgesel olarak farklı biyokimyasal yapıya sahip olduklarını belirtmişlerdir (Huang *vd.*, 2014)

Huang ve ark. yapmış oldukları bir çalışmada, propolisin içerisinde bulunan en önemli antioksidan madde olarak kafeik asit fenetil ester (CAPE) öne çıkmaktadır. Miyokard I/R'nin özellikle oksidatif strese neden olduğunu belirtmişler ve bu çalışmada CAPE'in I/R hasarına ve oksidatif strese karşı faydalı etkilerini in vivo bir deneyle de doğrulamışlardır. CAPE ile ön tedavinin, I/R hasarı ile indüklenen sıçan miyokardındaki apoptozu azalttığı ve bazı oksidatif / antioksidan mekanizmaları da etkilediği gösterilmiştir (Huang *vd.*, 2005)

Özer ve ark. yapmış oldukları çalışmada CAPE'nin miyokard infarktüsüne olan etkilerini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada miyokardiyal I/R hasarını tromboliz, anjiyoplasti ve koroner bypass cerrahisinde klinik olarak anlamlı bir problem olarak bulunmuştur (Ozer, Parlakpinar ve Acet, 2004). Miyokardiyal I/R hasarı, miyokard iskemisi döneminden sonra koroner akımın restorasyonunda meydana gelmektedir. I/R hasarının neden olduğu miyokard yaralanması kardiyak kasılma bozukluğu, aritmiler ve geri dönüşümsüz miyosit hasarına neden olmaktadır. Deneysel reperfüzyon hasarının üretilmesi ile ilgili ana faktör, oksijenden türetilmiş serbest radikallerdir. Miyokardiyal I/R hasarının hastalıklı kalplere antioksidan ekleyerek kurtarıldığı gösterilmiştir. Propolis özütünün aktif bileşeni olan (CAPE), antioksidan ve antienflamatuar özelliklere sahip olmasından dolayı I/R hasarına karşı kalp korumasında işlev görür. Yaptıkları deneysel çalışmada miyokard nekrozu üretmek için sıçan kalplerinin sol ana korner arterine 30 dakika oklüzyon ve 120 dakika reperfüzyon uygulanarak enfarktüs risk alanı kesitleri hesaplanmıştır. CAPE iskemiden 10 dakika önce intravenöz olarak verilmiş ve iskemi esnasında infüzyon pompası yardımı ile sürekli verilmeye devam edilmiştir. Sonuç olarak CAPE uygulaması miyokardiyal enfarktüs alanını istatistiksel olarak anlamlı azalttığı görülmüştür (Ozer, Parlakpinar ve Acet, 2004).

Adluri ve ark, yaptıkları çalışma ex vivo I/R hasarı modelinde yeni bir antioksidan astaksantinin vitamin E ile miyokardiyal I/R hasarına etkilerinin değerlendirilmesi için tasarlanmıştır. 21 günlük oral beslemeden sonra her grupta izole edilmiş kalpler 30 dakika iskemiye maruz bırakılmış ve sonrasında Langendorff

düzeneğinde 2 saat perfüze edilmiştir. Perfüzyon sonrası bakılan aort basıncı, sol ventrikül basıncı, dp/dt ve kalp hızı değişkenleri değerlendirmeye alınarak E vitamini grubunun I-R hasarına olumlu yönde büyük etkisi olduğu belirtilmiştir (Adluri *vd.*, 2013).

Sun ve ark, propolisin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi için E vitamini eksikliğinin neden olduğu oksidatif stres üzerindeki iyileştirici etkilerin değerlendirilmesi amacı ile sıçanlar üzerinde bir deney tasarlamıştır. Kontrol grubuna E vitamininden fakir diyet verilirken propolis grubu 4 ve 8 hafta boyunca %1 propolis ile desteklenen E vitamininden fakir diyet ile beslenmiştir. Bu gruplar arasında C vitamini, E vitamini ve lipit hidroperoksitlerin doku konsantrasyonlarında karşılaştırılması yapılmıştır. 4 ve 8 hafta sonra bu iki grup arasında E vitamini konsantrasyonunda anlamlı bir yükseklik görülmezken 4 hafta sonra propolisin plazma C vitamini konsantrasyon grubunda kontrol grubuna oranla anlamlı bir yükseklik tespit edilmiştir. 8 hafta sonra propolis grubunun böbrek, mide, ince ve kalın bağırsakta ve kalpteki C vitamini konsatrasyonları kontrol grubuna oranla anlamlı bir yükseklik olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, propolisin bazı bileşenlerinin C vitamini tasarrufu sağlayan hidrofilik bir antioksidan olarak davrandığı gösterilmiştir. Sonuç olarak propolisin, antioksidatif etkisini atıldığı böbrek ve bu dokuları hücre dışından etkilediği gastrointestinal sistem üzerinden biriktiği varsayılan yerden etkilediği belirtilmiştir. (Sun *vd.*, 2000).

Barik ve ark, kalp transplantasyonlarında yaşanan I/R hasarına bağlı komplikasyonlar üzerine, farklı propolis yoğunluklarına sahip soğuk kreps solüsyonları hazırlayarak sıçan kalplerinin 24 saat süre ile bu solüsyonlarda saklandığı bir iskemi modeli oluşturmuşlardır. Çalışmada Cezayir propolis türü kullanılmıştır. Hipotermik oksidatif stresin yol açmış olduğu greft disfonksiyonunu minimum seviyeye indirmek için farklı propolis yoğunluklarına sahip K/H solüsyonları hazırlanmış ve sıçan kalpleri bu solüsyon içerisinde 4 ^{o}C de 24 saat tutularak bir iskemi modeli oluşturulmuştur. K/H solüsyonundan alınan numuneler LDH, TnI, kreatin fosfokinaz, süperoksit dismutaz ve katalaz testlerine tabi tutulmuş ve kalpler histopatolojik olarak incelenmiştir. Hazırlanan bu deney düzeneğinde propolisin kalpleri etkili bir şekilde koruduğu, lipid ve proteinlerin oksidasyonunu

azalttığı ve antioksidan enzimlerinin aktivasyonunu sağladığı görülmüştür. Ayrıca 24 saat süre ile solüsyon içerisinde kalan kalp dokularında göz ile görülen herhangi bir deformasyona rastlanmamış ve mitokondriyal solunum ürünü olan hidrojen peroksitin (H_2O_2) azaldığı ve bu korumanın en yüksek propolis yoğunluğuna sahip grupta olduğu görülmüştür. (Braik *vd.,* 2019).

Miyokardiyal hasar değişkenleri incelendiğinde; iskemi sonrası CK-MB ve TnI değerlerinin anlamlı yüksek bulunmuş ancak, LDH değerinde anlamlı bir fark elde edilememiştir (Tablo 1). İskemi öncesi TAS ve OSI, Vitamin E ve kontrol grubunda, propolis ve sham grubuna göre daha yüksek ölçülmüştür, iskemi sonrası TAS ve OSI, sham grubunda Vitamin E ve kontrol gruplarına oranla daha düşük ölçülmüştür (Tablo 3). Bu sonuçlara göre Vitamin E'nin antioksidan kapasitesini arttırmış ve oksidatif stresi azaltmıştır ancak propolisin böyle bir etkisi olmamıştır.

İskemi öncesi TTL ve DS değişkenleri, propolis ve Vitamin E grubunda, sham grubuna göre daha düşüktür (Tablo 3). Propolis ve vitamin E uygulanması tiyol ve DS miktarını azaltmıştır. Vitamin E'nin tiyol üretimini azaltmasına karşın antioksidan kapasiteyi arttırmış olması, vitamin E'nin antioksidan etkinliğini ağırlıklı olarak tiyol dışı mekanizmalarla gösterdiğini desteklemektedir. Bu mekanizmalarla artan antioksidan kapasitenin negatif feedback mekanizmaları ile tiyol üretiminde azalmaya (down-regülasyon) yol açtığı, bunun da DS dönüşümünü azalttığı düşünülmüştür. Ancak propolis uygulananlarda hem tiyol düzeyinin düşmesi hem de antioksidan kapasitenin artmamış olması propolisin vitamin E gibi tiyol dışı mekanizmalar üzerinden antioksidan etki göstermediğini göstermiştir. Propolisin tiyol düzeyini düşürmüş olması yeterli antioksidan etkinlik gösterememesine yol açmış olabilir.

İskemi sonrası TTL değişkeni, sham grubunda diğer gruplara oranla daha yüksek ölçülmüştür (Tablo 3). İskemi sonrası tiyol ve DS düzeyleri iskemi öncesi seviyelerine benzerdir. Bu da iskeminin belirgin bir tiyol tüketimine ve DS üretimine yol açmadığının göstergesidir. Tiyol-DS dönüşümünün iskemiden önemli ölçüde etkilenmediği görülmüştür.

İskemi sonrası DS değişkeni, Vitamin E ve propolis grubunda sham grubuna göre daha düşük ölçülmüştür (Tablo 3). Propolis ve Vitamin E uygulanan gruplarda DS seviyesi iskemi öncesi değerlere yakın seyretmiş ve iskeminin oksidan mekanizmalarla tiyolden DS dönüşümünü arttırmadığı görülmüştür. Propolis ve vitamin E gruplarında iskemi sonrası DS düzeyinin düşük olması, iskemi öncesi düşük düzeyle ilişkilendirilmiştir.

İskemi sonrası LDH değişkeninin, iskemi öncesi TAS, iskemi öncesi NTL, NTL/TTL oranı ve iskemi sonrası NTL ile negatif, DS/TTL oranı ile pozitif ve iskemi sonrası TnI değişkeninin de iskemi öncesi NTL, NTL/TTL oranı ve iskemi sonrası TAS değişkenleri ile negatif, DS/TTL oranı değişkeni ile pozitif korelasyonu tespit edilmiştir (Tablo 2). İskemi öncesinde oksidatif stresin yüksek olması, antioksidan kapasitesinin düşük olması ve DS üretiminin artması iskemi sonrası miyokard hasarında artışa neden olur. Ayrıca iskemi sonrası antioksidan kapasitesinin ve tiyol düzeyinin düşük olması ve bunun yanı sıra DS düzeyinin yüksek olması miyokard hasarında artışa neden olur.

TAS değişkeninin DS, DS/TTL oranı ve DS/NTL oranı ile negatif, NTL/TTL oranı ve NTL ile pozitif; OSI değişkeninin ise NTL/TTL oranı ile negatif, DS, DS/NTL oranı ve DS/TTL oranı ile pozitif korelasyon ilişkisi vardır (Tablo 5). Tiyol düzeyinde meydana gelen artış antioksidan kapasitesini arttırır ve buna bağlı olarak oksidatif stresi azaltır. Özellikle NTL'nin TTL'ye oranla antioksidan kapasiteye katkısı daha belirgindir. Azalan oksidatif stres tiyol-DS dönüşümünü ve DS üretimini azaltır. DS düzeyi ve DS/tiyol oranı oksidatif stresi yansıtırken NTL/TTL oranı da antioksidan kapasitesini yansıtmaktadır.

Vitamin E nin propolise oranla antioksidan mekanizmalar üzerindeki etkisinin daha fazla olduğu Tablo 4'de sunulmuştur. Vitamin E uygulaması antioksidan kapasiteyi arttırmış ve oksidatif stresi azaltmıştır ancak propolis değişikliğe yol açmamıştır. Propolis ile tiyol miktarı azalmış olması TAS artmamasına ve OSI azalmamasına yol açabilir. Propolisin antioksidan kapasitesini tiyol dışı mekanizmalar üzerinden arttırmadığı öngörülür.

Kalbin fonksiyonel durumu incelendiğinde; İskemi öncesi AB, propolis grubunda kontrol grubuna oranla düşük, iskemi sonrası AB ise tüm gruplarda yüksek ölçülmüştür (Tablo ve Grafik 1). İskeminin sabit debiyle kök perfüzyonunda aort basıncında yükselmeye yol açtığı görülmüştür. Bu iskemi sonrası artan koroner yatak direnci ile ilişkilendirilmiştir. İskemiye sekonder oluşan endotel hasarı, NO ve diğer vazodilatör ajan sentezini bozarak koroner yatağın direncini arttırabilir. Propolis uygulanan grupta iskemi öncesi AB'nin düşük olması koroner vasküler direncin düşük olması ile ilişkilendirilebilir. Propolisin vasküler direnci azaltan mekanizmaları korner perfüzyonun artmasını sağlamış olabilir. Bu durum da iskemi öncesi tiyol düzeyinin düşük olması ile ilişkilendirile bilir. Tiyol düzeyinin azalmasına neden olan mekanizmalar aynı zamanda koroner yatağın vasküler direncinin de azalmasına sebep olabilirler.

Propolis antioksidan mekanizmaları tiyol seviyesini düşürerek disültit bağları yardımı ile koruma sağladığı gözlemlenmiştir. S. S. Huang vd., (2005) yaptıkları çalışmalarda olduğu gibi CAPE'nin iskemi öncesi uygulanmasına bağlı olarak iskemi sonrası oluşan aritmileri önlediği gözlemlenmiştir. Aynı zamanda Huang ve ark, Propolisin oluşturmuş olduğu disülfit mekanizmasının oksidan seviyesindeki artışı durdurarak miyokardiyal koruma sağladığı gösterilmiştir.

Berik ve ark., (2019) kalp transplantasyonunun da I/R hasarının neden olduğu SV fonksiyon kaybının propolis ile en aza indirildiğini kanıtlamışlardır. Bizim çalışmamızda iskemi sonrası SVESB ve SVB, propolis grubunda sham ve kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu Tablo 6'da ki veriler ile sunulmuştur. Propolisin uygulandığı grupta iskemi sonrası SV fonksiyonu daha iyi ancak miyokard enzimleri diğer gruplar ile benzerlik göstermektedir. Propolis iskeminin neden olduğu SV fonksiyon kaybını engellemiş ancak miyokard hücre hasarını engelleyememiştir. Vitamin E hem iskemi öncesi hem de iskemi sonrası antioksidan kapasiteyi arttırıp oksidatif stresi azaltmış olmasına rağmen SV kontraktil fonksiyonunu koruyamamış ve hücresel hasara engel olamamıştır. Dolayısıyla antioksidan mekanizmaların iskemik hasarın engellenmesindeki rolünün sınırlı olduğu ortaya konmuştur. Propolisin SV fonksiyonu üzerine olan olumlu yöndeki etkisi antioksidan mekanizmalardan bağımsızdır çünkü, propolis antioksidan bir özellik

göstermemesine rağmen SV fonksiyonunu arttırmış ancak diğer taraftan Vitamin E antioksidan kapasiteyi arttırıp oksidatif stresi azaltmasına rağmen SV fonksiyonu üzerine olumlu bir etki gösterememiştir. Propolis grubunda iskemi öncesi koroner direncin düşük olmasına bağlı olarak miyokard perfüzyonunu arttırarak iskemiye karşı koruma sağlamış olabilir. Ayrıca propolis DS düzeyini düşürmesi ve DS seviyesi ile SVB arasında Tablo 7 de gösterilen negatif korelasyon varlığı, propolisin SVB üzerine etkisinin DS azalması ile ilişkili olabileceğini gösterir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Oral propolis kullanımı miyokardiyal hasarı engellemede yetersiz kalmış olmasına rağmen iskemi sonrası sol ventrikül fonksiyonunda artışa neden oluğu tespit edilmiştir. Ancak propolis bu etkiye antioksidan mekanizmalar üzerinden yol açmamıştır. Propolis miyokardı iskemiden korumak yerine iskemi sonrası miyokartta meydana gelebilecek olan fonksiyon kaybını engellemede etkili olmuştur.

Propolisin iskemi sonrası miyokardiyal fonksiyonları nasıl koruduğu ve hangi mekanizmalar üzerinden etkili olduğu ileri çalışmalar ile ortaya konmalıdır.

7. KAYNAKÇA

Adluri, R. S. *vd.* (2013) "Cardioprotective Efficacy of a Novel Antioxidant Mix VitaePro Against Ex Vivo Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury", *Cell Biochemistry and Biophysics*, 67(2), ss. 281–286. doi: 10.1007/s12013-011-9300-7.

Akkoç, H. (2008) "Miyokardiyal İskemi Reperfüzyon Hasarı Ischemia-Reperfusion-Induced Injury of Myocardium", 3, ss. 211–215.

Aktas, M. S. *vd.* (2017) "Evaluation of oxidative stress in sheep infected with Psoroptes ovis using total antioxidant capacity, total oxidant status, and malondialdehyde level", *Journal of Veterinary Research (Poland)*, 61(2), ss. 197–201. doi: 10.1515/jvetres-2017-0025.

Alyane, M. *vd.* (2008) "Cardioprotective effects and mechanism of action of polyphenols extracted from propolis against doxorubicin toxicity", *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 21(3), ss. 201–209.

Aşgün H.F. (2016). Solunum ve Dolaşım Fizyolojisi Ders Notları. Çanakkale Onsekiz Mart
Üniversitesi.

Bahoran, T. *vd.* (2007) "Free Radicals and Antioxidants in Cardiovascular Health and Disease", *Internet Journal of Medical Update - EJOURNAL*, 1(2), ss. 25–41. doi: 10.4314/ijmu.v1i2.39839.

Bell, R. M., Mocanu, M. M. ve Yellon, D. M. (2011) "Retrograde heart perfusion: The Langendorff technique of isolated heart perfusion", *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. Elsevier Ltd, 50(6), ss. 940–950. doi: 10.1016/j.yjmcc.2011.02.018.

Birben, E. *vd.* (2012) "Oxidative stress and antioxidant defense", *World Allergy Organization Journal*. Elsevier, 5(1), ss. 9–19. doi: 10.1097/WOX.0b013e3182439613.

Bougioukas, I. *vd.* (2018) "Apigenin Reduces NF- κ B and Subsequent Cytokine Production as Protective Effect in a Rodent Animal Model of Lung Ischemia-

Reperfusion Injury Apigenin Reduces NF- κ B and Subsequent Cytokine Production as Protective Effect in a Rodent Animal Model of Lung", 1939. doi: 10.1080/08941939.2017.1296512.

Braik, A. *vd.* (2019) "Myocardial protection by propolis during prolonged hypothermic preservation", *Cryobiology*. Elsevier, 88(January), ss. 29–37. doi: 10.1016/j.cryobiol.2019.04.003.

Chang, W. T. *vd.* (2007) "Comparative effects of flavonoids on oxidant scavenging and ischemia-reperfusion injury in cardiomyocytes", *European Journal of Pharmacology*, 566(1–3), ss. 58–66. doi: 10.1016/j.ejphar.2007.03.037.

Cingi Yirün, M. *vd.* (2016) "Bipolar Bozuklukta Oksidatif Stresin Total Oksidan Seviye, Total Antioksidan Seviye ve Oksidatif Stres İndeksi Değerleri Bakımından İncelenmesi", *Noropsikiyatri Arsivi*, 53(3), ss. 194–198. doi: 10.5152/npa.2015.10123.

Cobert, M. L. *vd.* (2010) "Importance of Organ Preservation Solution Composition in Reducing Myocardial Edema during Machine Perfusion for Heart Transplantation", *Transplantation Proceedings*. Elsevier Inc., 42(5), ss. 1591–1594. doi: 10.1016/j.transproceed.2010.02.073.

Cremers, C. M. ve Jakob, U. (2013) "Oxidant sensing by reversible disulfide bond formation", *Journal of Biological Chemistry*, 288(37), ss. 26489–26496. doi: 10.1074/jbc.R113.462929.

Erel, O. (2005) "A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status.", *Clinical biochemistry*. United States, 38(12), ss. 1103–1111. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2005.08.008.

Erel, O. ve Neselioglu, S. (2014) "A novel and automated assay for thiol/disulphide homeostasis", *Clinical Biochemistry*. The Canadian Society of Clinical Chemists, 47(18), ss. 326–332. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2014.09.026.

Ertuna, E. *vd.* (2013) "How to interpret relationship between ischemic time and ischemia/reperfusion injury in langendorff perfused rat hearts", *Turkiye Klinikleri*

Journal of Medical Sciences, 33(2), ss. 493–500. doi: 10.5336/medsci.2012-30601.

Fallahi, A. *vd.* (2015) "Cardioprotective Effect of High Intensity Interval Training and Nitric Oxide Metabolites (NO 2- , NO 3-)", 44(9), ss. 1270–1276.

Göksel, Ş. ve Yeğen, B. (2009) "KLİNİFizyopatoloji", ss. 5–13.

Goldberg, I. J., Trent, C. M. ve Schulze, P. C. (2012) "Lipid metabolism and toxicity in the heart", *Cell Metabolism*. Elsevier Inc., 15(6), ss. 805–812. doi: 10.1016/j.cmet.2012.04.006.

Gumusyayla, S., Vural, G., Bektas, H., Neselioglu, S., *vd.* (2016) "A novel oxidative stress marker in migraine patients: dynamic thiol–disulphide homeostasis", *Neurological Sciences*, 37(8), ss. 1311–1317. doi: 10.1007/s10072-016-2592-z.

Gumusyayla, S., Vural, G., Bektas, H., Deniz, O., *vd.* (2016) "A novel oxidative stress marker in patients with Alzheimer's disease: Dynamic thiol-disulphide homeostasis", *Acta Neuropsychiatrica*, 28(6). doi: 10.1017/neu.2016.13.

Hamilton, K. L. *vd.* (2003) "Exercise, antioxidants, and HSP72: Protection against myocardial ischemia/reperfusion", *Free Radical Biology and Medicine*, 34(7), ss. 800–809. doi: 10.1016/S0891-5849(02)01431-4.

Huang, S. *vd.* (2014) "Recent advances in the chemical composition of propolis", *Molecules*, 19(12), ss. 19610–19632. doi: 10.3390/molecules191219610.

Huang, S. S. *vd.* (2005) "Antiarrhythmic effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on myocardial ischemia/reperfusion injury in rats", *Clinical Biochemistry*, 38(10), ss. 943–947. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2005.07.003.

Li, T. *vd.* (2014) "Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitor Captopril Reverses the Adverse Cardiovascular Effects of Polymerized Hemoglobin", *Antioxidants & Redox Signaling*, 21(15), ss. 2095–2108. doi: 10.1089/ars.2013.5606.

Liu, R. *vd.* (2008) "Pinocembrin protects rat brain against oxidation and apoptosis induced by ischemia-reperfusion both in vivo and in vitro", *Brain Research*, 1216, ss. 104–115. doi: 10.1016/j.brainres.2008.03.049.

Mcquaid, K. E. ve Keenan, A. K. (1997) "Physiological Society Symposium : Impaired Endothelial and Smooth Muscle Cell Function in Oxidative Stress Endothelial Barrier Dysfunction and Oxidative Stress : Roles for Nitric Oxide ?", *Experimental Physiology*, (December 1995), ss. 369–376.

Motayagheni, N. (2017) "Modified Langendorff technique for mouse heart cannulation: Improved heart quality and decreased risk of ischemia", *MethodsX*. Elsevier B.V., 4(August), ss. 508–512. doi: 10.1016/j.mex.2017.11.004.

Ozer, M. K., Parlakpinar, H. ve Acet, A. (2004) "Reduction of ischemia-reperfusion induced myocardial infarct size in rats by caffeic acid phenethyl ester (CAPE)", *Clinical Biochemistry*, 37(8), ss. 702–705. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2004.01.012.

Ozyurt, H. *vd.* (2007) "Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) protects rat skeletal muscle against ischemia-reperfusion-induced oxidative stress", *Vascular Pharmacology*, 47(2–3), ss. 108–112. doi: 10.1016/j.vph.2007.04.008.

Pei, H. *vd.* (2016) "The Role of Mitochondrial Functional Proteins in ROS Production in Ischemic Heart Diseases", *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016. doi: 10.1155/2016/5470457.

Penttilä, I., Penttilä, K. ve Rantanen, T. (2000) "Laboratory diagnosis of patients with acute chest pain.", *Clinical chemistry and laboratory medicine*. Germany, 38(3), ss. 187–197. doi: 10.1515/CCLM.2000.027.

Pinchuk, I. *vd.* (2012) "Evaluation of antioxidants: scope, limitations and relevance of assays.", *Chemistry and physics of lipids*. Ireland, 165(6), ss. 638–647. doi: 10.1016/j.chemphyslip.2012.05.003.

Rotenberg, Z. *vd.* (1988) "The efficiency of lactate dehydrogenase isoenzyme determination for the diagnosis of acute myocardial infarction.", *Archives of pathology & laboratory medicine*. United States, 112(9), ss. 895–897.

Saleh, N. K. ve Saleh, H. A. (2010) "Protective effects of vitamin E against myocardial ischemia/reperfusion injury in rats.", *Saudi medical journal*. Saudi Arabia, 31(2), ss. 142–147.

Schechter, M. A. *vd.* (2014) "An isolated working heart system for large animal models", *Journal of Visualized Experiments*, (88), ss. 4–11. doi: 10.3791/51671.

Sforcin, J. M. ve Bankova, V. (2011) "Propolis: Is there a potential for the development of new drugs?", *Journal of Ethnopharmacology*, 133(2), ss. 253–260. doi: 10.1016/j.jep.2010.10.032.

Sheean et al., 2013 (2008) "Genetic changes
NIH Public Access", *Bone*, 23(1), ss. 1–7. doi: 10.1038/jid.2014.371.

SIES, H. (1993) "Strategies of antioxidant defense", *European Journal of Biochemistry*, 215(2), ss. 213–219. doi: 10.1111/j.1432-1033.1993.tb18025.x.

Suat Buket, Çağatay Engin, Halil Uç, F. A. (2004) "KARDİYOPULMONER Hastalik", *Kalp Ve DamaCerrahisi*, (KARDİYOPULMONER HASTALIK), ss. 1–42.

Sun, F. *vd.* (2000) "In vivo antioxidative activity of propolis evaluated by the interaction with vitamins C and E and the level of lipid hydroperoxides in rats", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), ss. 1462–1465. doi: 10.1021/jf990594t.

Surekha, R. H. *vd.* (2007) "Oxidative stress and total antioxidant status in myocardial infarction", *Singapore Medical Journal*, 48(2), ss. 137–142.

Tolba, M. F. *vd.* (2016) "Caffeic Acid Phenethyl Ester: A Review of Its Antioxidant Activity, Protective Effects against Ischemia-reperfusion Injury and Drug Adverse Reactions", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(13), ss. 2183–2190. doi: 10.1080/10408398.2013.821967.

Tsutsui, H., Kinugawa, S. ve Matsushima, S. (2011) "Oxidative stress and heart failure", *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 301(6), ss. 2181–2190. doi: 10.1152/ajpheart.00554.2011.

Yuan, X. *vd.* (2015) "Cardioprotective effect of licochalcone D against myocardial ischemia/reperfusion injury in langendorff-perfused rat hearts", *PLoS ONE*, 10(6), ss. 1–14. doi: 10.1371/journal.pone.0128375.

Yücel, B., Çek, E. A. K. Ç. İ. ve Lu, M. K. Ğ. (2014) “Propolisin İ nsan Sa ğ l ı ğ ı na Etkileri”, ss. 41–49.

Zweier, J. L. ve Talukder, M. A. H. (2006) “The role of oxidants and free radicals in reperfusion injury”, *Cardiovascular Research*, 70(2), ss. 181–190. doi: 10.1016/j.cardiores.2006.02.025.

8. EKLER

8.1.ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Turgut Alperen			**Soyadı**	ASLANER
Doğum Yeri	Kale	**Uyruğu**	T.C.	**Doğum Tarihi**	22/07/1992
E-mail	turgutalperenaslaner@gmail.com			**Tel**	+90 534 858 18 69

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mezuniyet Yılı**
Lisans	ÇOMÜ- Fen ve Edebiyat Fakültesi- Biyoloji Bölümü	2015
Lise	Antalya Demre Lisesi	2010
İlköğretim	Antalya Demre Yunus Emre İlköğretim Okulu	2006

İş Deneyimi

Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl - Yıl)**
1. Sağlık Teknikeri	ÇOMÜ Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi- Kalp ve Damar Cerrahisi	2016-Halen Devam

ORCİD NO: 0000-0002-6973-215X

8.2. HAYVAN DENEYLERİ ETİK RAPORU

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI

TOPLANTI TARİHİ	:08.02.2019
TOPLANTI SAYISI	:2019/01
DOSYA KAYIT NUMARASI	:2019-1900022318
KARAR NUMARASI	:2019/01-06
YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	:Turgut Alperen ASLANER
HAYVAN TÜRÜ VE SAYISI	:Wistar cinsi sıçan kullanılacaktır. 32+3*

Proje yürütücüsü Doç. Dr. Halil Fatih AŞGÜN, tarafından Etik Kurulumuza sunulan "Oral Propolis Kullanımının İzole Edilmiş Sıçan Kalbinde Miyokardiyal İskemi-Reperfüzyon Hasarına Etkileri" başlıklı proje Hayvan Deneylerine ilişkin ilgili mevzuat hükümleri çerçevesinde Hayvan Deneyleri Etiği açısından uygun olduğuna; oybirliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Ali İŞMEN
Üye
(Başkan)

Prof. Dr. Yonca YÜCEER
Üye

Prof. Dr. Murat TOSUNOĞLU
Üye

Doç. Dr. Cemil TÖLÜ
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Başak BÜYÜK
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Canan AKMAN
Üye

Vet. Hek. Sait ELMAS
Üye

Tayfun TAŞBİLEK
Sivil Üye

Erdoğan GÜRSEL
Sivil Üye