

T.C.  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA KRONİK ÖNGÖRÜLEMİYEN HAFİF STRESİN  
NEDEN OLDUĞU DEPRESYON MODELİNDE PROPOLİSİN  
VASKÜLER FONKSİYONLAR ÜZERİNE ETKİLERİ**

Gülşen ÇELEBİ

Kocaeli Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin  
Farmakoloji Programı için Öngördüğü  
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır

KOCAELİ  
2019



T.C.  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA KRONİK ÖNGÖRÜLEMİYEN HAFİF STRESİN  
NEDEN OLDUĞU DEPRESYON MODELİNDE PROPOLİSİN  
VASKÜLER FONKSİYONLAR ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Gülşen ÇELEBİ**

Kocaeli Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin  
Farmakoloji Programı için Öngördüğü  
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır

DANIŞMAN

Doç. Dr. Semil Selcen GÖÇMEZ

Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi  
Proje No: KOU-BAP 2019/03  
Etik Kurul Onay No: HADYEK 1/7-2018

KOCAELİ  
2019

**KABUL ve ONAY**

**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE**

**Tez Adı:** Sıçanlarda Kronik Öngörülemeyen Hafif Stresin Neden Olduğu Depresyon Modelinde Propolisin Vasküler Fonksiyonlar Üzerine Etkileri

**Tez Yazarı:** Gülşen ÇELEBİ

**Tez Savunma Tarihi:** 20 Haziran 2019

**Tez Danışmanı:** Doç. Dr. Semil Selcen GÖÇMEZ

Bu çalışma sınav kurulumuz tarafından Farmakoloji Anabilim Dalı BİLİM UZMANLIĞI TEZİ olarak kabul edilmiştir.

| SINAV KURULU ÜYELERİ |                              | İMZA  |
|----------------------|------------------------------|---|
| ÜNVANI               | ADI SOYADI                   |   |
| DANIŞMAN             | Doç. Dr. Semil Selcen GÖÇMEZ |  |
| ÜYE                  | Prof. Dr. Bekir Faruk ERDEN  |  |
| ÜYE                  | Dr. Öğr. Üyesi Elif AKSÖZ    |  |

**Onay**

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

.../.../.....

Prof. Dr. Sema AŞKIN KEÇELİ

KOÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Müdürü

## ÖZET

### **Sıçanlarda Kronik Öngörülemeyen Hafif Stresin Neden Olduğu Depresyon Modelinde Propolisin Vasküler Fonksiyonlar Üzerine Etkileri**

**Amaç:** Bu çalışmada antiinflamatuvar, antioksidan, vazodilatör ve antihipertansif etki gösteren propolisin, kronik öngörülemeyen hafif stresin neden olduğu depresyon modeli geliştirilen sıçanların vasküler fonksiyonları üzerindeki etkileri ve bu etkilerin olası mekanizmalarının araştırılması amaçlandı.

**Yöntem:** Sıçanlar 4 gruba ayrıldı (n=8): kontrol, kontrol+propolis, stres, stres+propolis. 35 gün boyunca, kontrol+propolis ve stres+propolis gruplarına oral yoldan propolis ekstresi (100 mg/kg) uygulanırken, stres ve stres+propolis gruplarındaki sıçanlara, farklı tip stresörler uygulandı. Sıçanların depresyon-benzeri davranışlarını değerlendirmek için zorunlu yüzme testi uygulandı. Stres belirteci olarak serum kortikosteron düzeyi ölçüldü. Vasküler fonksiyonlar izole organ deneyleri yapılarak ölçüldü. Ek olarak torasik TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve eNOS düzeyleri ölçüldü.

**Bulgular:** Zorunlu yüzme testinde immobilité süresi ve serum kortikosteron düzeyleri, stres grubunda anlamlı düzeyde artarken (p<0.05), stres+propolis grubunda stres grubuna göre anlamlı düzeyde azaldı (p<0.05). Endotel-bağımlı karbakol gevşeme yanıtları ve torasik eNOS ekspresyonu stres grubunda kontrole göre anlamlı düzeyde azalırken (p<0.05), stres+propolis grubunda ise kontrole geri döndü. Endotel-bağımsız SNP gevşeme yanıtlarında gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı. Torasik TNF $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  ekspresyonu stres grubunda kontrole göre anlamlı düzeyde artarken (p<0.05), stres+propolis grubunda stres grubuna göre anlamlı düzeyde azaldı (p<0.05). Ek olarak, in vitro L-NAME ve indometasin inkübasyonu ile kümülatif propolis vazorelaksan yanıtları ve propolis inkübasyonundan sonra fenilefrin kasılma yanıtları anlamlı düzeyde azaldı (p<0.05).

**Sonuç:** Uzun süreli propolis uygulamasının, kronik strese bağlı olarak gelişen depresyon-benzeri davranışları ve vasküler fonksiyon bozuklukları düzelttiği gösterildi.

**Anahtar Kelimeler:** kronik stres, depresyon, torasik aorta, vasküler fonksiyon, inflamatuvar sitokinler, propolis

## ABSTRACT

### **The effects of propolis on thoracic aorta functions in chronic unpredictable mild stress-induced depression model of rats**

**Objective:** This study aimed to evaluate the effects of propolis which has antiinflammatory, antioxidant, vasodilator and antihypertensive activities, and the possible mechanisms on vascular functions in the CUMS-induced depressive rats.

**Method:** Rats were divided into 4 groups (n=8): control, control+propolis, stress, stress+propolis. The extract of propolis (100 mg/kg) was administered orally to control+propolis and stress+propolis groups, also in stress and stress+propolis groups, rats were subjected to different types of stressors daily for 35 days. The forced swimming test (FST) was applied for evaluation of depression-like behavior. Serum corticosterone level was measured as stress marker. Vascular functions were measured by isolated organ bath experiments. In addition, the levels of thoracic TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and eNOS were assessed.

**Results:** The immobility time in FST and serum corticosterone levels significantly increased in stress group (p<0.05), whereas decreased in stress+propolis group compared to the stress group (p<0.05). In stress group, endothelium-dependent relaxation to carbachol and thoracic eNOS expression were significantly decreased compared to control (p<0.05), whereas significantly reversed to the controls in stress+propolis group. Endothelium-independent relaxations to SNP was similar in all groups. The expressions of thoracic TNF $\alpha$  and IL-1 $\beta$  were significantly upregulated in stress group compared to the control group (p<0.05), while markedly decreased in stress+propolis group (p<0.05). In addition, cumulative propolis vasorelaxant responses after in vitro incubation of L-NAME and indomethasine; cumulative phenylephrine contractile response after propolis incubation significantly decreased (p<0.05).

**Conclusion:** Chronic treatment with propolis improved vascular endothelial function and depression-like behaviors linked to chronic stress.

**Keywords:** chronic stress, depression, thoracic aorta, vascular function, inflammatory cytokine, propolis

## TEŞEKKÜR

Yüksek öğrenimim ve tez çalışmalarımın tüm aşamalarında bana yol gösteren, çalışmalarımın gerçekleştirilmesinde ve sonuçlandırmasında büyük emeği olan, bilgi ve tecrübelerini esirgemeyerek tüm hoşgörü ve sabrıyla yakından ilgilenen ve destekleyen değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Doç.Dr. Semil Selcen GÖÇMEZ'e,

Tez çalışmalarım boyunca bilimsel katkılarıyla destek olan, akademik vizyon kazandıran, tecrübelerini paylaşmaktan çekinmeyen ve araştırma yapma olanağı sunan Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi Başkanı Sayın hocam Prof.Dr.Tijen UTKAN'a,

Tezimin deney döneminde çok desteğini gördüğüm Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi Veteriner Hekimi Sayın Cüneyt ÖZER'e ve tüm çalışanlarına,

Tez çalışmamda yer alan propolisin hazırlanması ve temininde destekleri olan Aksu Vital Doğal Ürünler A.Ş.'ye, çalışmalarım boyunca yardımını esirgemeyen Kocaeli Üniversitesi Kök Hücre ve Gen Tedavileri Araştırma ve Uygulama Merkez Müdürü Sayın Prof.Dr. Yusufhan YAZIR'a ve çalışmama çok değerli katkılarından dolayı Sayın Dr.Öğr.Üyesi Gökhan DURUKSU'ya,

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan sevgileri ve varlıklarıyla en büyük desteği veren annem Nurşen SÖNMEZ'e, babam İsmail SÖNMEZ'e ve kardeşim Merve SÖNMEZ SAV'a, gösterdiği sabır, anlayış ve manevi destek için eşim Tayfun ÇELEBİ'ye en içten teşekkürü borç bilirim.

Bu tez, Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından KOU-BAP 2019/03 numaralı proje ile desteklenmiştir.

## TEZİN AŞIRMA OLMADIĞI BİLDİRİSİ

Bu tez çalıŐmasını kendime ait olduğunu, tezin planlanmasından itibaren her aşamada tım bilgilerin akademik ve etik kurallar içinde elde edildiğini, bana ait olmayan çizim, izelge ve tım bilgilere kaynak gısterildiğini ve bu kaynakların kaynaklar listesinde eksiz yeraldığını ve tezimin Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzuna uygun olarak yazıldığını belirtirim. Tezimin herhangi bir yayından kısmen ya da tamamen aşırma olmadığını ve bir İntihal Programı kullanılarak test edildiğini beyan ederim.

28/05/2019

GÜLŞEN ÇELEBİ



## İÇİNDEKİLER

|   | <b><u>Sayfa</u></b> |
|---|---------------------|
| ÖZET  | iv                  |
| ABSTRACT  | v                   |
| TEŞEKKÜR  | vi                  |
| TEZİN AŞIRMA OLMADIĞI BİLDİRİSİ   | vii                 |
| İÇİNDEKİLER   | viii                |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ  | xii                 |
| ÇİZİMLER DİZİNİ   | xiii                |
| ÇİZELGELER DİZİNİ   | xiv                 |
| 1. GİRİŞ  | 1                   |
| 1.1 Major Depresif Bozukluk   | 3                   |
| 1.1.1 Major Depresif Bozukluğun Nöroanatomisi                             | 4                   |
| 1.1.2 Major Depresif Bozukluğun Patofizyolojisi                           | 5                   |
| 1.1.2.1 Monoamin hipotezi   | 6                   |
| 1.1.2.2 HPA ekseninin disregülasyonu                                      | 7                   |
| 1.1.2.3 Sitokin hipotezi ve immunolojik mekanizmalar                      | 7                   |
| 1.1.2.4 Major depresif bozuklukta stresin rolü ve nöroplastisite hipotezi | 8                   |
| 1.1.2.5 Major depresif bozuklukta genetiğin rolü                          | 9                   |
| 1.1.3 Major Depresif Bozukluğun Tedavisi                                  | 9                   |
| 1.1.4 Major Depresif Bozukluk ve Kardiyovasküler Hastalıkların İlişkisi   | 11                  |
| 1.2 Propolis  | 13                  |
| 1.2.1 Propolisin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri                         | 13                  |
| 1.2.2 Propolis Örneklerinde Belirlenen Bileşik Grupları                   | 14                  |
| 1.2.3 Propolisin Biyolojik ve Farmakolojik Özellikleri                    | 15                  |
| 1.2.3.1 Antiinflammatuvar etki  | 15                  |
| 1.2.3.2 Antioksidan etki  | 16                  |
| 1.2.3.3 Antihipertansif ve kardiyoprotektif etki                          | 16                  |
| 1.2.3.4 Antidepresan etki   | 17                  |
| 1.2.3.5 Diğer etkiler   | 18                  |
| 1.2.4 Propolisin Terapötik Kullanımı                                      | 19                  |
| 2. AMAÇ   | 20                  |

|  |    |
|--|----|
| 3. YÖNTEM  | 21 |
| 3.1 Deney Hayvanları   | 21 |
| 3.2 Deney Gruplarının Belirlenmesi   | 21 |
| 3.3 Deneyde Kullanılan Çözeltiler ve İlaçlar   | 22 |
| 3.4 Deneyin Uygulanması  | 22 |
| 3.4.1 Propolisin Uygulanması   | 22 |
| 3.4.2 Davranış Deneyleri   | 23 |
| 3.4.2.1 Kronik öngörülemez hafif stres prosedürünün uygulanması                      | 23 |
| 3.4.2.2 Zorunlu yüzme testi  | 23 |
| 3.4.3 İzole Organ Banyosu Deneyleri  | 24 |
| 3.4.3.1 KCl ile indüklenmiş kasılma yanıtları  | 25 |
| 3.4.3.2 Karbakol, SNP ve papaverin ile indüklenmiş gevşeme yanıtları                 | 25 |
| 3.4.4 in vitro İnkübasyon Deneyleri  | 25 |
| 3.4.5 Biyokimyasal ve Moleküler Analizler  | 26 |
| 3.4.5.1 Vasküler gen ekspresyon analizi  | 26 |
| 3.4.5.2 Serum kortikosteron düzeylerinin analizi                                     | 27 |
| 3.4.6 Deney Sonuçlarının İstatistiksel Analizi                                       | 28 |
| 4. BULGULAR  | 29 |
| 4.1 Propolis Ekstresinin GC-MS Analizi Sonuçları                                     | 29 |
| 4.2 Zorunlu Yüzme Testi  | 30 |
| 4.3 İzole Torasik Aorta Preparatının Yanıtları                                       | 31 |
| 4.3.1 Kasılma yanıtları  | 31 |
| 4.3.2 Gevşeme yanıtları  | 32 |
| 4.3.2.1 Karbakol gevşeme yanıtları   | 32 |
| 4.3.2.2 SNP gevşeme yanıtları  | 33 |
| 4.3.3 in vitro İnkübasyon Deneyleri  | 35 |
| 4.3.3.1 L-NAME ile inkübasyonun kümülatif propolis gevşeme yanıtlarına etkileri      | 35 |
| 4.3.3.2 İndometasin ile inkübasyonun kümülatif propolis gevşeme yanıtlarına etkileri | 36 |
| 4.3.3.3 Propolis ile inkübasyon sonrası kümülatif fenilefrin yanıtları               | 37 |
| 4.4 Biyokimyasal ve Moleküler Bulgular   | 38 |
| 4.4.1 Serum kortikosteron düzeyleri  | 38 |

|   |    |
|---|----|
| 4.4.2 İzole torasik aorta preparatında TNF $\alpha$ düzeyleri | 39 |
| 4.4.3 İzole torasik aorta preparatında IL-1 $\beta$ düzeyleri | 40 |
| 4.4.4 İzole torasik aorta preparatında eNOS düzeyleri         | 41 |
| 5. TARTIŞMA   | 42 |
| 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER                                       | 48 |
| KAYNAKLAR DİZİNİ  | 49 |
| ÖZGEÇMİŞ  | 55 |
| EKLER   | 57 |



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

|                   |  |
|-------------------|--|
| ACTH              | : Adrenokortikotropik hormon   |
| BDNF              | : Beyin kaynaklı nörotrofik faktör   |
| CRH               | : Kortikotropin salgılatıcı hormon   |
| DSM-V             | : Diagnostic and Statistical Manuel of Mental Disorders-Ruhsal Hastalıkların Tanı ve İstatistik Manueli 5. Baskısı |
| E <sub>maks</sub> | : Bir ilacın oluşturduğu maksimum yanıt, efikasite   |
| EC <sub>50</sub>  | : Maksimum etkinin %50' sini oluşturan ilaç konsantrasyonu   |
| EKT               | : Elektrokonvülsiyon tedavisi  |
| ELISA             | : Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay  |
| eNOS              | : Endotelial nitrik oksit sentaz   |
| GC-MS             | : Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi  |
| HIV               | : İnsan immün yetmezlik virüsü   |
| HPA               | : Hipotalamopitüiteradrenal eksen  |
| HVA               | : Homovalinik asit   |
| IL                | : Interlökin   |
| iNOS              | : İndüklenebilir nitrik oksit sentaz   |
| KAFE              | : Kafeik asit fenetilester   |
| KCl               | : Potasyum klorür  |
| KÖHS              | : Kronik öngörülemeyen hafif stres   |
| L-NAME            | : N <sub>ω</sub> -Nitro-L-arjinin metil ester  |
| MAO               | : Monoamin oksidaz   |
| MDB               | : Major depresif bozukluk  |
| MHPG              | : 3-metoksi-4-hidroksi-fenilglükol   |
| NF-κB             | : Nükleer faktör kappa B   |
| NLRP3             | : NOD-nükleotid bağlama oligomerizasyon domaini-benzeri reseptör proteini- 3                                       |
| NO                | : Nitrik oksit   |
| pD <sub>2</sub>   | : -log EC <sub>50</sub>  |
| PFK               | : Prefrontal korteks   |
| PGI <sub>2</sub>  | : Prostaglandin / Prostaglandin-I <sub>2</sub>   |
| SERT              | : Serotonin taşıyıcısı   |

SNP : Sodyum nitroprussiyat  
TNF $\alpha$  : Tumor nekroz faktörü alfa  
TxA<sub>2</sub> : Tromboksan A<sub>2</sub>  
5-HIAA : 5-hidroksi indol asetikasit  
5-HT : Serotonin



## ÇİZİMLER DİZİNİ

|   | <u>Sayfa</u> |
|---|--------------|
| <b>Çizim 1.1.</b> MDB belirtileri ile ilişkilendirilen önemli beyin bölgeleri .....   | 4            |
| <b>Çizim 1.2.</b> Endotelden salgılanan vazoaaktif maddeler .....   | 12           |
| <b>Çizim 4.1.</b> Propolis ekstresinin GC-MS analizi sonuçları .....  | 29           |
| <b>Çizim 4.2.</b> Zorunlu yüzme testinde immobilite süreleri .....  | 30           |
| <b>Çizim 4.3.</b> İzole torasik aorta preparatının 80 mM KCl ile elde edilen kasılma<br>yanıtları .....   | 31           |
| <b>Çizim 4.4.</b> $3 \times 10^{-6}$ - $10^{-5}$ M fenilefrin ile kasılmış izole torasik aorta<br>preparatlarında kümülatif karbakol konsantrasyon-yanıt eğrileri.....  | 32           |
| <b>Çizim 4.5.</b> $3 \times 10^{-6}$ - $10^{-5}$ M fenilefrin ile kasılmış izole torasik aorta<br>preparatlarında kümülatif SNP konsantrasyon-yanıt eğrileri .....  | 33           |
| <b>Çizim 4.6.</b> $3 \times 10^{-6}$ - $10^{-5}$ M fenilefrin ile kasılmış izole torasik aorta<br>preparatlarında kümülatif propolis konsantrasyon-yanıt eğrilerine<br>L-NAME ile inkübasyonun etkisi.....      | 35           |
| <b>Çizim 4.7.</b> $3 \times 10^{-6}$ - $10^{-5}$ M fenilefrin ile kasılmış izole torasik aorta<br>preparatlarında kümülatif propolis konsantrasyon-yanıt eğrilerine<br>indometasin ile inkübasyonun etkisi..... | 36           |
| <b>Çizim 4.8.</b> Propolis ile inkübasyonun kümülatif fenilefrin konsantrasyon-yanıt<br>eğrilerine etkisi .....   | 37           |
| <b>Çizim 4.9.</b> Serum kortikosteron düzeyleri .....   | 38           |
| <b>Çizim 4.10.</b> Torasik aorta TNF $\alpha$ düzeyleri .....   | 39           |
| <b>Çizim 4.11.</b> Torasik aorta IL-1 $\beta$ düzeyleri.....  | 40           |
| <b>Çizim 4.12.</b> Torasik aorta eNOS düzeyleri .....   | 41           |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

### Sayfa

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Çizelge 1.1.</b> Antidepresan ilaçların sınıflandırılması .....  | <b>11</b> |
| <b>Çizelge 3.1.</b> Gen ve primer dizileri .....  | <b>27</b> |
| <b>Çizelge 4.1.</b> Propolis ekstresinin GC-MS analizi sonuçlarına göre içeriğindeki<br>bileşenler.....   | <b>29</b> |
| <b>Çizelge 4.2.</b> İzole torasik aorta preparatında karbakol, SNP ve Papaverin için<br>$E_{maks}$ (% fenilefrin), 80 mM KCl için $E_{maks}$ (g) değerleri; Karbakol<br>ve SNP için $pD_2$ değerleri..... | <b>34</b> |

## 1. GİRİŞ

Major depresif bozukluk, karamsarlık, özgüven eksikliği, suçluluk ve değersizlik duyguları, intihar düşüncesi, motivasyon ve ilgi kaybı, özbakım eksikliği gibi duygusal belirtilerin yanısıra uyku bozuklukları, iştah düzensizliği, düşünme ve hareketlerde gerileme, cinsel istek kaybı gibi biyolojik belirtilerle karakterize kişinin yaşam kalitesini olumsuz etkileyen ve en sık görülen bir duygudurum bozukluğudur. Dünya genelinde yaşam boyu en az bir kez depresyon görülme sıklığı yaklaşık % 10-15' tir (Gold ve diğ. 2015).

Son yıllarda yapılan epidemiyolojik çalışmalarda psikolojik stres ve depresyonun kardiyovasküler hastalıkların gelişmesine anlamlı düzeyde katkısının olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalarda psikolojik stres ve depresyonun atreoskleroz ve vasküler endotel bozukluklarının gelişmesinde bağımsız bir risk faktörü olduğunu ortaya konmuştur (Black ve Garbutt 2002, Broadley ve diğ. 2002, Sherwood ve diğ. 2005).

Psikolojik stres ve depresyon, vasküler homeostazın korunmasında önemli rolü olan damar endotel tabakasının disfonksiyonu (Rajagopalan ve diğ. 2001), sempatik sinir sisteminin aktivasyonu ile ilişkili olarak hipotalamo-pitüiter eksenin aşırı aktivasyonu (Musselman ve diğ. 1998), renin-anjiyotensin sisteminin aktivasyonu ve bunların sonucu olarak katekolaminler, kortikosteroidler, glukagon, büyüme hormonu ve renin gibi çeşitli stres hormonlarının salgılanması, trombosit agregasyonunda artma (Musselman ve diğ. 1996), folat metabolizmasında bozulma ve homosistein seviyelerinde yükselme (Godfrey ve diğ. 1990) gibi çeşitli mekanizmalarla kardiyovasküler risk gelişimine neden olmaktadır (Broadley ve diğ. 2002, Rybakowski ve diğ. 2006).

Diğer yandan kronik stres sırasında endotel disfonksiyonu ile beraber endotel hücrelerine adezyon molekülleri yapışmakta ve inflamatuvar sitokinler arter çeperinde birikmektedir. Bunlara ek olarak stres, lipitlerin oksidasyonu ile aterosklerotik bir lipit profili oluşumunu indüklemekte ve kronik streste ise arteriyel trombozlara yol açabilecek aşırı pıhtılaşmalara yol açmaktadır (Black ve Garbutt 2002).

Sıçanlarda oluşturulan kronik öngörülemeyen hafif stres modeli, insandaki depresyon benzeri davranış değişikliklerine neden olduğu için, insan depresif bozukluklarının modellenmesinde çok faydalı ve güvenilir olup, yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Willner ve diğ. 1992). Bu model, sıçanların kronik olarak öngörülemeyen stresörlere



sürekli maruz bırakılması protokolüne dayanmakta ve ödüllere verilen yanıtın azalması, depresyonun temel belirtileri olan anhedoni ve çaresizlik davranışları da dahil olmak üzere davranışsal değişikliklerin gelişmesi ile sonuçlanmaktadır (Willner 2017).

Davranışsal değişikliklere neden olmasının yanısıra kronik öngörülemez hafif stres yapılan hayvan çalışmalarında, kalp hızının değiştiği, en az 4 haftalık prosedürün ardından sempatik kardiyak tonusun arttığı, serum trigliserid düzeylerinin yükseldiği, in vitro damar yanıtlarının değiştiği ve vasküler duvarda hipertrofi geliştiği gösterilmiştir (d'Audiffret ve diğ. 2010, Grippo 2009, Isingrini ve diğ. 2011, Li ve diğ. 2013, Neves ve diğ. 2009).

Halk arasında geleneksel olarak kullanılan propolisin zengin flavonoid, fenolik asit, terpenoid içerikleri nedeniyle çeşitli biyolojik aktiviteler gösterdiği bilinmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda propolisin antioksidan, anti-inflamatuvar, antihipertansif, vazodilatör, antidepresan ve immünomodülatör etkileri ortaya konmuştur (Chaurasiya ve diğ. 2014, Hu ve diğ. 2005; Kumazawa ve diğ. 2004, Lee ve diğ. 2013, Maruyama ve diğ. 2009, Teles ve diğ. 2015).

Bu nedenle bu çalışmada kronik öngörülemez hafif strese maruz kalan sıçanlarda vasküler düz kas yanıtlarındaki olası değişikliklerin ve bu değişiklikler üzerinde propolis uygulamasının etkilerinin ve etki mekanizmalarının araştırılması amaçlanmıştır.

## 1.1 Major Depresif Bozukluk

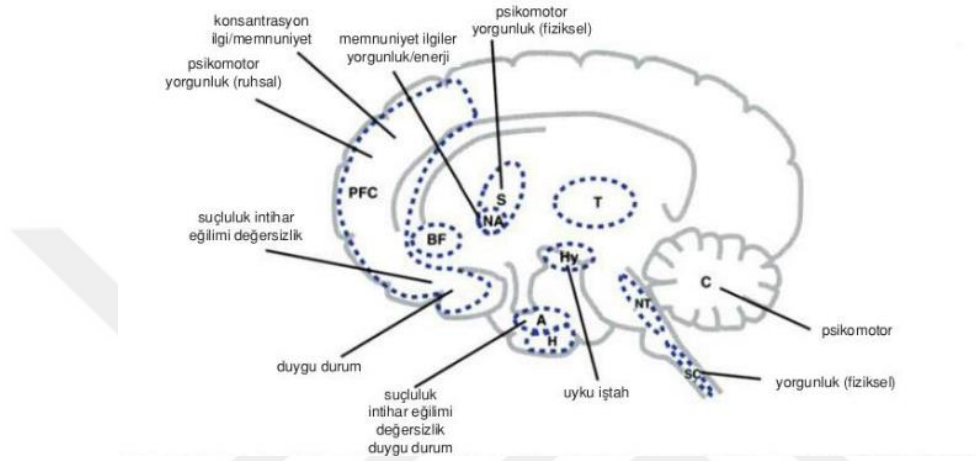
Yaşanılan olaylar karşısında uzun süreli, olağandışı şiddette ve içinde bulunulan duruma uygun düşmeyen abartılı duygudurum değişiklikleri duygudurum bozukluğu olarak adlandırılmaktadır. Duygudurumun yükselerek neşe ve coşkululuk yönünde kayması manide ve mutsuzluk, üzüntü ve keder yönünde kayması depresyonda gözlemlenmekte olup, bunlar duygudurum spektrumunun iki zıt ucunu teşkil etmektedirler (Stahl 2015).

Depresyon karamsarlık, intihar düşüncesi gibi duygusal belirtiler ile uyku bozuklukları gibi biyolojik belirtilerle karakterize kişinin iş, aile, sosyal ve bireysel hayatı da dahil olmak üzere yaşam kalitesini olumsuz etkileyen psikiyatrik bir bozukluktur (Stahl 2015, Uzbay 2007). Amerikan Psikiyatri Derneği'ne ait sınıflandırmaya (DSM-V, Diagnostic and Statistical Manuel of Mental Disorders-Ruhsal Hastalıkların Tanı ve İstatistik Manueli'nin 5. Baskısı) göre depresyon; major depresif bozukluk (MDB), distimik bozukluk ve başka türlü adlandırılmayan depresif bozukluklar olarak sınıflandırılmıştır (Amerikan Psikiyatri Birliği 2013). Major depresif bozukluk en az 2 hafta süren tek bir major depresif epizod halinde veya çoğu hastada olduğu gibi tekrarlayıcı epizodlarla seyreden, en yaygın görülen duygudurum bozukluğudur. Major depresif epizodların başlıca belirtileri; yaşamdan ve olağan etkinliklerden zevk alamama, apati gelişimi, özgüven eksikliği, suçluluk ve değersizlik duyguları, düşünme ve hareketlerde gerileme, bellek zayıflaması, kararsızlık, iştah düzensizlikleri, yorgunluk, psikomotor ajitasyon, duygudurumun küntleşmesi, psikomotor retardasyon, uyku bozuklukları ve intihar düşüncesidir (Kayaalp 2012). Dünya genelinde yaşam boyu en az bir kez depresyon görülme sıklığı yaklaşık %10-25 iken depresyonun kadınlarda (%15), erkeklere (%8) göre iki kat daha fazla geliştiği gözlemlenmiştir (Gold ve diğ. 2015).

Depresif hastalarda, koroner arter hastalığı, diyabet ve inme daha sık görülmekte ve depresyon komorbiditeleri olan hastaların prognozunu önemli derece kötüleştirir. Depresyon, kişileri mental ve ruhsal olarak etkilemenin yanısıra; inflamasyon, koagülasyon, metabolizma, otonomik fonksiyon, nöroendokrin düzenleme, uyku ve iştahı düzenleyen temel biyolojik süreçleri olumsuz etkilemekte (Gold ve diğ. 2015) ve kardiyovasküler sistemde dislipidemi, hipertansiyon ve nitrik oksit (NO) üretiminde bozulmalar gibi değişikliklere yol açmaktadır (Isingrini ve diğ. 2011).

### 1.1.1 Major Depresif Bozukluğun Nöroanatomisi

Depresyonun patofizyolojisinde önemli role sahip olduğu düşünülen bellek ve duygudurum değişikliklerinden sorumlu limbik sistemin önemli oluşumları (Çizim 1.1.); talamus, hipotalamus, amigdala, hipofiz, pineal bez ve hipokampus ile beyin ödül sisteminin önemli elemanları olan ventral tegmental alan ve nükleus akumbensdir (Uzbay 2004).



**Çizim 1.1.** MDB belirtileri ile ilişkilendirilen önemli beyin bölgeleri

PFC:prefrontal korteks, BF:bazal ön beyin, S:striatum, NA:nükleus akumbens, T:talamus, Hy:hipotalamus, A:amigdala, H:hipokampus, SC:spinal kord, C:serebellum Stahl(2012)'dan alınarak modifiye edilmiştir.

Prefrontal korteks (PFK), santral sulkusun önünde bulunan frontal korteksin bir parçası olup üç ana bölümden oluşmaktadır: (i) problem çözme ve analiz gibi bilişsel işlevlerin bütünleyicisi dorsolateral prefrontal korteks, (ii) göz ve orbitanın üzerinde bulunan, dürtüleri ve takıntıları kontrol eden, kısmen amigdala tarafından üretilen davranışsal ya da duygusal tepkilerin düzenlenmesinde rol oynayan orbital frontal korteks ve (iii) anterior singulat korteks (Palazidou 2012, Stahl 2012).

Depresyon ile ilgili en çok çalışılan beyin yapıları; PFK, amigdala ve özellikle öğrenme ve bellekte önemli rolü olan ve neonörogenezin devam ettiği iki beyin bölgesinden biri olduğundan yüksek nöroplastisite kapasitesine sahip olan hipokampustur (Duman 2014, Palazidou 2012, Slattery ve diğ. 2004).

Manyetik rezonans çalışmalarında, kontrollere kıyasla depresif hastaların beyin hacimlerinde anterior singulat ve orbitofrontal kortekste yüksek düzeyde azalmaların ve hipokampuste, putamenlerde ve kaudatta orta düzeyde azalmaların olduğu gösterilmiştir

(Koolschijn ve diğ. 2009). Pozitif emisyon tomografi çalışmalarında, duyguların işlenmesinde önemli rolü olan birçok prefrontal kortikal ve limbik yapıda bölgesel serebral kan akımında ve glikoz metabolizmasında anormallikler olduğu gösterilmiştir. Depresyonda, duygusal verileri işleyen ventromediyal prefrontal korteksin aktivitesinde artış gözlenirken, dorsolateral prefrontal korteksin aktivitesinde azalma olduğu ve bu azalmanın depresyonun belirtileri olan psikomotor gerilik ve anhedoni ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Drevets 1998).

Antidepresan tedavi almayan depresif hastalarda amigdalanın hacminde azalma olduğu bildirilmiştir (Hamilton ve diğ. 2008). Kronik antidepresan ilaç tedavisi, amigdala ve anterior singulat kortekste metabolik etkinliği azalttığı ve hipokampal hacimde artmaya neden olduğu gösterilmiştir (Palazidou 2012). Remisyon sağlanmış hastaların, remisyon sağlanamamış hastalara kıyasla daha büyük hipokampal hacimlere sahip olmaları yapısal bozuklukların tersine çevrildiğini ve klinik iyileşme sağlandığını düşündürmektedir (Frodl ve diğ. 2004).

### **1.1.2 Major Depresif Bozukluğun Patofizyolojisi**

Major depresif bozukluğun patofizyolojisinin tek bir mekanizma ile açıklanamayacak kadar komplike olması çeşitli nörokimyasal, nörotrofik ve nöroendokrin faktörlerin de rol oynadığını göstermektedir (Duman 2014, Katzung 2014).

Major depresif bozukluğun nörobiyolojisinin merkezinde yer alan klasik görüş, monoaminlerin miktarlarında ve işlevlerinde bir eksikliğin veya bozukluğun olduğuna dayanan monoamin hipotezidir (Katzung 2014).

Depresyonda rol oynayan başlıca nöroendokrin mekanizmaların temelinde adrenal, tiroid ve büyüme hormonları yer almaktadır. Depresyonda hipotalamo-pitüiter-adrenal (HPA) eksenindeki düzensizlikler kortizolün aşırı salınımına, hipokampal hacmin azalmasına ve PFK aktivitesinde azalmaya neden olmaktadır (Palazidou 2012). Deprese hastaların yaklaşık %25' inde tirotropin salıverici hormona tirotropin yanıtının küntleştiği ve depresif epizodlarda kandaki tiroksin seviyelerinde artış gibi tiroid disregülasyonu olduğu bildirilmiştir (Karamustafalıoğlu ve Yumrukçal 2011).

Depresyonun nörotrofik desteğin kaybı ile ilişkilendirilerek etkili antidepresan tedavilerin beyin kaynaklı nörotrofik faktörün (BDNF) miktarını ve hipokampus gibi kortikal alanlardaki nörojenezi arttırdığı gösterilmiştir (Palazidou 2012).

### 1.1.2.1 Monoamin hipotezi

Depresyonun etiyolojisi hakkında 1960'ların ortalarında ileri sürülen monoamin hipotezine göre beyinde belli bölgelerde noradrenalin, serotonin ve dopamin monoaminlerinin oluşturduğu monoaminerjik nörotransmitter sisteminin tümünü ilgilendiren işlev bozukları mevcuttur (Schildkraut 1965).

Sinaptik aralıkta monoamin geri-alımını (trisiklik antidepresanlar) veya enzimatik katabolizmayı (monoamin oksidaz inhibitörleri) inhibe ederek sinapslarda monoaminerjik iletişimi ve etkinliği arttıran ilaçların depresyonu tedavi edici etkilerinin olması (Uzbay 2007), yüksek dozda rezepin tedavisinin olguların yaklaşık %10-15' inde endojen depresyona benzer depresyon oluşturması (Delgado 2000), depresyonlu hastalarda, noradrenalinin ana metaboliti 3-metoksi-4-hidroksi-fenilglükolün (MHPG) idrarla itrahının kontrollere göre anlamlı düzeyde düşük olması (Maas ve diğ. 1968) ve benzer şekilde beyinde serotoninin ana metaboliti 5-hidroksi indol asetikasitin (5-HİAA) ve dopaminin ana metaboliti homovalinik asitin (HVA) depresif hastalarda kontrollere göre düşük olduğunun gözlemlenmesi (van Praag 1982) monoaminerjik nörotransmitter sistemindeki işlev bozukluğunu kanıtlamaktadır.

Duygudurumdaki bozulmaların temelinde santral sinir sistemindeki tüm nöromediyatör sistemler arasındaki dengenin değişmesine bağlı olarak geliştiğine inanılmaktadır. Örneğin, Noradrenalin tipi depresyonlular olarak isimlendirilen ve noradrenalin geri-alımını inhibe eden ilaçlara (imipramin, desipramin gibi) iyi yanıt veren depresif hastalara p-klorofenilalanin verilmesiyle beyin serotonin seviyelerinin düşmesi sonucu ilaçların tedavi edici etkilerinin ortadan kalkması imipraminin etki gösterebilmesi için serotonerjik sistemin yeterli etkililiğe sahip olması gerektiğini kanıtlamaktadır (Kayaalp 2012).

Serotonin ve noradrenalin sistemleri üzerine etki eden antidepresanların hiçbirine yanıt vermeyen dirençli olguların olması, antidepresan ilaçların uygulanmasından sonra kısa süre içinde sinaptik aralıkta ve presinaptik nöron içindeki nörotransmitterlerin miktarının artmasına karşın, klinik düzelmenin ortaya çıkması için birkaç haftalık süre gerektirmesi (Kotan ve diğ. 2009), mianserin ve iprindol gibi antidepresan etki mekanizmasının monoaminlerin geri alınması ile ilişkili olmayan birçok antidepresan ilacın bulunması (Kotan ve diğ. 2009), monoaminlerin geri alınmasını inhibe eden fakat antidepresan özellikleri olmayan amfetaminler ve kokain gibi bileşiklerin varlığı (Kotan ve diğ. 2009) ve tianeptinin serotonin geri-alımını selektif inhibe eden ilaçlara zıt etki mekanizmasına

sahip olmasına rağmen antidepresan etki düzeyleri arasında anlamlı fark bulunmaması gibi depresyona ilişkin bazı parametreleri açıklamada monoamin hipotezi yetersiz kalmış ve bu hipotezin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmuştur (Uzbay 2007).

### **1.1.2.2 HPA ekseninin disregülasyonu**

Major depresyonlu hastaların yaklaşık yarısında HPA ekseninde hiperaktivite gelişmesine bağlı olarak, adrenokortikotropik hormon (ACTH), kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH) ve adrenal korteksten kortizol salgılanması artmakta ve plazma düzeyleri yükselmektedir. Buna ek olarak, glukokortikoidlerin hipotalamus ve hipofizde sırasıyla CRH ve ACTH salgılayan hücreler üzerindeki negatif feedback inhibitör etkisi azalmaktadır. Hem ekzojen glukokortikoidlerin hem de endojen kortizol seviyelerinin yükselmesi, major depresif bozuklukta görülen bilişsel kayıplar ve mizaç semptomları ile ilişkilendirilmiştir (Katzung 2014, Kayaalp 2012). Bazı depresif hastaların HPA eksenindeki disregülasyonunun temelinde CRH salgılayan hipotalamik nöronlar üzerindeki serotonerjik ve noradrenerjik inhibitör tonusun azalması olduğu ileri sürülmüştür (Kayaalp 2012).

### **1.1.2.3 Sitokin hipotezi ve immunolojik mekanizmalar**

İmmun sistemin sinyalizasyonunda görev alan proinflamatuvar sitokinler, major depresyonda görülen yorgunluk, uyuşukluk, iştahsızlık, disfori ve kaygı gibi belirtilerin ortaya çıkmasında rol oynamaktadır (Iwata ve diğ. 2013, Palazidou 2012). Depresyonda immün aktivitede ve özellikle de IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinlerin serum düzeylerinde artış söz konusudur (Palazidou 2012). Artan proinflamatuvar sitokin konsantrasyonları, periferik triptofan depleksiyonuna yol açarak noradrenerjik aktivitede değişikliklere ve HPA ekseninin uyarılmasına neden olmaktadır. İnflamatuvar sitokinlere kronik maruziyetin glukokortikoid reseptör fonksiyonlarındaki bozulmalarla ilişkili olduğu bildirilmiştir (Palazidou 2012).

İmmun sistemi güçlü bir şekilde aktive ettiğinden belirli kanser türlerinin tedavisinde kullanılan interferonun, doza bağlı depresif belirti geliştirme prevalansının (%50) yüksek olduğu gözlenmiştir (Raison ve diğ. 2006).

Pro-IL-1 $\beta$ 'nin işlenmesi ve salıverilmesi, inflamazom adı verilen çoklu protein kompleksinin bir parçası olan NLRP3 (NOD-nükleotid bağlama oligomerizasyon domaini-benzeri reseptör proteini- 3) aracılığıyla gerçekleştirilmektedir. Psikolojik stres, NLRP3

inflamazomunu aktive ederek IL-1 $\beta$  salınımında artışa ve depresif belirtilerin gözlenmesine neden olmaktadır (Iwata ve diğ. 2013).

Günlük hayatta karşılaşılan yüksek psikolojik stres, immun sistemi ve biyolojik savunma mekanizmalarını harekete geçirmek için bir "uyarı" olabilir. Kontrol altına alınamadığında kronik stres ve immün yanıtlar, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, artrit gibi sistemik komorbidite ve depresyona gelişimine neden olmaktadır (Iwata ve diğ. 2013).

#### **1.1.2.4 Major depresif bozuklukta stresin rolü ve nöroplastisite hipotezi**

1960'ların sonlarına doğru hipokampusun glukokortikoidlerin kendilerine özgü reseptörlere bağlanması açısından en duyarlı bölgesi olduğunun ileri sürülmesi stres ile psikiyatrik hastalıklar arasındaki bağlantının temelini oluşturmuştur (McEwen ve diğ. 1969). Çocukluk çağında istismara uğramış depresif kişilerde, psikososyal strese yanıt olarak HPA eksenini etkinliğinde artış gözlenmiştir (Palazidou 2012). Strese yanıt olarak salıverilen glukokortikoidlerin düzeyleri, major depresyon ve Cushing hastalığı gibi bazı patolojik durumlarda da yükselmektedir (Starkman ve diğ. 2003). Son zamanlarda yapılan araştırmalarda önceki çalışmalardan elde edilen bu verileri destekler nitelikte sonuçlar elde edilmiş ve stresli yaşamın depresyonu tetiklediği vurgulanmıştır (Boyer 2000, Schatzberg ve diğ. 2003).

Depresyonla ilişkili son yıllarda yapılan araştırmalarda, özellikle nöronal büyüme, sağkalım, olgunlaşma ve sinaptik plastisitede önemli rol oynayan BDNF bakımından zengin olan hipokampus üzerine yoğunlaşmıştır (Slattery ve diğ. 2004). Stres, hipokampusta BDNF sentezini baskımlarken; antidepresan ilaçlar, hipokampus ve prefrontal kortekste BDNF sentezini ve sinyalizasyonunu arttırmaktadır (Shimizu ve diğ. 2003).

Tekrarlayan depresif epizodları olan, antidepresan tedaviye dirençli veya uzun zamandır major depresif bozukluğu olan olgularda hipokampal hacimde azalma gözlenirken, yaşı ilerlememiş, hastalık süresinin daha kısa olduğu veya az sayıda depresif epizodları olan olgularda ise hipokampal değişikliklerin olmaması (Sala ve diğ. 2004), depresyonun hipokampus gibi önemli bölgelerde yapısal değişiklik ve bozulmalara neden olabileceğini göstermektedir. Bu bulgulara dayanarak depresyonda nöroplastisite hipotezi ileri sürülerek depresyonun patofizyolojisi açıklanmaya çalışılmıştır (Fuchs ve diğ. 2004). Nöroplastisite hipotezine göre monoaminlerin yanı sıra glutamat gibi eksitator nörotransmitterlerin miktarlarındaki değişimler hipokampus gibi önemli beyin bölgelerinde remodelling ile ilişkilendirilmiştir (Uzbay 2007).

### **1.1.2.5 Major depresif bozuklukta genetiğin rolü**

Genetik faktörlerin etkisiyle bazı olgularda depresyona yatkınlık oluşturabileceği ve depresyonun kısmen kalıtsal olduğu konusunda çok sayıda araştırmada birbirlerini destekler nitelikte sonuçlar elde edilmesine rağmen, genetik aktarımın mekanizması tam olarak bilinmemektedir (Levinson 2005). Monozigotik ikizlerde yapılan çalışmada major depresif bozuklukta kalıtım derecesinin % 37 seviyelerinde olması, depresyonun ailede görülme sıklığının popülasyondakinden daha yüksek oluşu ve monozigotik ikizlerde dizigotiklere göre daha sık rastlanması da depresyonda genetik faktörlerin rolünü ortaya koymaktadır (Belmaker ve Agam 2008, Palazidou 2012).

Duygudurum bozukluklarından tek bir gen değil, çok sayıda incinebilirlik geni ve çevresel stresörler belirli beyin devrelerinde bilgi işlemenin bozulmasına ve depresif epizodun gelişmesine yol açmaktadır (Stahl 2015, Gatt ve diğ. 2010).

Serotonin taşıyıcısı (SERT) geninde s alleli yönünden homozigot kişilerde, amigdala ve devrelerinde stres verici yük olarak kabul edilen korkmuş yüzlere aşırı tepki verme, birden fazla yaşam stresörüne maruz kalındığında daha yüksek olasılıkla bir depresif epizod gelişimi, hipokampal atrofilerde artma ve olasılıkla daha fazla bilişsel belirti gözlenebilmektedir. Bunlara ek olarak antidepresanları tolere etmeleri ve bu ilaçlara yanıt vermeleri daha düşük olasılıklıdır. SERT geninde l alleli olan kişilerde bu durumun aksi söz konusu olduğundan daha dayanıklı bir genotip söz konusudur. SERT geninin s veya l genotipinde olması, amigdalanın afektif bilgi işleme verimliliğini etkileyerek yetişkin dönemde maruz kalınan çoğul yaşam stresörleriyle karşılaşıldığında major depresyon geliştirme eğilimi olup olmadığını açıklamaktadır (Stahl 2015).

### **1.1.3 Major Depresif Bozukluğun Tedavisi**

Major depresif bozukluğun uzun vadede tekrarlayan epizodlarla kronik seyirli olması ve depresif kişilerde ciddi morbidite ve mortalite gelişiminin sıklıkla gözlenmesi, ilk depresif epizodun gözlendiği durumda etkili antidepresan tedavisine başlanmasını gerektirmektedir. Akut depresif epizodun ardından hastalığın nüksünü ve birden fazla depresif epizod gelişimini önlemek için remisyon sağlandıktan sonra tedaviye birkaç ay daha devam edilmelidir, çünkü ilk depresif epizod sonunda iyileşme sağlanan hastaların yaklaşık yarısında, idame antidepresan tedavisi almamaları durumunda altı ay içerisinde diğer bir depresif epizodun geliştiğine dair kanıtlar bulunmaktadır (Palazidou 2012).



Major depresyonu olup tedavi edilmeyen olguların yaklaşık %15' inde intihara eğilim gözlenmektedir (Gold ve diğ. 2015). İş gücü kaybına yol açması ve intiharla sonuçlanması gibi durumlar gözönüne alındığında depresyon mutlaka tedavi edilmeli ve takip edilmelidir (Uzbyay 2007).

Monoamin hipotezi doğrultusunda monoaminlerin sinaptik etkinliğini arttıran ilaçların antidepresan etkiye sahip olabileceği öngörüsü ile trisiklik antidepresanlar, selektif serotonin geri-alım inhibitörleri ve serotonin/noradrenalin geri-alım inhibitörleri gibi antidepresan ilaç gruplarının keşfi gerçekleşmiş ve tedavide kullanılmaya başlanmıştır (Çizelge 1.1.).

1950'lerin sonlarında tedaviye giren ilk antidepresan ilaç grubu trisiklik antidepresanlardır. Yine aynı dönemde monoamin oksidaz (MAO) inhibitörleri monoamin düzeyini yükselterek depresyonu tedavi etmek amacıyla kullanıma girmiştir. Daha güçlü etki ve daha az yan etki için özgül inhibitörler olan MAO'nun alt tiplerine özgül antidepresanlar ve noradrenalin veya serotonin geri-alımına özgül inhibitörleri 1960'lı ve 1970'li yıllarda geliştirilerek tedavide kullanılmıştır. Monoaminlerden birine daha selektif fluoksetin ve paroksetin gibi selektif serotonin geri-alım inhibitörleri ve reboksetin gibi selektif noradrenalin geri-alım inhibitörleri yakın zamanda tedaviye girmiştir (Pacher ve diğ. 2001). Serotonerjik etkinliği arttırmaya yönelik tedavi yaklaşımı sadece sinapta serotonin geri-alımının inhibe edilmesi ile kalmamış ve serotonin 5-HT<sub>2</sub> ve 5-HT<sub>3</sub> reseptörleri başta olmak üzere serotonerjik reseptörleri etkileyen ilaçlar geliştirilerek tedavide yoğun olarak kullanılmıştır (Uzbyay 2007).

Depresyonun tedavisinde antidepresan ilaçlar kadar etkin bir diğer tedavi yöntemi, etkisi çabuk başlayan elektrokonvülsiyon tedavisi (EKT) dir. Deney hayvanlarında ve klinikte depresyonlu olgulara EKT uygulanmasıyla, depresyonla ilişkili belirtilerin düzeldiği ve noradrenalin turnoverında uzun süreli artış olduğu gösterilmiştir (Kayaalp 2012).

Antidepresan tedavi ile nörotransmitterler arasında bozulan denge yeniden sağlanmakta ve hipokampal remodelling düzeltilmektedir. Kronik antidepresan kullanımı nöroprotektif etki ortaya çıkararak nöronları ve sinapsların normal yapısını korumasını sağlamaktadır (Fuchs ve diğ. 2004). Depresif hastalarda, düşük serum BDNF düzeylerinin antidepresan ilaçlar veya elektrokonvülsif tedavi ile arttığı gösterilmiştir (Shimizu ve diğ. 2003).

**Çizelge 1.1.** Antidepresan ilaçların sınıflandırılması. Kayaalp (2012)' den alınmıştır.

| <b>İlaç Örnekleri</b>   |  |
|---|--|
| <b>Trisiklik antidepresanlar ve benzerleri</b>                  | Trisiklik antidepresanlar; imipramin, desipramin, klomipramin, amitriptilin, nortriptilin, protriptilin, opipramol, trimipramin, doksepin, amoksapin.<br>Trisiklik benzeri antidepresanlar; maprotilin, trazodon, mianserin ve bupropion.                                |
| <b>Selektif serotonin geri-alım inhibitörleri ve benzerleri</b> | Selektif serotonin geri-alım inhibitörleri; fluoksetin, sertralın, paroksetin, fluvoksamin, sitalopram, essitalopram.<br>Selektif serotonin geri-alım inhibitörleri benzeri antidepresanlar; mirtazapine, venlafaksin, reboksetin, atomoksetin, milnasipran, duloksetin. |
| <b>Monoamin oksidaz inhibitörleri</b>                           | MAO-A selektif inhibitör; moklobemid.  |
| <b>Lityum ve diğer duyudurum dengeleyicileri</b>                | Lityum, karbamazepin, okskarbazepin, lamotrijin.   |
| <b>Antidepresan ve/veya antimanik etkili diğer ilaçlar</b>      | Amineptin, tianeptin, nöroleptikler (haloperidol, flupentiksol, risperidon, ketiapin), valproik asit, alprazolam, L-triptofan, verapamil, agomelatin.  |

#### **1.1.4 Major Depresif Bozukluk ve Kardiyovasküler Hastalıkların İlişkisi**

Bütün sağlıklı damar düz kaslarında bulunan endotel, vazoaaktif maddelerin salımını sağlayarak vasküler tonusun düzenlenmesinde, vasküler homeostazın sağlanmasında ve inflamasyonun kontrolünde rol oynamaktadır. Sağlıklı endotel vazodilatasyona eğilimlidir. Endotelden salgılanan NO, prostasiklin (PGI<sub>2</sub>), bradikinin ve asetilkolin endotelden salgılanan vazodilatör maddeler ve tromboksan A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>), serbest radikaller, endotelin ve anjiyotensin-II vazokonstriktör maddeler olup Çizim 1.2.'de gösterilmiştir (Andor ve Tomescu 2005).



ve tedavisi için stresin kardiyovasküler etkilerinin mekanizmalarının anlaşılması gerekmektedir (Neves ve diğ. 2009).

## **1.2 Propolis**

Propolis, bal arılarının (*Apis mellifera L.*) çeşitli bitkilerin dal, tomurcuk ve filizlerinden topladığı özütleri, salgıladıkları enzimlerle biyokimyasal değişikliğe uğratarak bir miktar balmumu ve diğer bitkisel maddelerle karıştırarak oluşturduğu reçinemsî organik bir maddedir (De Castro 2001, Hu ve diğ. 2005, Seven ve diğ. 2007).

Propolisin, bal arıları tarafından kovanın girişini, boşluklarını, çatlaklarını doldurmada ve duvarlarını güçlendirmede, bu sayede kovanın dış etkenlerden korunmasını sağlamada ve gerekli olan nemin ve sıcaklığın sürekliliğinin sağlanmasında olduğu gibi mekanik kullanımı dışında, kovanda bakteri ve diğer mikroorganizmaların büyüyeceği bir ortam sağlama, kovan içinin dezenfekte edilmesi, kovanda ölen ve dışarı taşıyamayacakları kadar büyük canlıların çürüyüp mikroorganizma üretmesini engellemek için canlıların vücudunun propolis ile kaplanmasında kullanılması ise kimyasal bir temele dayanabileceğini düşündürmektedir (Burdock 1998, De Castro ve diğ. 2002). Kovanlarındaki kullanımları göz önüne alındığında, arıların propolisi kolonideki olumsuz çevre koşullarına cevap olarak oluşturduğunu söylemek mümkündür.

Çok eskiden beri halk arasında yaraların iyileştirilmesi ve hastalıklardan korunmak amacıyla yer edinmiş geleneksel propolis kullanımı günümüzde de devam etmekte ve yeni geliştirilen kişisel bakım ürünlerinde de yerini almaktadır (De Castro 2001, Ghisalberti 1979, Kartal ve diğ. 2003).

### **1.2.1 Propolisin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri**

Propolis, elde edildiği kaynağa ve tazelik derecesine göre kirli sarıdan koyu kahverengine değişen renkte olup lipofilik karakteristiktir. Keskin, hoş ve aromatik kokuludur. Soğukken sert ve kırılabilir, sıcak olduğunda yumuşak, esnek ve çok yapışkandır (Ghisalberti 1979, Marcucci 1995). Propolisin çözünürlüğü % 95'lik etil alkolde yüksek suda ve eter gibi diğer organik çözücülerde ise düşüktür (Seven ve diğ. 2007).

Ham propolis reçinesindeki bileşenler, arılar tarafından toplanan bitki özleri, arı metabolizmasından salgılanan maddeler ve propolis hazırlığı sırasında toplanan malzemeler olmak üzere üç kaynaktan ileri gelmektedir (Burdock 1998, Marcucci 1995).

Propolisin üretiminde bal arılarının bitki özleri, bitkilerden salgılanan veya çatlaklarından sızarak atılan maddeleri kullanması ve bunları enzimleriyle biyokimyasal değişikliğe uğratması söz konusu olduğundan, propolisin bileşimi üretildiği bölgeye, mevsime ve coğrafik alandaki bitki örtüsü çeşitliliğine ve bal arısı türlerindeki çeşitliliğe bağlı olarak değişiklik ve çeşitlilik göstermektedir (Bankova ve diğ. 2000, Ghisalberti 1979).

Propolis genel olarak reçine, balmumu, esansiyel ve aromatik yağlar, polen gibi organik bileşenlerin yanısıra inorganik elementlerden de zengindir (Burdock 1998).

### **1.2.2 Propolis Örneklerinde Belirlenen Bileşik Grupları**

Propolisin temel bileşenlerini flavonoidler, fenolik asitler, fenolik asit esterleri, steroidler ve aminoasitler teşkil etmektedir (Tolba ve diğ. 2013).

Propolisten en yaygın izole edilen bileşen, farklı yapı ve özellikte pek çok türevi bulunan fenilbenzopiran yapısındaki flavonoidlerdir. Propoliste bulunan chrysin, tectochrysin, isalpinin, ramnositrin, galangin, apigenin, pinostrobin, pinosembrin, pektolarigenin ve pinobanksin gibi flavonoidlerin antimikrobiyal ve bakteriyostatik özellik gösterdiği bildirilmiştir (Ghisalberti 1979, Kuropatnicki ve diğ. 2013). Kersetin ve bazı diğer flavonoidlerin ise antiinflamatuvar özellik göstererek aterosklerotik plak oluşumunu ve platelet agregasyonunu önledikleri, damar düz kasını gevşemesine destek oldukları, buna ek olarak antiviral, karsinostatik, antiülser ve anesteziye etkilere sahip olduğu belirtilmiştir (Popravko ve diğ. 1969).

Propolis bileşiminde flavonoid olmayan sinnamil alkol, sinnamik asit, vanillin, isovanillin, kafeik asit ve ferulik asit gibi basit aromatik bileşikler de bulunmaktadır (De Castro 2001). Propolisteki kafeik asit ve ferulik asit gibi hidroksisinnamik asit türevleri ve diğer fenolik bileşikler, potent antioksidan ve antimikrobiyal özellik göstermektedir (Clifford 2000, Ghisalberti 1979, Kartal ve diğ. 2003). Propolisin fenolik yapıdaki diğer aktif bileşeni kafeik asit fenetilester (KAFE), potent antioksidan ve antiinflamatuvar (Kartal ve diğ. 2003) etkilerelere sahiptir. Bu iki temel etkinin dışında immunomodülatör, nöroprotektif, kardiyoprotektif etkiler de göstermektedir (Tolba ve diğ. 2013). İzole sıçan torasik aortasında yapılan bir çalışmada, KAFE'nin vazodilatör aktivite gösterdiği ve çeşitli mekanizmalarla miyokardiyal oksidatif hasara karşı koruyuculuğu olduğu bildirilmiştir (Long ve diğ. 2009).

Propolis örneklerinde B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, C, E, nikotinic asit, pantotenik asit vitaminlerinin varlığı da gösterilmiştir (Haydak ve Palmer 1942).

### **1.2.3 Propolisin Biyolojik ve Farmakolojik Özellikleri**

Her doğal karışım gibi propolisin de biyolojik ve farmakolojik etkileri, temelde izole edilen çok sayıda biyolojik aktif bileşene (flavonoidler ve hidroksisinnamik asit türevleri gibi fenolik bileşikler) ve bunların sinerjistik aktivitelerine dayanmaktadır (Burdock 1998, Marcucci 1995).

Araştırmaların çoğunda propolisin etanolik ekstresi kullanılmış olmakla birlikte su ve diğer başka çözücüleri propolisin ekstraksiyonunda kullanan çalışmalar da mevcuttur. Ekstraksiyonda kullanılan çözücüye bağlı olarak ekstrakte edilen bileşenlerin değiştiği ve dolayısıyla mikrobisidal etkide değişiklik olduğu bir çalışmada gösterilmiştir (Tosi ve diğ. 1996).

#### **1.2.3.1 Antiinflammatuvar etki**

Propolisin sulu ekstresinin, steroid olmayan antiinflammatuvar ilaçlar gibi dihidrofolat redüktaz enzimini inhibe ettiği gösterilmiştir. Kafeik asit varlığı, propolisin inflamasyondan koruyucu fonksiyonlarıyla ilişkili bulunmuştur (Strehl ve diğ. 1994).

Farelerde geliştirilen artrit, akut inflamasyon ve pençe ödemi gibi in vivo inflamasyon modellerinde, propolisin antiinflammatuvar etkisi olduğu ve bazı olgularda klasik antiinflammatuvar ilaçlara benzer etki gösterdiği gözlenmiştir (Scheller ve diğ. 1989a).

Lipopolisakkarit aracılı üveit modeli oluşturulan sıçanlarda propolis uygulamasının gözdeki inflammatuvar süreci durdurduğu ve hastalık tablosunda gerilemeye yol açtığı gösterilmiştir (Ertürküner ve diğ. 2016).

Kornea katerizasyonundan sonra tavşanlarda propolisin sulu ekstresi topikal uygulanmış ve lezyonlarda iyileşmenin ve inflammatuvar süreçte azalmanın deksametazona benzer şekilde olduğu görülmüştür. Bu etki, propolisin siklooksijenaz ve lipoksijenaz etkilerini inhibe etmesiyle ilişkilendirilmiştir (Hepşen ve diğ. 1999).

Propolisin içerdiği KAFE'nin, nötrofillerden ve makrofajlardan histamin, lökotrien ve prostaglandin salımını inhibe ettiği in vitro deneylerde gösterilmiştir (Mirzoeva ve Calder 1996).

### **1.2.3.2 Antioksidan etki**

Propolisin antioksidan etkisi *in vitro* olarak çeşitli çalışmalarda incelenmiştir. Propolisin antioksidan aktivitesi serbest radikal süpürücü özelliği ve yüksek miktarda fenolik içeriği ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (De Castro 2001).

Propolisin *in vivo* antioksidan etkisinin incelendiği bir çalışmada, sıçanların besinlerine propolis eklenip E vitamini eksik bırakılmış, 4. ve 8. haftaların sonunda propolisin hidrofilik bir antioksidan gibi davranarak plazma ve çeşitli organlarında C vitamini seviyelerinin kontrole göre anlamlı artmasına ve bağırsaktaki lipid peroksidazların azalmasına neden olduğu gösterilmiştir (Sun ve diğ. 2000). Propolisin sulu ekstresinden izole edilen 3-[4-hidroksi-3-(3-okso-büt-1-enil)-fenil]-akrilik asitin, standart antioksidan ajanlar olan C ve E vitaminlerinden daha potent olduğu kaydedilmiştir (Basnet ve diğ. 1997).

Toksik karaciğer hasarı geliştirilen sıçanlarla yapılan çalışmalarda, propolisin antioksidan etkisi nedeniyle karaciğer üzerine koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (Basnet ve diğ. 1996, 1997).

Propolisin etanol ekstresinin  $\gamma$  ışınlarından önce ve sonra farelere uygulaması sonucu normal seviyelere dönen lökosit sayıları, propolisin antioksidan aktivitesiyle ilişkilendirilmiştir (Scheller ve diğ. 1989a).

### **1.2.3.3 Antihipertansif ve kardiyoprotektif etki**

Esansiyel hipertansiyonu olan hastalarda NO seviyeleri ve süperoksit dismutaz, E vitamini gibi antioksidanların konsantrasyonlarının azalırken serbest radikal oluşumunda artış olduğu bilinmektedir. Serbest radikal oluşumundaki bu artış PGI<sub>2</sub> ve NO'ü etkisiz hale getirebilir veya yarı ömürlerini azaltabilir ve bu da periferik vasküler direnç ve hipertansiyonda bir artışa yol açabilmektedir (Kumar ve Das 1993). Antioksidan ve antiinflamatuvar etkili propolisin antihipertansif etki gösterebilecekleri belirtilmiştir (Maruyama ve diğ. 2009).

Hipertansif sıçanlarda Brezilya yeşil propolisin etanol ekstresinin antihipertansif etkinliğinin olduğu ve aktif bileşenin kaffeoilquinik asit ve türevlerinin olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Kubota ve diğ. 2004, Mishima ve diğ. 2005). Hipertansif sıçanlarla yapılmış diğer bir çalışmada, propolisin antihipertansif etkinliğini asetikolin aracılı vazodilatasyonu güçlendirerek gerçekleştirdiği ve antioksidan etkisinin

antihipertansif etkisinin altında yatan etken olabileceği gösterilmiştir (Kubota ve diğ. 2004).

İzole hipertansif sıçan aortasında görülen antihipertansif etkinin kısmen, Brezilya propolisi ve izole edilen flavonoidlerin konsantrasyona bağlı vazodilatasyon oluşturmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Maruyama ve diğ. 2009).

İzole sıçan torasik aortasında yapılan diğer bir çalışmada, KAFE'nin düz kas hücre membranından kalsiyum akışını inhibe etmesiyle vazodilatör aktivite göstermesine ek olarak, iNOS'un katalitik aktivitesini inhibe ettiği, iNOS gen ekspresyonunu NF-κB aktivasyonunu baskılayarak transkripsiyon düzeyinde inhibe ettiği, miyokardiyal oksidatif hasara karşı koruyuculuğu olduğu belirtilmiştir (Long ve diğ. 2009).

Doksozobisin kaynaklı kardiyomiyopati, serbest radikallerin aracılık ettiği oksidatif stresin sonucunda gelişmektedir. Kardiyomiyopati gelişimi doksozobisin ile kanser tedavisini sınırlandırmaktadır. Doksozobisin ile indüklenmiş kardiyomiyopatili sıçanlara propolis uygulamasıyla, kreatin fosfokinaz, aspartat aminotransferaz, kan ve doku glutatyon seviyelerinde azalma olduğu gözlenmiştir (Chopra ve diğ. 1995).

#### **1.2.3.4 Antidepresan etki**

Propolis ekstresinin antidepresan etkisi üzerine yapılmış pek çok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalardan birinde, propolisin, stresöre maruziyet sonucu hipokampusta azalan glukortikoid reseptörlerin fonksiyonlarında artış sağlayarak antidepresan benzeri etki gösterdiği bildirilmiştir (Lee ve diğ. 2013).

Propolisin komponentlerinden olan chrysinin olfaktör bulbektomi metodu ile farelerde oluşturulan depresyon modelinde 14 gün boyunca chrysin uygulanmış ve chrysinin hipokampal fonksiyonlarda ve depresif davranışlarda fluoksetine benzer düzelmeler yaptığı gözlenmiştir (Filho ve diğ. 2016).

Propolisin ve komponentlerinin MAO enzim üzerine inhibitör etkisi incelenmiş, propolisin etkin MAO inhibisyonu yaptığı ve galangin ve apigeninin MAO enziminin alt tiplerini özgül olarak inhibe ettiği gösterilmiştir (Chaurasiya ve diğ. 2014, Yıldız ve diğ. 2014).

Çalışmalardan elde edilen sonuçlara dayanarak, propoliste yer alan MAO inhibisyonu yapan ve antioksidan etki gösteren bileşenlerin varlığı, propolisin depresyon ve benzeri



nörolojik hastalıklardan korunmasında etkili olabileceğini düşünülmektedir (Reis ve diğ. 2014).

### 1.2.3.5 Diğer etkiler

Propolis örneklerinden izole edilen flavonoidler ve kafeik asit türevlerinin bakterisidal etkiye sahip olduğu (Kartal ve diğ. 2003), farklı propolis örneklerinin ticari antibiyotikler ile sinerjistik etkisi olduğu ve bu antibiyotiklere dirençli bakterilerin propolise duyarlı olduğu gösterilmiştir (Scheller ve diğ. 1999). Propolisin sitoplazma yapısını bozarak, protein sentezini inhibe ederek veya bakterinin lizisine yol açarak antibakteriyel etki gösterdiği düşünülmektedir (Takaisi-Kikuni and Schilcher 1994).

Propolisin *Candida*, *Microsporum*, *Mycobacteria*, *Trichophyton*, *Fusarium* ve diğer dermatofitler dahil olmak üzere farklı mantar türleri üzerine fungisidal etkisinin varlığı gösterilmiştir (Kujumgiev ve diğ. 1999). Bakterisidal etkisinde olduğu gibi fungisidal aktivite de fenolik bileşiklerin varlığı ile ilişkilendirilmektedir. Geleneksel kullanıma sahip antimikotik ilaçlarla propolisin sinerjistik etkisi olduğu gösterilmiştir (Scheller ve diğ. 1998).

Propolisin influenza, hepatit B, avian ve herpes zoster virüsleri gibi farklı virüsler üzerine virostatik etki gösterirken, herpes simpleks virüsleri ve veziküler stomatitis virüsü üzerinde de virusidal etki gösterdiği bulunmuştur (Amoros ve diğ. 1992). Propolisteki kersetin ve kampferol flavonoidleri ile KAFE ve izopirenin kafeol kafeolikleri, HIV-1 (İnsan immün yetmezlik virüsü) çoğalmasını engellediği ve HIV-1 integras enzimini inhibe ettiği gösterilmiştir (Xu ve diğ. 2000).

İnsanlarda ve hayvanlarda trichomoniasis, toksoplazmosis, gardiasis, Chagas disease, leishmaniasis ve malaria gibi hastalıklara neden olan protozoalar üzerine propolisin etkili olduğu bildirilmiştir (De Castro 2001).

Propolisin farklı tümör türleri üzerine antitümöral etki gösterdiği çok sayıda çalışmada gösterilmiştir; Propolisin etanol ekstresi uygulanmış Ehrlich karsinomali farelerin yaşam oranı, bleomisin ile tedavi edilenlerden daha yüksek bulunmuştur (Scheller ve diğ. 1989). İkinci evre karsinogenezli dişi sıçanların beslenmelerine propolisin eklenmesiyle meme kanserinin çeşitliliğinin ve görülme sıklığının önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir (Kimoto ve diğ. 1999). Brezilya propolisinden izole edilen 3,5-dipirenin-4-hidroksisinnamik asit (Artepillin C), lösemi hücreleri de dahil olmak üzere tümör hücre hatlarına sitotoksikite

göstermiştir (Matsuno ve diğ. 1997). Propolis ve Artepillin C'nin, ilaçla indüklenmiş renal ve pulmoner karsinojen modellerinde, oksidatif hasarı ve patoloji gelişimini önlediği gösterilmiştir (Kimoto ve diğ. 2000).

Doku yenileme etkisi, propolisin antiinflamatuvar etkisi, yüksek aminoasit içeriği ve doku metabolizmasını genel olarak stimüle etmesiyle ilişkilendirilmektedir (De Castro 2001). Propolis içeren merhemin deney hayvanlarında yanık alanlara uygulanması sonucu nitelikli ve hızlı doku yenilenmesi olduğu (Troshev ve diğ. 1990), benzer şekilde farelerde ameliyat lezyonlarına propolis uygulanması sonucu yaranın kapanma ve iyileşme hızında artış olduğu gözlenmiştir (De Castro 2001).

Geriatric hastalara propolisin etanolik ekstresi uygulanmasıyla istenmeyen yan etki gözlenmeksizin, bilişsel fonksiyonlarda önemli bir gelişme ve fiziksel kondisyonda iyileşme olduğu gözlemlenmiştir. Bunun dışında, granüositlerin enzimatik aktivitesinde artış, T lenfositlerinin sayısında artış, immunoglobulin üretiminde artış gibi immunolojik fonksiyonlarında iyileşme saptanmıştır (Burdock 1998, Kuropatnicki ve diğ. 2013).

#### **1.2.4 Propolisin Terapötik Kullanımı**

Halk arasında yaraların iyileştirilmesi amacıyla ekzema, dermatit ve ikinci derece yanıklar gibi dermatolojik problemlerde geleneksel propolis kullanımı günümüzde de devam etmektedir (Burdock 1998).

Propolisten hazırlanan krem, merhem, jel gibi topikal formları olmak üzere çeşitli formülasyonlarının enfeksiyöz olgulara uygulanmasıyla iyileşme sürecini hızlandırdığı, ağrıyı azalttığı, klinik ve mikrobiyolojik iyileşmeler sağladığı, bazı olgularda ise rutinde kullanımı olan etkinliği bilinen kematerapötiklerden daha etkin bulunduğu veya sinerjistik etki göstererek etkinliklerini arttırdığı yayımlanmış çok sayıda makalede gösterilmiştir. Bu araştırmalara dayanarak, propolisin veteriner hekimlikte ve insanlardaki enfeksiyöz olgularda kullanımı sıklıkla tercih edilmektedir (Marcucci 1995).

Propolis antiseptik, antiinflamatuvar ve anestezik etkileri ile ilişkili olarak diş hekimliğinde sıklıkla kullanılmaktadır. Propolisin etanolik ekstresinin diş macunu ve ağız yıkama suyuna karıştırılması antiseptik özelliğini arttırmakta, plak oluşumunu inhibe etmekte, diş çürüklerinin gelişimini engellemektedir (De Castro 2001).

## 2. AMAÇ

Damar düz kasında bulunan endotel tabakası vasküler homeostazın düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu tabakadan salınan NO ve PGI<sub>2</sub> gibi lokal ajanlar damarda vazodilatasyona neden olmaktadır (Andor ve Tomescu 2005). Kronik stres ve depresyonda HPA ekseninin aşırı uyarılması sonucu artan kortikosteron düzeyleri damar endotel yapısında değişikliklere yol açmakta, reaktif oksijen ürünlerinin aşırı üretilmesine neden olmakta, NO biyoyararlanımını azaltmakta ve böylece damar düz kas hücrelerinin gevşeme yeteneğini bozmaktadır (Iuchi ve diğ. 2003, Neves ve diğ. 2012).

Kronik öngörülemeyen hafif stres hayvan modelinde stresin vasküler reaktiviteyi değiştirdiğini gösteren pek çok çalışma vardır. En az 4 haftalık stres prosedürünün hayvanlara uygulanmasının kardiyovasküler parametrelerde kliniktekinе benzer değişikliklere yol açtığı, kronik stresin kardiyovasküler sistemdeki etkilerinin araştırılması amacıyla kullanılabilir ve valide edilmiş bir metot olduğu ortaya konmuştur (d'Audiffret ve diğ. 2010, Isingrini ve diğ. 2011; Neves ve diğ. 2009).

Propolisin antihipertansif etkisi spontan hipertansif sıçanlarda kan basıncı düşürücü ve vazodilatör etkilerinin olduğunu gösteren çalışmalar olduğu gibi, izole arter preparatlarında in vitro uygulanmasının yol açtığı vazorelaksasyonun mekanizmasının araştırıldığı çalışmalar da bulunmaktadır (Kubota ve diğ. 2004, Maruyama ve diğ. 2009, Massaro ve diğ. 2013).

Bu bilgilerden yola çıkarak, yapılan literatür araştırmalarına göre özgün olan bu çalışmada; propolisin kronik öngörülemeyen hafif strese maruz kalan sıçanlarda depresyon-benzeri davranışlardan çaresizlik davranışına etkisini; kronik stres biyo-belirteci olan serum kortikosteron düzeyi değişikliklerini; izole torasik aorta düz kasının endotel-bağımlı ve endotel-bağımsız gevşeme yanıtlarını ve bu yanıtlardaki değişikliklerin mekanizmalarını; endotele bağımlı yanıtlara vasküler eNOS düzeyinin katkısını; streste arttığı bilinen sitokin düzeylerine propolisin etkilerini araştırmak amaçlandı.

### 3. YÖNTEM

#### 3.1 Deney Hayvanları

Çalışmamızda, ağırlıkları 250-350 g arasında değişen Kocaeli Üniversitesi Deneysel Tıp ve Araştırma Birimi hayvan laboratuvarında üretilen Wistar albino türü 32 adet yetişkin ( $\geq 2.5$  aylık) erkek sıçan kullanıldı.

Sıçanlar,  $22 \pm 2$  °C oda sıcaklığında ve nemi %50-65 olan, 12 saat aydınlık/karanlık döngüsü saat 07:00'da başlayan penceresiz odalarda, deneyden iki hafta önce kafeslere yerleştirilerek muhafaza edildi. Aydınlık/karanlık döngüsü sadece kronik öngörülemeden hafif stres uygulamasında, strese maruz bırakılan deney gruplarında deney prosedürüne uygun olarak değiştirildi. Deney süresince hiçbir sıçana yem ve su kısıtlaması yapılmadı.

Çalışmamız, Kocaeli Üniversitesi Hayvan Araştırmaları Etik Kurulu'nun 18.10.2018 tarih ve KOÜ HADYEK 1/7-2018 numaralı onayı alınarak yapıldı (EK 1.).

Davranış ve izole organ deneyleri, Kocaeli Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi'nde yapıldı. Biyokimyasal ve moleküler analizler ise Kocaeli Üniversitesi Kök Hücre ve Gen Tedavileri Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde yapıldı.

Çalışmamızdaki hayvan deneylerinin tümünde etik kurallara riayet edildi.

#### 3.2 Deney Gruplarının Belirlenmesi

Araştırmamızda kullanılan deney hayvanları 4 gruba ayrıldı:

**Grup 1: Kontrol Grubu (n=8):** Deney süresince stres prosedürü ve propolis uygulaması yapılmamış sağlıklı sıçanlardan oluşturuldu.

**Grup 2: Stres Grubu (n=8):** 35 gün boyunca her gün öngörülemeden şekilde farklı stresörlere maruz bırakılarak depresyon modeli geliştirilmiş sıçanlardan oluşturuldu.

**Grup 3: Kontrol + Propolis Grubu (n=8):** Hiçbir stres prosedürü uygulanmamış ve 35 gün boyunca 100 mg/kg dozunda propolisin suda çözünmüş ekstresinin uygulandığı sıçanlardan oluşturuldu.

**Grup 4: Stres + Propolis Grubu (n=8):** 35 gün boyunca her gün öngörülemeden şekilde farklı stresörlere maruz bırakılarak depresyon modeli geliştirilmiş ve 100 mg/kg dozunda propolisin suda çözünmüş ekstresinin uygulandığı sıçanlardan oluşturuldu.

### 3.3 Deneyde Kullanılan Çözeltiler ve İlaçlar

Taze Türk propolisinin suda çözünmüş ekstresi Aksu Vital Firması tarafından 10 mg/mL konsantrasyonunda hazırlandı. Ekstrenin konsantrasyonu ve içeriği Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS, Agilent 7890A, 5975 MS; kolon: HP-5 (30m\*0.25 mm;0.25 um kalınlık); Taşıyıcı gaz: Helyum) ile analize edildi.

İzole organ deneylerinde Krebs çözeltisi (mM olarak içerik: NaCl 118, KCl 4.71, MgCl<sub>2</sub> 1.05, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.33, NaHCO<sub>3</sub> 25, CaCl<sub>2</sub> 2.7, glukoz 5.6) ve NaCl'nin ekimolar miktarda KCl ile yer değiştirilmesi sonucu elde edilen yüksek K<sup>+</sup> içerikli 80 mM KCl çözeltisi kullanıldı. Çözeltiler deney gününde taze olarak hazırlandı.

Deneylerde kullanılan ilaçlar: fenilefrin hidroklorür (Sigma), karbamilkolin klorür (Sigma), sodyum nitroprussiyat dihidrat (Sigma), papaverin hidroklorür (Sigma), indometasin (Sigma) ve N<sub>ω</sub>-Nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME) hidroklorür (Sigma) dır.

İndometasin hariç tüm ilaçlar distile su içinde çözülüp gerekli seyreltmeler yapılmak suretiyle günlük olarak hazırlandı ve deney boyunca soğukta muhafaza edildi. İndometasin stok çözeltisi etil alkolde çözülerek seyreltmeleri distile su ile yapıldı. Stok çözelti dokuya doğrudan verilmedi, distile su ile seyreltikten sonra dokuyu inkübe etmek için kullanıldı.

### 3.4 Deneyin Uygulanması

35 gün boyunca stres ve stres+propolis gruplarına kronik öngörülemez hafif stres prosedürü, kontrol+propolis ve stres+propolis gruplarına propolis uygulaması yapıldı. Kontrol grubu deney süresince hiçbir stres prosedürüne veya propolis uygulamasına maruz bırakılmadı.

Tüm deneyler sabah 09:00-12:00 saatleri arasında standardize edilmiş laboratuvar koşulları altında yapıldı. Deneyin yapıldığı ortamın, deney hayvanlarının etkilebileceği dış etkenler en aza indirilerek deney esnasında sessiz olması sağlandı.

#### 3.4.1 Propolisin Uygulanması

Kontrol+propolis ve stres+propolis gruplarına, propolisinin suda çözünmüş ekstresi 100 mg/kg dozunda (0,1 mL/10 g vücut ağırlığı) oral yoldan (gavaj) 35 gün boyunca uygulandı. Kontrol ve stres gruplarına herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadı.

### 3.4.2 Davranış Deneyleri

#### 3.4.2.1 Kronik öngörülemez hafif stres prosedürünün uygulanması

İnsan depresif bozukluklarının modellenmesinde oldukça faydalı ve güvenilir bir deneysel metod olan kronik öngörülemez hafif stres prosedürünün deney hayvanlarında kullanımı oldukça yaygındır. Çalışmamızda Paul Willner (Willner ve diğ. 1992) tarafından tanımlanan ve daha önceki çalışmalarda (Bayramgürler ve diğ. 2013, Şahin ve diğ. 2017) kullanılan stres prosedürü kullanılarak, stres ve stres+propolis gruplarına aşağıda listelenen farklı stresörler belirtilen sürelerde uygulandı;

- 24 saat kafesleri 45° eğik bırakma
- 24 saat kafes zeminindeki talaşları ıslak bırakma
- 4°C soğuk suda 5 dakika yüzdürme
- 45°C sıcak suda 5 dakika yüzdürme
- 10 dakika kafes sallama
- 48 saat stresli başka bir hayvanla birlikte bırakma
- 1 dakika süresince kuyruktan asma
- 24 saat karanlık/aydınlık siklusunu değiştirme

Bu stresörler 35 gün boyunca, her bir stresör her hayvana toplamda 6-7 kez olacak şekilde uygulandı ve her hayvan her gün bir stresöre mutlaka maruz bırakıldı. Deney hayvanlarının stresörlere alışmasını engellemek için stresörler rastgele uygulandı ve aynı stresöre üst üste maruz bırakılmadı. Stresörlerin sırası deney hayvanlarının öngöremeyeceği şekilde ayarlandı.

#### 3.4.2.2 Zorunlu yüzme testi

Porsolt'un zorunlu yüzme testi olarak bilinen bu test, stres prosedürü sonunda gelişen depresyon-benzeri davranışları değerlendirmek amacıyla hayvanlara uygulandı.

Testin esası, 22±1 °C sıcaklığında çeşme suyuyla doldurulan 47 cm yükseklik ve 38 cm çaplı bir silindirik tank içerisine yavaşça bırakılan sıçanların, hareketsiz kalıncaya kadar geçen süre ve hareketsiz kaldıkları sürenin gözlemine ve ölçülmesine dayanmaktadır. Zorunlu yüzme testi, ardışık iki gün uygulanmak üzere iki aşamada gerçekleştirilir. İlk

aşamada deney hayvanlarının ortama alışması ve yüzmeyi öğrenmesi sağlanırken, ikinci aşamada test gerçekleştirilir.

Her bir sıçan, belirtilen kriterlerde su dolu bir silindir tank içerisinde ilk gün 15 dk boyunca yüzdürüldü. 24 saat sonra test aşamasına geçilerek, su ile dolu silindir tanka sıçanlar yine yavaşça bırakıldı ve 5 dk boyunca hareketsiz kaldıkları süre kaydedildi. Teste tabi tutulan her hayvandan sonra silindir tanktaki su değiştirildi. Testin sonunda hayvanların iyice kurduğundan emin olunduktan sonra kendi kafeslerine alındı.

Sıçanlarda immobilité, başlarını suyun üzerinde tutacak kadar az hareket etme dışında hareketsiz kalma davranışıdır. Deney hayvanı kaçamayacağı, istemediği bir duruma maruz bırakıldığında davranışsal umutsuzluk olarak yorumlanan immobilité hali indüklenir, bu immobilité teslimiyetin belirtisi olarak kabul edilir ve aynı zamanda oluşturulan depresif durumun direkt bir belirtisidir. Kaydedilen hareketsiz kalıncaya kadar geçen süre ve hareketsiz kalma süresi depresyon benzeri davranışlar için ölçüt kabul edilmektedir (Porsolt ve diğ. 1977).

Bu testin sonucunda hayvanların depresyon-benzeri durumda olduklarında indüklenen immobilité sürelerinde artma meydana geleceği ve kronik propolis uygulamasıyla bu sürenin azalacağı öngörüldü.

### **3.4.3 İzole Organ Banyosu Deneyleri**

Davranış deneylerinin ardından kontrol, kontrol+propolis, stres, stres+propolis gruplarındaki sıçanlar ketamin/ksilazin anestezisi verilerek sakrifiye edildi. İzole organ deneyleri ve biyokimyasal analizler yapılmak üzere kan ve torasik aorta örnekleri toplandı. İzole organ deneyleri için izole edilen torasik aorta dokuları içeriği yukarıda belirtilmiş olan Krebs çözeltisi içerisine alındı. Torasik aorta dokuları çevreledikleri bağ dokusundan temizlenerek, yaklaşık 3-5 mm uzunluğunda halkalar halinde dikkatlice dissekte edildi. Torasik aorta preparatları, izometrik ölçümler için Krebs çözeltisi içeren 20 ml'lik izole organ banyolarına yerleştirildi. Organ banyolarının sıcaklığının 37 °C'de ve pH'sının 7.4'de sürdürülmesi sağlandı ve %95 O<sub>2</sub>-%5 CO<sub>2</sub> karbojen ile gazlandırıldı. Torasik aorta preparatlarının, öngerimi 1 gram olması sağlandı ve 15 dakikalık periyotlarla organ banyolarının çözeltisi değiştirilerek 60 dakika boyunca dengelenmeye bırakıldı. Dengelenme süresi olan bu 60 dakikalık süre içerisinde 1 gram'a ayarlanmış öngerime, deney süresince tekrar müdahale edilmedi.

Her aortik halkada meydana gelen izometrik gerim değişikliklerinin ölçümü, veri analizi yapabilen bir yazılım (BSL Pro 3.7, Biopac System Inc, Santa Barbara, CA, USA) içeren çevrimiçi olarak kaydeden dört kanallı bilgisayarlı farmakolojik veri toplama sistemi (MP30B-CE; Biopac System Inc, Santa Barbara, CA, USA) ile bağlantılı izometrik force transducerlar (MAY-COM FDT 10A; Commat İletisim) kullanılarak gerçekleştirildi.

Dengelenme süresi sonunda torasik aorta preparatlarının canlılığını teyit etmek ve kasılma yanıtlarının değerlendirilmesinde kullanılmak maksadıyla KCl uygulaması yapıldı.

#### **3.4.3.1 KCl ile indüklenmiş kasılma yanıtları**

Torasik aorta preparatlarına, 80 mM KCl 5 dakika süreyle uygulandı. Aortik preparatların kasılma yanıtları alınıp çalıştıkları anlaşıldıktan sonra, iki defa Krebs çözeltisi ile yıkandı. Dokuların geriminin öngerim düzeyine dönmesi ve dengeye ulaşması için yaklaşık 30 dakika beklendi. Elde edilen kasılma yanıtları miligram olarak kaydedildi.

#### **3.4.3.2 Karbakol, SNP ve papaverin ile indüklenmiş gevşeme yanıtları**

$3 \times 10^{-6}$ - $10^{-5}$  M fenilefrin ile indüklenen kasılma dengeye erişerek plato yaptıktan sonra, karbakol ( $10^{-8}$ - $10^{-5}$  M) ve SNP ( $10^{-8}$ - $10^{-4}$  M) aortik preparatların bulunduğu organ banyolarına kümülatif eklenerek gevşeme yanıtları alındı. Kümülatif karbakol yanıtının ardından tek konsantrasyonda papaverin ( $10^{-4}$  M) uygulandı. Organ banyosundaki agonistin konsantrasyonu, önceki konsantrasyon bir platoya ulaştığında arttırıldı.

Konsantrasyon-yanıt eğrisi oluşturulduktan sonra organ banyosundaki aortik preparatlar Krebs çözeltisi ile yıkanarak öngerim düzeyine dönmesi için 30 dakika beklendi.

Elde edilen gevşeme yanıtları, fenilefrin kasılma yanıtlarına göre yüzde olarak kaydedildi.

#### **3.4.4 in vitro İnkübasyon Deneyleri**

in vitro inkübasyon deneyleri iki alt grupta yapıldı;

Propolisin vazorelaksan etki mekanizmasında NO ve PGI<sub>2</sub>' in rollerinin araştırılması amacıyla kontrol grubu sıçanlardan izole edilen torasik aorta preparatları L-NAME ( $10^{-4}$  M) ve indometasin ( $10^{-5}$  M) ile 30 dakika inkübe edildi. Daha sonra 0,001-3 mg/mL konsantrasyon aralığında kümülatif propolis konsantrasyon-yanıt eğrisi alındı.

Diğer deney setinde izole edilen torasik aorta preparatları 0,3 mg/mL konsantrasyonda propolis ile 50 dakika inkübe edildi. Ardından kümülatif fenilefrin konsantrasyon-yanıt eğrileri elde edildi.



### 3.4.5 Biyokimyasal ve Moleküler Analizler

Davranış deneylerinin tamamlanmasını takiben toplanan kan ve torasik aorta örnekleri biyokimyasal ve moleküler analizler yapılana kadar -80 °C’de saklandı.

#### 3.4.5.1 Vasküler gen ekspresyon analizi

Gen ekspresyon analizi için önce hücrelerden RNA izolasyonu, RNA dizisinden cDNA sentezi ve sonrasında Real-Time PCR gerçekleştirildi. RNA izolasyonu için GeneJET RNA Purification kiti (Thermo Scientific, Dreieich, Almanya) kullanıldı. Kit protokolünde belirtildiği gibi örneklere liziz tamponu eklenerek hücreler döner bıçaklı homojenizatör (Ultra Turrax, Brinkmann Instruments Inc., CA, ABD) ile azami hızda 10 s boyunca parçalandı. Proteinaz K eklendikten sonra 10 dk oda sıcaklığında inkübe edildi. Santrifüj ile çözünmeyen parçalar 12000g kuvvette 5 dk süre içerisinde çöktürüldü. Sıvı kısım alınarak saf etanol ile (3:1) karıştırıldıktan sonra sıvı doğrudan saflaştırma kolonuna eklendi. RNA örnekleri filtrede immobilize edilmişken kitin yıkama tampon çözeltileriyle yıkandı. Sonra temizlenen RNA fragmanlarının kolondan çözünmesi için kolona 30 µL elüsyon çözeltisi (10 mM Tris-HCl tamponu, pH 7.5) eklenerek RNA sıvı faza aktarıldı. Santrifüj (13000g, 2 dakika) ile sıvı kolondan ayrıştırılarak RNA çözeltisi elde edildi. Örneklerin saflığı ve miktarı Picodrop cihazıyla (Picodrop, Hinxtton, İngiltere) ölçüldü. Tüm örneklerde saflığın istenilen 1.8-2.0 aralığında olduğu belirlendi.

cDNA sentezi için Maxima H Minus First Strand cDNA sentez kiti (Thermo Scientific, Waltham, MA, ABD) kullanıldı ve kit üretici firmasının belirttiği protokol uygulandı. Üretici firmanın protokolüne uyularak 2 µg RNA örneği, oligo-dT primerleri (5 µM), RNase inhibitörü ve reverse transkriptaz enziminin (50 mU/ µL) yardımıyla cDNA sentezi termal döndürücü cihaz (Takara, Tokyo, Japonya) yardımıyla gerçekleştirildi. Denatürasyon ve priming işlemi için karışım 25°C, 5 dk; reaksiyon için 46°C, 20 dk; ve inaktivasyon için 95°C, 1 dk tutularak cDNA sentezi gerçekleştirildi.

Gen ekspresyon analizi için Bright Green 2x qPCR master (Abcam, Cambridge, MA, ABD) çözeltisi kullanıldı. Gen ekspresyon analiz yöntemi olarak SYBR floresan boya temelli bir ölçüm yaklaşımı tercih edildi. Sentezlenen cDNA örnekleri (100 ng/reaksiyon) genlere özel primerlerle (30 nM, Çizelge 3.1) birlikte master karışımı içerisinde Real Time PCR cihazında (LightCycler480-II, Roche, Rotkreuz, İsviçre) çoğaltıldı. Çoğalan her çift zincirli banda bağlanan SYBR boyasının artmasıyla ışımaya artarak bantların çoğalması ölçüldü. ActB geni referans geni olarak çalışmada kullanıldı. Cihaz okumasından ve Cp

değerinin cihaz tarafından belirlenmesinden sonra  $\Delta\Delta C_p$  değeri referans genine göre normalize edilerek ve kontrol grubuna göre hesaplandı. Değerler aksi bir durum belirtilmemişse kontrol grubuna göre kat artış ya da kat azalış değerlerinde ifade edildi.

**Çizelge 3.1.** Gen ve primer dizileri

| Gen          | Primer Dizisi (5'-3')                           |
|--------------|---|
| TNF $\alpha$ | TCGTAGCAAACCACCAAGCA<br>CCCTTGAAGAGAACCTGGGAGTA |
| IL-1 $\beta$ | AGGCTTCCTTGTGCAAGTGT<br>TGAGTGACACTGCCTTCCTG    |
| eNOS         | GACCAGAAACTGTCTCACCTG<br>CGAACATCGAACGTCTCAC    |

#### 3.4.5.2 Serum kortikosteron düzeylerinin analizi

Stres belirteci olan kortikosteron miktarı toplanan kan örneklerinde ELISA metodu kullanılarak analiz edildi. Kortikosteron protein miktar tayini için santrifüj ile kanın serum kısmı ayrıldıktan sonra, sandviç yaklaşımı temelli ELISA kiti (Shanghai SunRed Biotech) kullanılarak üretici firmanın önerdiği protokole göre gerçekleştirildi. Özetle, 40  $\mu$ L örnek ve 10  $\mu$ L antikor deney sıvısı içerisine eklenerek 37°C'de, 60 dk inkübe edildi. Yıkama ve kromojen çözeltisinin eklenmesinden sonra 37°C'de 10 dk inkübe edildi ve asidik çözelti eklenerek reaksiyon durduruldu. Oluşan renk değişiminin ölçülmesi için örnekler 450 nm dalga boyunda soğurması spektrofotometrede (SpectraMax Microplate Reader, Molecular Devices, Downingtown, PA, USA) belirlendi. Sonuçların normalizasyonu için toplam protein miktarı BCA yöntemiyle ölçüldü.

Toplam protein ölçümü için BCA yöntemi kullanıldı. %1 BCA çözeltisi (Sigma) ve %4 bakır sülfat (Sigma) çözeltisi 50:1 oranında önceden karıştırılarak yeşil renkli çözelti elde edildi. 20  $\mu$ L örnek ve 200  $\mu$ L BCA çözeltisi 96-kuyucuklu platelerde 37°C 30 dk inkübe edildi. Protein varlığında mor renge dönüşen sıvının 562 nm dalga boyunda soğurması VIS-spektrofotometresi (VersaMax, Molecular Devices, ABD) kullanılarak belirlendi. Ölçümlerde BSA çözeltisi (0.5  $\mu$ g/mL - 3.0  $\mu$ g/mL) standart olarak kullanıldı.

### 3.4.6 Deney Sonuçlarının İstatistiksel Analizi

Deneylelerden elde edilen tüm sonuçlar, aritmetik ortalama±standart hata (mean±SEM) olarak verildi.

Karbakol, SNP ve papaverin agonistleriyle elde edilen gevşeme yanıtları, fenilefrin kasılma yanıtlarının yüzdesi olarak hesaplandı. Her bir deneyin konsantrasyon-yanıt eğrilerinden agonist ilaçların oluşturdukları maksimum yanıtın %50' sini oluşturmak için gerekli konsantrasyonları (EC<sub>50</sub>) ve maksimum etkileri (E<sub>maks</sub>) elde edildi. Agonistin duyarlılığı pD<sub>2</sub> (-log EC<sub>50</sub>) olarak ifade edildi.

Davranış ve izole organ deneylerinde, biyokimyasal ve moleküler analizlerde elde edilen sonuçların ve EC<sub>50</sub> ve pD<sub>2</sub> değerlerinin istatistiksel karşılaştırması tek yönlü varyans analizi olarak bilinen one way-ANOVA ile post-hoc Tukey çoklu karşılaştırma testleri kullanılarak yapıldı. İn vitro inkübasyon deneylerinin sonuçları Student's t-testi kullanılarak değerlendirildi.

Origin<sup>®</sup> ve GraphPad<sup>®</sup> programları kullanılarak deneyler sonucunda elde edilen verilerin istatistiksel analizi gerçekleştirilerek grafikleri çizildi.

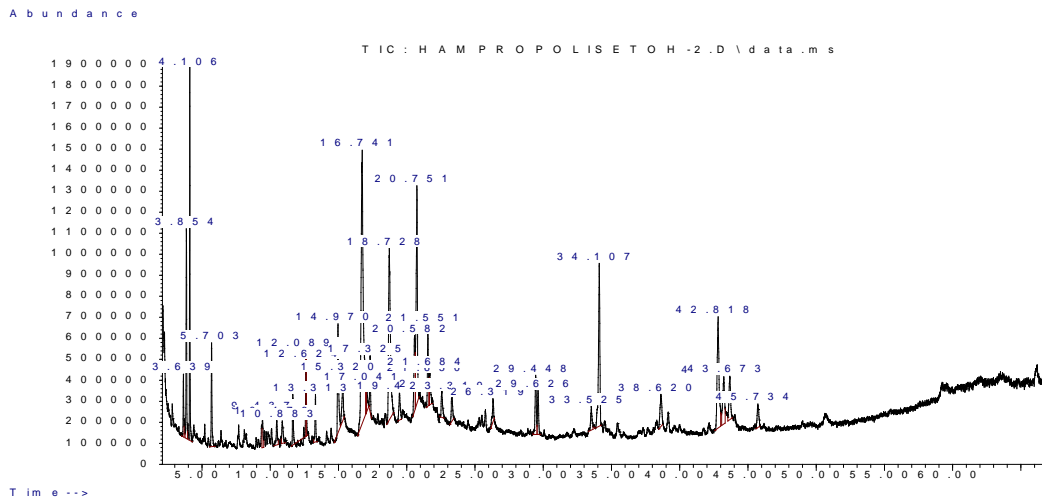
## 4. BULGULAR

### 4.1 Propolis Ekstresinin GC-MS Analizi Sonuçları

Propolisin sudaki ekstresi 10 mg/mL propolis içecek şekilde Aksu Vital Doğal Ürünler A.Ş. tarafından deneylere başlanmadan önce taze bir şekilde hazırlandı. Ekstrenin içeriği GC-MS metodu ile analiz edildi. Propolis sulu ekstresinin içeriğinde tanımlanan bileşenler ve bileşenlerin bulunma yüzdeleri Çizelge 4.1'de ve GC-MS analizinin sonuçları Çizim 4.1'de verildi.

**Çizelge 4.1 :** Propolis ekstresinin GC-MS analizi sonuçlarına göre içeriğindeki bileşenler

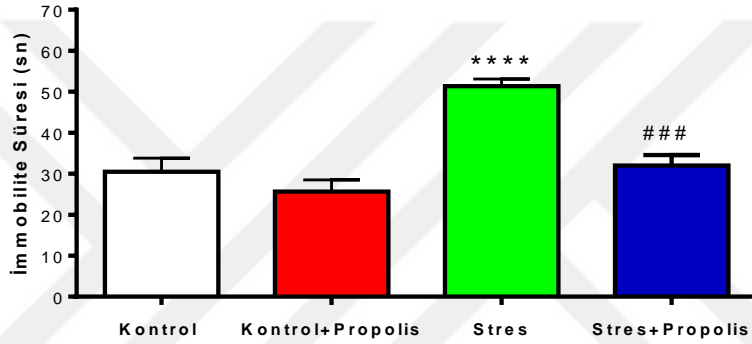
| Bileşen (Fenolik asit-flavonoid) | Yüzde % |
|----------------------------------|---------|
| Pinocembrin                      | 19.30±5 |
| Chrysin                          | 10.97±5 |
| Tectochrysin                     | 9.51±5  |
| Alpha bisabolol                  | 5.77±5  |
| Pinostrobin chalcone             | 3.75±5  |
| Galangin                         | 1.12±5  |
| Diğer safsızlıklar               | 49.58±5 |



**Çizim 4.1.** Propolis ekstresinin GC-MS analizi sonuçları

## 4.2 Zorunlu Yüzme Testi

Zorunlu yüzme testinde, çaresizlik davranışını ölçmek amacıyla tüm gruplarda (n=8, her grup için) immobilité süresi ölçüldü. Kronik öngürülemeyen stres uygulanan grupta immobilité süresi anlamlı derecede arttı ( $p<0.0001$ ). Bu artış strese maruziyet sırasında propolis uygulanan grupta stres grubuna göre anlamlı düzeyde azaldı ( $p<0.001$ ), kontrol değerlerine geri döndü. Strese maruziyet sonrası immobil kalma süresinde artış olarak görülen çaresizlik davranışını propolis uygulamasının düzeltebileceği gösterildi (Çizim 4.2.).



**Çizim 4.2.** Zorunlu yüzme testinde immobilité süreleri

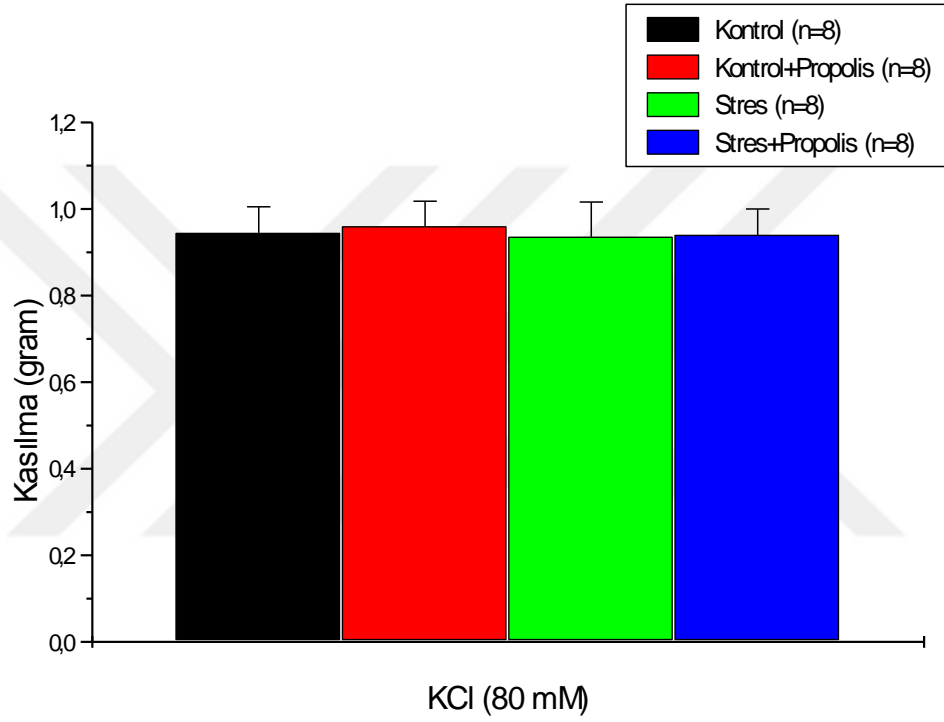
\*\*\*\* $p<0.0001$  (Kontrol grubuna göre)

### $p<0.001$  (Stres grubuna göre)

### 4.3 İzole Torasik Aorta Preparatının Yanıtları

#### 4.3.1 Kasılma yanıtları

80 mM KCl ile elde edilen kasılma yanıtlarında, stres, stres+propolis ve kontrol+propolis gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı bir değişiklik olmadığı saptandı (Çizim 4.3.).

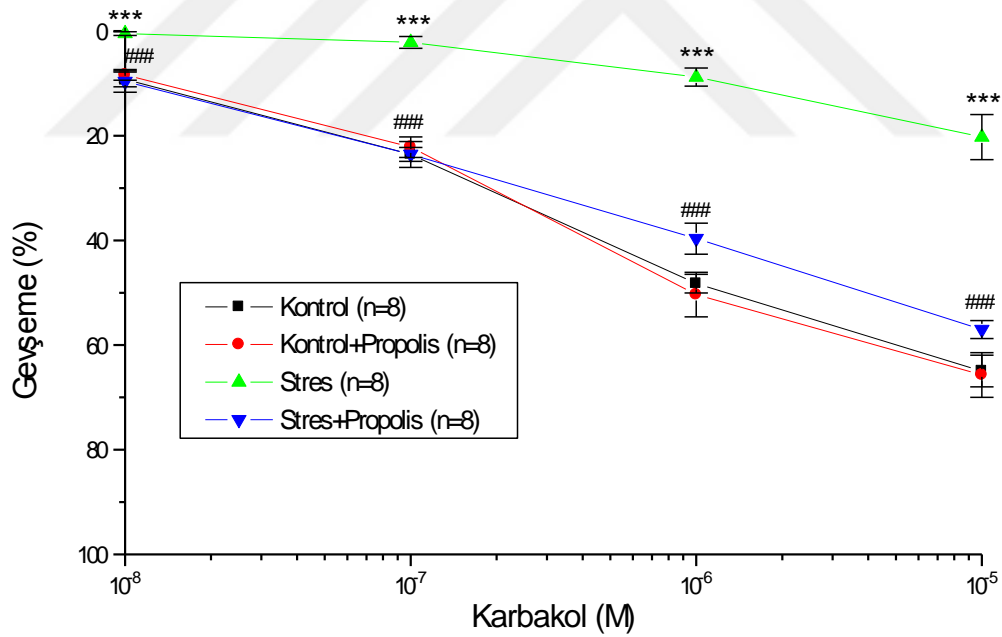


**Çizim 4.3.** İzole torasik aorta preparatının 80 mM KCl ile elde edilen kasılma yanıtları

### 4.3.2 Gevşeme yanıtları

#### 4.3.2.1 Karbakol gevşeme yanıtları

İzole torasik aorta preparatları  $3 \times 10^{-6}$ - $10^{-5}$  M fenilefrin ile kasıldıktan sonra kasılmanın dengeye ulaşması beklendi. Daha sonra kümülatif konsantrasyonda karbakol ( $10^{-8}$ - $10^{-5}$  M) uygulanarak konsantrasyona bağımlı gevşeme yanıtları alındı. Karbakol ile maksimum yanıtın elde edilmesini takiben papaverin ( $10^{-4}$  M) gevşeme yanıtları elde edildi (kontrol  $100.28 \pm 0.44$ ; kontrol+propolis  $101.87 \pm 0.79$ ; stres  $99.93 \pm 0.49$ ; stres+propolis  $100.61 \pm 0.73$ ). Kronik strese maruz kalan sıçan torasik aorta preparatlarında karbakol gevşeme yanıtlarının ve  $E_{maks}$  ve  $pD_2$  değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı (\*\*\*)  $p < 0.001$ ), strese maruziyet sırasında propolis alan sıçanların dokusunda ise bu yanıtların ve  $E_{maks}$  ve  $pD_2$  değerlerinin stres grubuna göre anlamlı olarak artıp (###  $p < 0.001$ ), kontrol değerlerine döndüğü görüldü (Çizim 4.4., Çizelge 4.2.).



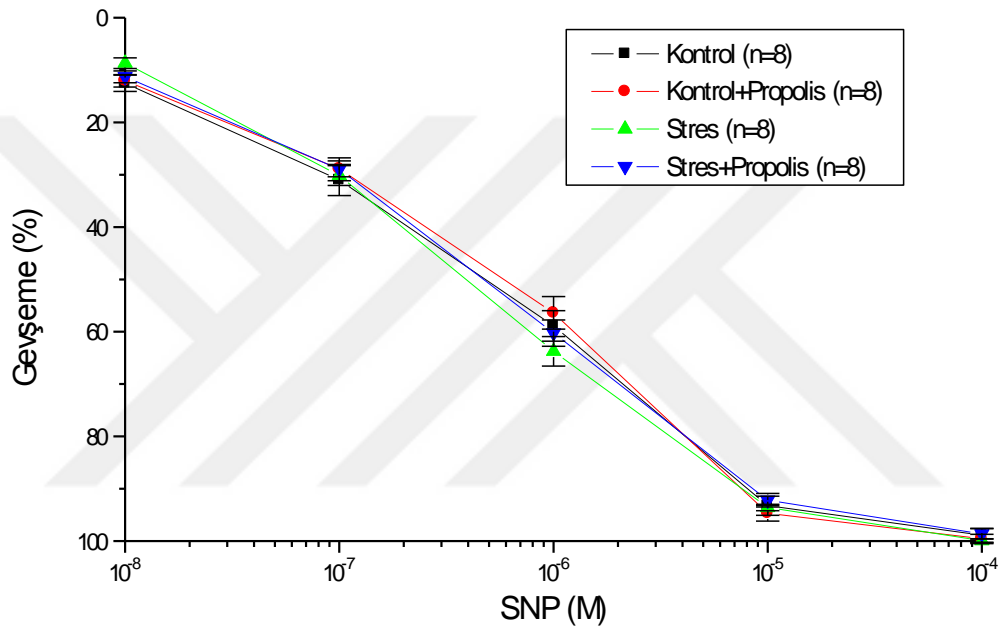
**Çizim 4.4.**  $3 \times 10^{-6}$ - $10^{-5}$  M fenilefrin ile kasılmış izole torasik aorta preparatlarında kümülatif karbakol konsantrasyon-yanıt eğrileri

\*\*\*  $p < 0.001$  (Kontrol grubuna göre)

###  $p < 0.001$  (Stres grubuna göre)

#### 4.3.2.2 SNP gevşeme yanıtları

İzole torasik aorta preparatları  $3 \times 10^{-6}$ - $10^{-5}$  M fenilefrin ile kasıldıktan sonra kasılmanın dengeye ulaşması beklendi. Daha sonra kümülatif konsantrasyonda SNP ( $10^{-8}$ - $10^{-4}$  M) uygulanarak konsantrasyona bağımlı gevşeme yanıtları alındı. Gruplar arasında SNP yanıtları ve  $E_{maks}$  ve  $pD_2$  değerleri bakımından anlamlı bir fark saptanmadı (Çizim 4.5., Çizelge 4.2.).



**Çizim 4.5.**  $3 \times 10^{-6}$ - $10^{-5}$  M fenilefrin ile kasılmış izole torasik aorta preparatlarında kümülatif SNP konsantrasyon-yanıt eğrileri



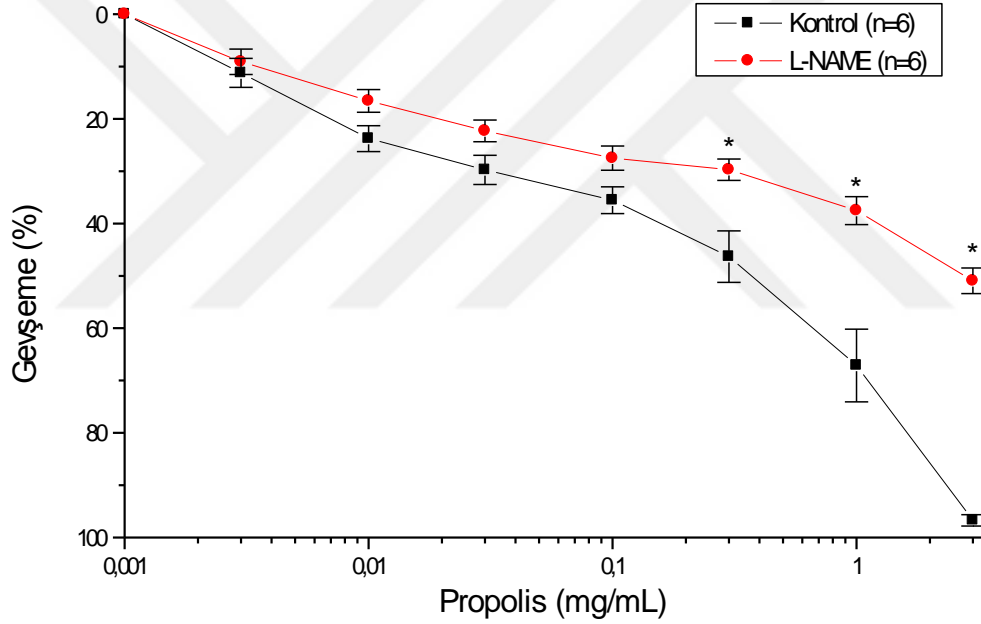
**Çizelge 4.2.** İzole torasik aorta preparatında karbakol (% fenilefrin), SNP (% fenilefrin), papaverin (% fenilefrin) ve 80mM KCl (g) için  $E_{maks}$  değerleri; Karbakol ve SNP için  $pD_2$  değerleri

|                                   | <b>Kontrol<br/>(n=8)</b> | <b>Kontrol+<br/>Propolis<br/>(n=8)</b> | <b>Stres<br/>(n=8)</b>    | <b>Stress+<br/>Propolis<br/>(n=8)</b> |
|-----------------------------------|--------------------------|--|---------------------------|---------------------------------------|
| <b>Karbakol</b>                   |                          |  |                           |                                       |
| $E_{max}$<br>(% fenilefrin)       | 64.96±3.03               | 65.72±4.26                             | 20.26±4.31 <sup>***</sup> | 57.03±1.72 <sup>###</sup>             |
| $pD_2$<br>(-logEC <sub>50</sub> ) | 6.66±0.11                | 6.72±0.09                              | 6±0.14 <sup>**</sup>      | 6.58±0.14 <sup>#</sup>                |
| <b>SNP</b>                        |                          |  |                           |                                       |
| $E_{max}$<br>(% fenilefrin)       | 98.9±1.32                | 99.58±0.89                             | 99.94±0.39                | 98.63±0.98                            |
| $pD_2$<br>(-logEC <sub>50</sub> ) | 6.42±0.09                | 6.18±0.09                              | 6.36±0.05                 | 6.30±0.06                             |
| <b>KCl</b>                        |                          |  |                           |                                       |
| $E_{max}$ (g)                     | 0.945±0.06               | 0.96±0.058                             | 0.936±0.08                | 0.94±0.06                             |
| <b>Papaverin</b>                  |                          |  |                           |                                       |
| $E_{max}$<br>(% fenilefrin)       | 100.28±0.44              | 101.87±0.79                            | 99.93±0.49                | 100.61±0.73                           |

### 4.3.3 in vitro İnkübasyon Deneyleri

#### 4.3.3.1 L-NAME ile inkübasyonun kümülatif propolis gevşeme yanıtlarına etkileri

Endoteli sağlam torasik aorta preparatları  $3 \times 10^{-6}$ - $10^{-5}$  M fenilefrin ile kasıldıktan sonra kümülatif propolis (0.001-3 mg/mL) uygulanarak konsantrasyona bağımlı gevşeme yanıtları alındı. eNOS inhibitörü olan L-NAME ( $10^{-4}$  M) ile 30 dakika inkübasyonun ardından 0.3 mg/mL'lik konsantrasyondaki propolis yanıtından itibaren gevşeme yanıtlarının anlamlı olarak azaldığı gösterildi ( $p < 0.05$ ) (Çizim 4.6.).

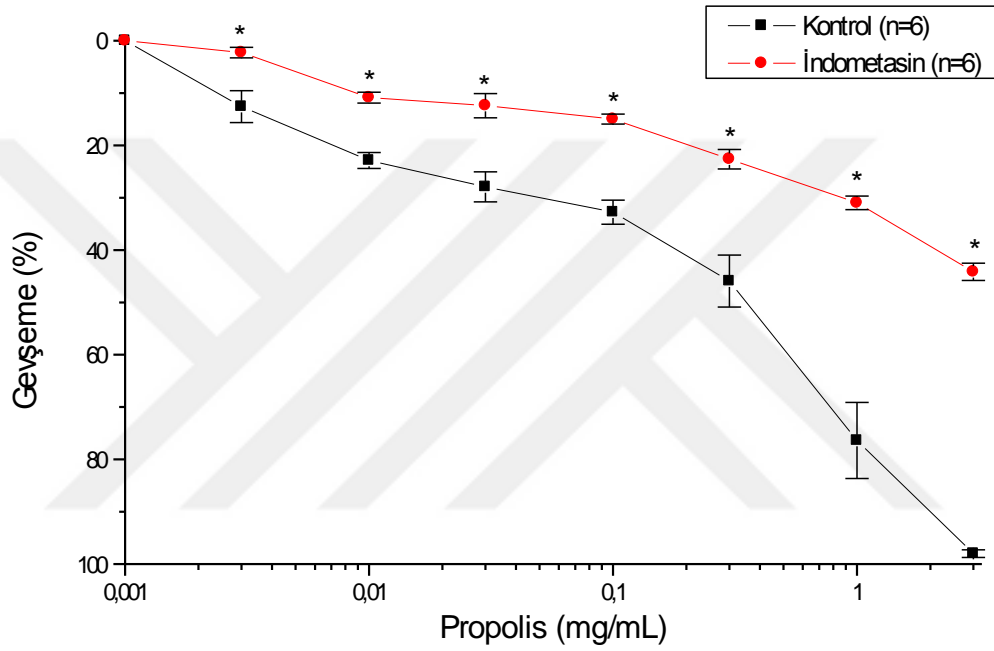


**Çizim 4.6.**  $3 \times 10^{-6}$ - $10^{-5}$  M fenilefrin ile kasılmış izole torasik aorta preparatlarında kümülatif propolis konsantrasyon-yanıt eğrilerine L-NAME ile inkübasyonun etkisi

\*  $p < 0.05$  (Kontrol grubuna göre)

#### 4.3.3.2 İndometasin ile inkübasyonun kümülatif propolis gevşeme yanıtlarına etkileri

Endoteli sağlam torasik aorta preparatları  $3 \times 10^{-6}$ - $10^{-5}$  M fenilefrin ile kasıldıktan sonra kümülatif propolis (0.001-3 mg/mL) uygulanarak konsantrasyona bağımlı gevşeme yanıtları alındı. Siklooksijenaz enzim inhibitörü olan indometasin ( $10^{-5}$  M) ile 30 dakika inkübasyonun ardından 0.3 mg/mL'lik konsantrasyondaki propolis yanıtından itibaren gevşeme yanıtlarının anlamlı olarak azaldığı gösterildi ( $p < 0.05$ ) (Çizim 4.7.).

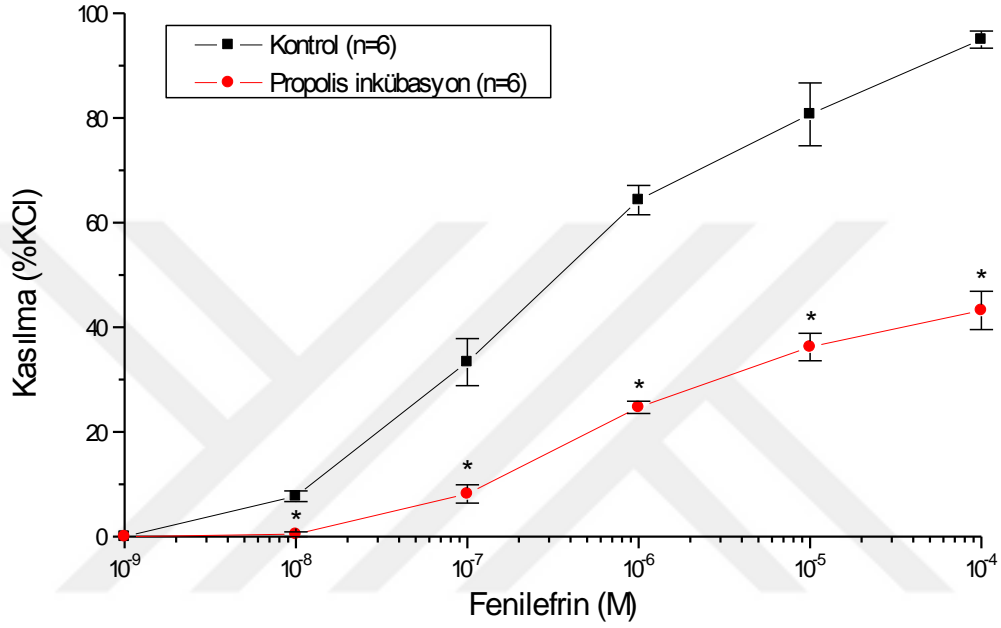


**Çizim 4.7.**  $3 \times 10^{-6}$ - $10^{-5}$  M fenilefrin ile kasılmış izole torasik aorta preparatlarında kümülatif propolis konsantrasyon-yanıt eğrilerine indometasin ile inkübasyonun etkisi

\*  $p < 0.05$  (Kontrol grubuna göre)

#### 4.3.3.3 Propolis ile inkübasyon sonrası kümülatif fenilefrin yanıtları

Endoteli sağlam torasik aorta preparatları 0,3 mg/mL konsantrasyonda propolis ile inkübe edildikten sonra kümülatif fenilefrin ( $10^{-9}$ - $10^{-4}$  M) konsantrasyon-yanıt eğrileri kontrol grubundaki kasılma değerlerine göre anlamlı olarak baskılandı ( $p<0.05$ ) (Çizim 4.8.).



**Çizim 4.8.** Propolis ile inkübasyonun kümülatif fenilefrin konsantrasyon-yanıt eğrilerine etkisi

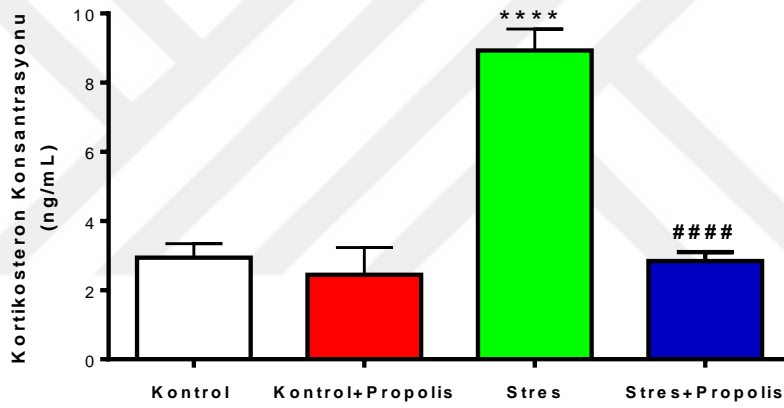
\* $p<0.05$  (kontrol grubuna göre)

#### 4.4 Biyokimyasal ve Moleküler Bulgular

Davranış deneylerinin ardından sakrifiye edilen sıçanlardan (n=6, her grup için) toplanan kan ve torasik aorta örneklerinde biyokimyasal ve moleküler analizler yapıldı.

##### 4.4.1 Serum kortikosteron düzeyleri

ELISA metodu ile ölçülen serum kortikosteron düzeyleri değerlendirildiğinde, stres grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde artış saptandı ( $p<0.0001$ ). Stres prosedürü uygulaması sırasında propolis tedavisi alan sıçanlarda bu artış anlamlı olarak azaldı ( $p<0.0001$ ), kontrollerine geri döndü (Çizim 4.9).



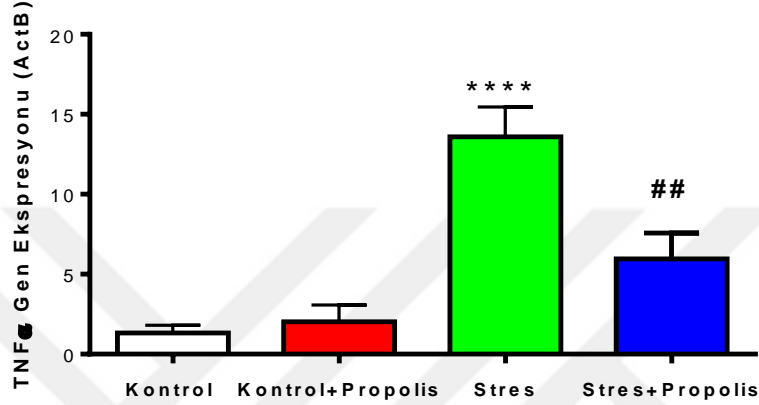
**Çizim 4.9.** Serum kortikosteron düzeyleri

\*\*\*\*  $p<0.0001$  (Kontrol grubuna göre)

####  $p<0.0001$  (Stres grubuna göre)

#### 4.4.2 İzole torasik aorta preparatında TNF $\alpha$ düzeyleri

35 günlük stres prosedürünün ardından izole edilen torasik aorta preparatında TNF $\alpha$  düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulundu (\*\*\*\*p<0.0001), stres+propolis grubunda bu artış anlamlı düzeyde düştü (##p<0.01), kontrol değerleriyle anlamlı fark bulunmadı (Çizim 4.10.).



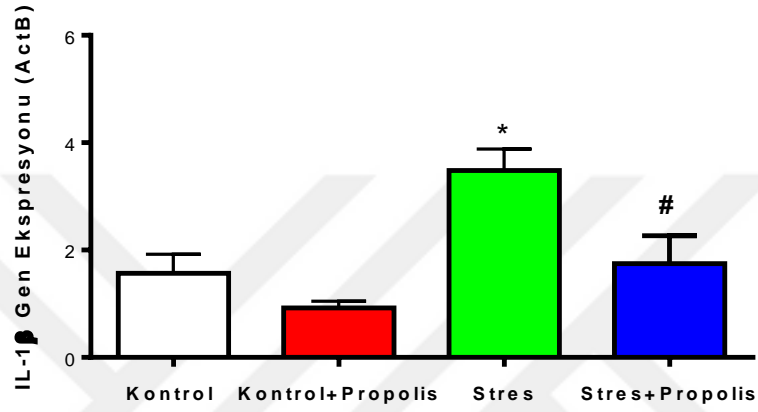
**Çizim 4.10.** Torasik aorta TNF $\alpha$  düzeyleri

\*\*\*\* p<0.0001 (Kontrol grubuna göre)

## p<0.01 (Stres grubuna göre)

#### 4.4.3 İzole torasik aorta preparatında IL-1 $\beta$ düzeyleri

35 günlük stres prosedürünün ardından izole edilen torasik aorta preparatında IL-1 $\beta$  düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulundu (\*p<0.05), stres+propolis grubunda bu artış anlamlı düzeyde düştü (#p<0.05), kontrol değerleriyle anlamlı fark bulunmadı (Çizim 4.11.).



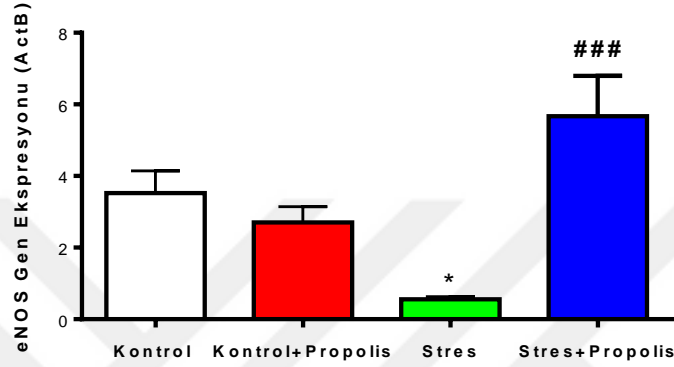
**Çizim 4.11.** Torasik aorta IL-1 $\beta$  düzeyleri

\* p<0.05 (Kontrol grubuna göre)

# p<0.05 (Stres grubuna göre)

#### 4.4.4 İzole torasik aorta preparatında eNOS düzeyleri

35 günlük stres prosedürünün ardından izole edilen torasik aorta preparatında eNOS düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük bulundu ( $*p<0.05$ ), stress+propolis grubunda bu düşüş anlamlı düzeyde yükseldi ( $###p<0.001$ ), kontrol değerleriyle anlamlı fark bulunmadı (Çizim 4.12).



**Çizim 4.12.** Torasik aorta eNOS düzeyleri

\*  $p<0.05$  (Kontrol grubuna göre)

###  $p<0.001$  (Stres grubuna göre)



## 5. TARTIŞMA

Psikolojik stresin kardiyovasküler hastalıkların gelişmesinde önemli düzeyde katkısının olduğunu gösteren pekçok çalışma bulunmaktadır (Black ve Garbutt 2002). Depresyonun koroner kalp hastalığı, miyokard infarktüsü ve inme gibi kardiyovasküler hastalıkların gelişmesinde bağımsız bir vasküler risk faktörü olarak düşünülebileceği ortaya konmuştur (Grippio 2009, Plante 2005). Depresyon sırasında otonomik ve hormonal homeostazis olumsuz etkilenmekte, bunun sonucu olarak metabolik anormallikler, inflamasyon, trombosit agregasyonunda artış, ateroskleroz ve damar endotelinde disfonksiyon gelişmektedir (Isingrini ve diğ. 2009, Verma ve Anderson 2002). Bu çalışmada kronik öngörülemeyen hafif stres prosedürü uygulanarak depresyon modeli oluşturulan sıçanlarda kronik propolis uygulamasının bozulan vasküler yanıtlar üzerindeki etkileri araştırılmış, strese maruziyet sırasında bozulan relaksan ve kontraktıl vasküler yanıtların propolis uygulamasının ardından kontrol değerlerine geri döndüğü gösterilmiştir. Ek olarak stres grubunda vasküler dokuda saptanan eNOS ekspresyonu düzeyinde düşüş ve TNF $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  ekspresyonu düzeylerinde artış propolis uygulanmasının ardından kontrol değerlerine geri dönmüştür.

Çalışmamızda kullanılan kronik öngörülemeyen hafif stres modeli sıçanlarda anhedoni ve çaresizlik davranışları gibi depresyon-benzeri davranışlara yol açarak insandaki klinik depresyon tablosuna benzer bir tablo oluşturan hassas ve güvenilir bir metottur (Willner 1997). Ayrıca kronik öngörülemeyen hafif stres modelinin depresyondaki hastalarda gözlenen vasküler reaktivitedeki değişiklikleri taklit ettiği sıçan ve farede yapılan çalışmalarla valide edilmiştir (d'Audiffret ve diğ. 2010, Isingrini ve diğ. 2011).

Çalışmamızda öncelikle strese maruziyet ve propolis uygulamasının klinik depresyon tablosundaki temel belirtilerden biri olan çaresizlik davranışına etkisi araştırılmıştır (Willner ve Jones 1996). Sıçanlara kronik öngörülemeyen hafif stres uygulaması sırasında propolisin 100 mg/kg dozunda 35 gün boyunca uygulanması sonrasında çaresizlik davranışı zorunlu yüzmeye testi ile ölçülmüş, propolisin bu testteki davranışı düzelterek normal değerlerine döndürdüğü tespit edilmiştir. Ayrıca önceki çalışmalarda stres protokolünün ardından stres grubundaki hayvanlarda kandaki düzeyinin arttığı gösterilen kortikosteron seviyesinin de çalışmamızda stres grubunda yükseldiği, propolis uygulamasının ardından ise anlamlı düzeyde düştüğü bulunmuştur (Neves ve diğ. 2009, Willner 2017). Propolisin antidepresan etkisinin araştırıldığı az sayıdaki araştırma da

bulgularımızı desteklemektedir (Lee ve diğ. 2013, Reis ve diğ.. 2014). Özellikle Lee ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (Lee ve diğ. 2013), stres sonrası artan kortikosteron düzeylerinin propolis uygulamasının ardından düşmesi propolisin antidepresan etkisini artan HPA eksenini aktivasyonunu modüle ederek oluşturduğu şeklinde yorumlanmıştır. Bu çalışmalar, bulgularımızı desteklemekle birlikte, bu çalışmalarda sağlıklı hayvan kullanılması ile Lee ve arkadaşlarının çalışmasında 2 günlük strese maruziyet olması çalışmamızdaki bulguları daha değerli kılmaktadır.

Yapılan önceki çalışmalarda kronik öngörülemez hafif stres uygulanan sıçan ve farelerde endotel-aracılı vazodilatasyon yanıtlarının baskılandığı gösterilmiştir (d'Audiffret ve diğ. 2010, Isingrini ve diğ. 2011, Neves ve diğ. 2012). Endoteli sağlam damarda gerçekleşen asetilkolin aracılı vazodilatasyonun, özellikle damar endotel hücrelerinde eNOS aracılı üretilen NO salımı sonucu gerçekleştiği bilinmektedir (Furchgott ve Zawadzki 1980). Çalışmamızda önceki çalışmalarla uyumlu olarak karbakol-aracılı endotelial yanıtlar stres grubunda anlamlı olarak azalmıştır. Diğer yandan NO donörü bir ilaç olan SNP uygulanması ile elde edilen endotel-aracılı olmayan gevşeme yanıtlarında gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu durum strese maruziyet sonrası gelişen endotel hasarının NO sentezinin azalmasına ya da damar düz kasının NO'ye yanıt verebilirliğinin azalmasına yol açmış olabileceğini ifade etmektedir. Stres grubunda karbakol gevşeme yanıtları baskılanmışken, direk sGMP-aracılı gevşemeye yol açan SNP yanıtlarında gruplar arasında fark olmaması, stres prosedürünün vasküler düz kasta NO-guanilat siklaz-sGMP'yi etkilemek yerine, NO'in sentez ya da yararlanımını inhibe ettiğini ifade etmektedir. Torasik aorta preparatında ölçülen eNOS ekspresyon düzeyindeki azalma, izole organ deneyindeki bulgumuzu stres sonrası gelişen endotel hasarı sonucu NO üretiminin azalması yönünden desteklemektedir. Ayrıca karbakol konsantrasyon yanıt eğrisine ait efikasite ( $E_{maks}$ ) değerinin stres grubunda azalmasına ek olarak, potans ( $pD_2$ ) değerindeki artış, torasik aorta dokusunun stres sonrası karbakole duyarlılığının azaldığını ifade etmektedir. Bu değerlerdeki azalmanın propolis uygulamasının ardından kontrol değerlerine dönmesi, dokunun NO'ye duyarlılığındaki değişikliği önlediğini göstermektedir.

Depresyon sırasında HPA ekseninde aktivite artışı olduğu, artan kortikosteroid düzeyinin depresyonun patofizyolojik mekanizmalarından biri olabileceği kabul gören bir hipotezdir (Belmaker ve Agam 2008). Glukokortikoid-aracılı kardiyovasküler hastalıklarda damar endotel yapısında değişiklikler gerçekleşmekte, glukokortikoid düzeyindeki artışın reaktif oksijen ürünlerinin aşırı üretilmesine yol açarak NO yararlanımını azalttığı ve böylece

vasküler düz kas hücrelerinin gevşeme yeteneğinin azaldığı gösterilmiştir (Iuchi ve diğ. 2003). Bu bilgiler çalışmamızda 35 günlük stres prosedürü sonrası artan kortikosteron düzeylerinin torasik aorta düz kasının karbakole hiposensitivitesinin altında yatan diğer bir neden olabileceğini düşündürmektedir. Ancak bu konuda propolisle yapılmış çalışma bulunmamaktadır.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda kronik öngörülemez hafif stres uygulamasının sonrasında gelişen vasküler disfonksiyonun patofizyolojisinde proinflamatuvar sitokinlerin de önemli bir rolünün olduğu kabul gören bir görüştür (Arenas ve diğ. 2004). Kronik öngörülemez hafif stres sırasında TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$  gibi proinflamatuvar sitokinlerin kan düzeyinin arttığı, bu artışın NO'nin inaktivasyonuna neden olarak endotel-aracılı gevşemelerin bozulmasına neden olduğu gösterilmiştir (Murphy ve diğ. 2017, Yoshizumi ve diğ. 1993). Demirtaş ve arkadaşlarının (Demirtaş ve diğ. 2014), sıçanlarda kronik öngörülemez hafif stres modeliyle oluşturdukları vasküler disfonksiyonda stres grubunda damardaki endotel-aracılı yanıtların ve eNOS ekspresyonunun azaldığı, TNF $\alpha$  inhibitörü bir ilaç olan infliksimab tedavisi alan grupta ise bu değerlerin kontrol grubuna geri döndüğü gösterilmiştir. Diğer yandan artan TNF $\alpha$  düzeyinin eNOS ekspresyonunu azaltarak ya da NO inaktivasyonunu arttırarak NO biyoyararlanımını azalttığı bilinmektedir (Murphy ve diğ. 2017, Yoshizumi ve diğ. 1993). Bu çalışmada stres grubunda torasik aorta dokusundaki TNF $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  düzeylerinin yüksek bulunması, endotel hasarı ve vasküler disfonksiyonun altında yatan mekanizmalardan birinin de inflamasyon düzeyinde artış olabileceğini düşündürmektedir. Propolisin antiinflamatuvar etkisinin olduğu başka modellerde gösterilmiş (Hu ve diğ. 2005), ancak vasküler disfonksiyona neden olan proinflamatuvar sitokinlerin üzerinde propolisin etkisi incelenmemiştir.

Kronik stres sonrası kan basıncı yüksekliği kardiyovasküler komplikasyonlardan biridir. Kronik propolis uygulanması sonrasında kan basıncı değerlerinin düştüğünü gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Maruyama ve arkadaşlarının (Maruyama ve diğ. 2009) spontan hipertansif sıçanlarda propolisin kan basıncına ve vasküler yanıtla etkilerini incelemek için yaptıkları bir çalışmada, 28 günlük propolis ekstresi sıçanlara oral yoldan uygulanmıştır. Sürenin sonunda kan basıncının anlamlı düzeyde düştüğü ve noradrenalin ile kasılmış mesenterik arter preparatında anlamlı düzeyde gevşeme olduğu gösterilmiştir. Bu bulgulara paralel şekilde spontan hipertansif sıçanlarla yapılan diğer bir çalışmada da sıçanların diyetine 4 hafta boyunca propolis eklenmesi kan basıncında anlamlı düşüşe

neden olurken, asetilkolin-aracılı gevşeme yanıtlarının potansiyelize olduğu gösterilmiştir (Kubota ve diğ. 2004). Bu bulgulardan ve çalışmamızdan yola çıkılarak kronik propolis uygulamasının damar düz kasında gevşemeye yol açarak strese bağlı olarak artması beklenen kan basıncı değerlerini normal değerlerine düşürebileceği speküle edilebilir.

Propolis ekstresinin sistemik uygulanmasının kan basıncını düşürücü etkisinin ortaya konmasının ardından, izole arter preparatlarında propolisin etki mekanizması in vitro tekniklerle araştırılmıştır. Avustralya propolisi ile yapılan bir çalışmada izole insan ve domuz arter preparatları belirli konsantrasyonlarda propolis ile inkübe edilmiş, KCl ve histamin ile prekontrakte edilen dokuların propolis inkübasyonu sonrası gevşediği gösterilmiştir. Bu çalışmada araştırmacılar gevşeme yanıtından voltaj-kapılı  $Ca^{++}$  kanallarının inhibisyonunu içeren endotelden bağımsız bir mekanizmanın sorumlu olduğunu ileri sürmüştür (Massaro ve diğ. 2013).

Propolisin etki mekanizmasının araştırıldığı çalışmaların bir kısmı, propolis ekstresinin içerdiği bileşiklerin damar yanıtlarına olan etkilerini aydınlatmayı amaçlamıştır. Propolis ekstralarının içeriğinde bulunan kafeik asit fenetil ester (KAFE)'in vazorelaksan etki mekanizmasının araştırıldığı çalışmalar bulunmaktadır. Long ve arkadaşlarının (Long ve diğ. 2009) yaptığı bir çalışmada, koroner arter preparatında elde edilen kümülatif KAFE gevşeme yanıtlarına NO ve adrenerjik  $\beta$ -reseptörleri aracılık ettiği, prostaglandin sentezinin bu gevşetici etkiye katkısının olmadığı bulunmuştur. Çalışmamızda uzun süreli propolis uygulamasının ardından strese bağlı bozulan damar yanıtlarını propolisin hangi mekanizmalar ile düzeltmiş olabileceği in vitro inkübasyon çalışmaları ile araştırılmıştır. Bu amaçla, izole torasik aorta preparatının L-NAME ve indometasin ile inkübasyonu sonrası kümülatif propolis yanıtları alınmış, her iki yanıtın da anlamlı düzeyde inhibe olduğu gösterilmiştir. Long ve arkadaşlarının (Long ve diğ. 2009) bulgularından yola çıkılarak kullandığımız propolis ekstresindeki KAFE'nin de katkısıyla propolisin damar düz kasını gevşetici yanıtında endotel-aracılı salınan NO'nin rolünün olduğu ileri sürülebilir. Ancak bu çalışmada indometasin propolisin gevşeme yanıtlarını inhibe etmediği için, çalışmamızda elde ettiğimiz gevşeme yanıtının bileşenlerinden olan prostaglandin sentezinin, ekstrenin içeriğindeki KAFE'den kaynaklanmadığı düşünülebilir. Diğer yandan iskemi-reperfüzyon modelinde propolisin eNOS aktivitesini arttırdığını gösteren çalışmalardan yola çıkılarak, çalışmamızda torasik aorta preparatındaki eNOS ekspresyonu artışına KAFE'nin katkıda bulunmuş olabileceği ileri sürülebilir (Ilhan ve diğ. 1999; Long ve diğ. 2009).

KAFE'nin vasküler etki mekanizmasının araştırıldığı diğer bir çalışmada, izole sıçan torasik aortasında KAFE ile elde edilen kümülatif konsantrasyona-bağımlı gevşeme yanıtlarının L-NAME ile inkübasyonun ardından azaldığı, gevşeme yanıtlarının endotel-aracılı olduğu bulunmuştur. Ayrıca KAFE'nin fenilefrin kontraktıl yanıtlarını azalttığı, KAFE'nin damar düz kas hücresine  $Ca^{++}$ 'nin girişini ve /veya intraselüler  $Ca^{++}$  salımını inhibe ederek vasküler etkisini oluşturduğu ileri sürülmüştür (Cicala ve diğ. 2003). Bu bulgular endotel-aracılı gevşeme yanıtlarının ve fenilefrin-aracılı kasılma yanıtlarının baskılandığı çalışmamızın bulguları ile örtüşmektedir. Çalışmamızda kullanılan propolis ekstresinin endotel aracılı gevşeme yanıtlarını arttırmanın yanısıra, damar düz kas hücrelerindeki  $Ca^{++}$  düzeyini düşürerek de vasküler etkisini gerçekleştirdiği ileri sürülebilir. Bu sebeple çalışmamıza endoteli hasarlanmış vasküler yanıtların ve kalsiyumsuz ortamda alınmış yanıtların eklenmesi, olası mekanizmaların daha net açıklanmasını sağlayacaktır.

Galangin, propolis ekstresinde bulunan diğer biyolojik aktivitesi olan maddedir. Vazorelaksan etkisi ortaya konmuş, bu etkisinin mekanizması araştırılmıştır. Vazorelaksan etkisininin KAFE ile ilgili çalışmalardakine benzer şekilde endotel-aracılı salınan NO düzeyini arttırarak yaptığı, ancak bu etkisine prostaglandin sentezinin katkısının olmadığı gösterilmiştir (Morello ve diğ. 2006). Diğer yandan galanginin yüksek konsantrasyonda fenilefrin kasılma yanıtlarını baskıladığı saptanmış, buna bağlı olarak hücre membranından  $Ca^{++}$  girişi ve intraselüler depolardan  $Ca^{++}$  salımını inhibe ederek vasküler aktivitesini endotel-aracılı olmayan mekanizmalar aracılığıyla ortaya koyduğu ileri sürülmüştür. Bu çalışma ve Cicala ve arkadaşlarının yaptığı çalışmanın (2003) bulguları ışığında, çalışmamızda kullandığımız propolis ekstresindeki galangin ve KAFE ile propolisin NO-aracılı endotele-bağımlı vazorelaksan etkisine katkıda bulunduğu düşünülebilir. Ayrıca propolis ekstresindeki galanginin de katkısı ile, damar düz kas hücresindeki  $Ca^{++}$  düzeyini düşürerek endotel-aracılı olmayan mekanizma ile de damar kontraktilesini azalttığı ileri sürülebilir.

Propolisin içerdiği diğer bir flavanoid olan pinosembrin ile sıçan aortasında yapılan bir çalışmada farklı bir mekanizmanın katkısı tartışılmıştır. Anjiyotensin II aracılı kasılma yanıtlarının, pinosembrinin in vitro olarak kümülatif şekilde artan konsantrasyonlarda uygulanması ile inhibe ettiği, bu etkisini AT1-reseptörü aracılı gerçekleştirdiği gösterilmiştir (Li ve diğ. 2013). Çalışmamızda kullandığımız ekstre içerdiği pinosembrin ile, stres prosedürü sonrası artan damar kasılma yanıtlarını, propolis ekstresinin kronik

uygulamasının ardından farklı bir mekanizmanın katkısı ile de baskılanmış olabilir. Ancak bu konuda yapılacak ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

### **Sınırlılıklar**

Kronik strese maruz kalan sıçanlardan izole edilen torasik aortada vasküler yanıtlarına stres prosedürü süresince propolis uygulamasının etkilerinin araştırıldığı çalışmamızda literatüre önemli katkılar yapabilecek bulgular bulunmakla birlikte, bazı sınırlılıklar bulunmaktadır. Propolisin antiinflamatuvar etkisinden yola çıkılarak planlanan çalışmamızda, oksidatif stres ve antioksidan enzim düzeyleri ölçülmemiştir. İçeriğinde antioksidan aktiviteye sahip pekçok bileşen bulunan propolisin vasküler dokudaki antioksidan enzimlerin düzeyinin ölçülmesi, çalışmamızın kapsamını anlamlı düzeyde genişletecektir. Çalışmamızda in vitro inkübasyon deneyleri yapılarak, propolisin vasküler etki mekanizması aydınlatılmaya çalışılmıştır. Bu deneyler endotel hasarı sonrası tekrarlanabilir. Bu yolla endotelden bağımsız yanıtlar hakkında daha net yorum yapılabilir. Diğer yandan propolis inkübasyonunun ardından baskılanmış olan kümülatif fenilefrin konsantrasyon-yanıt eğrileri, kalsiyumsuz ortamda tekrarlanarak yanıtındaki baskılanmanın damar düz kasına dışarıdan giren  $Ca^{++}$  ve/veya intraselüler salınan  $Ca^{++}$  düzeylerindeki değişikliğe bağlı olduğu daha net bir biçimde ortaya konabilir. Özellikle in vitro inkübasyon deneylerinin imkan bulunursa tamamlanması planlanmaktadır.

## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada uzun süreli propolis uygulamasının, kronik strese bağlı olarak gelişen depresyon-benzeri davranışları ve vasküler fonksiyon bozukluklarını düzelttiği gösterilmiştir. Propolis uygulaması, klinik depresyonda görülen davranışlardan olan çaresizlik davranışının hayvan çalışmalarında ölçümü için uygulanan zorunlu yüzme testinde bu davranışları geri çevirmiştir. Çalışmamızda serum kortikosteron düzeylerinin stres grubunda artarken, propolis uygulamasının ardından kontrollerine geri dönmesi, propolisin antidepresan etkisine, strese maruziyet sonrası artan HPA eksenini aktivitesini baskılamasının katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Diğer yandan kronik strese maruziyet sonrası vasküler endotele bağımlı yanıtlarda görülen azalma kronik propolis alan grupta düzelmiştir. Biyokimyasal ve moleküler bulgularımızdan yola çıkarak, vasküler sitokin düzeylerinde görülen strese bağlı artışın kronik propolis uygulamasının ardından anlamlı şekilde düşüp kontrol değerlerine gerilemesinin sonucu olarak, propolisin antiinflamatuar etkisi ile depresyon-benzeri davranışlarda düzelmeye yol açmış olabileceği ileri sürülebilir. Davranış deneylerindeki bulgulara ek olarak, vasküler endotelial yanıtlardaki düzelmenin altında yatan mekanizmalardan birisi de antiinflamatuar etki olabilir. Vasküler eNOS düzeyinde stres grubunda saptanan anlamlı düşüşün, propolis uygulamasının ardından yükselerek normal değerlerine dönmesi, propolisin endotel fonksiyonu üzerindeki geliştirici etkisini destekler niteliktedir. Propolisin vazorelaksan etki mekanizmasını aydınlatmak üzere planlanan in vitro inkübasyon deneylerinde, propolis gevşeme yanıtlarında NO ve PGI<sub>2</sub>'nin rollerinin olduğunu göstermektedir. Diğer yandan propolis inkübasyonu sonrası fenilefrin yanıtlarının baskılanması, propolisin damar düz kas hücreindeki Ca<sup>++</sup> düzeyinde düşüşe yol açmasının da vasküler aktivitesine katkıda bulunabileceğini ifade etmektedir. Çalışmamız ile ilk kez strese bağlı gelişen vasküler fonksiyon bozukluğunu önlemede kronik propolis uygulamasının etkili olduğu gösterilmiştir. Strese bağlı vasküler disfonksiyonu düzelter etkisinin yanı sıra, antidepresan etkisinin de olması, propolisin terapötik potansiyelini güçlendirmektedir.

## KAYNAKLAR DİZİNİ

- Amerikan Psikiyatri Birliği. Diagnostic And Statistical Manual Of Mental Disorders, (Fifth Edition), 2013, Amerika Birleşik Devletleri, <https://doi.org/10.1176/appi.books.9780890425596>, (Erişim Tarihi: 07.05.2019).
- Amoros M, Sauvager F, Girre L ve diğ. In Vitro Antiviral Activity of Propolis. *Apidologie*, 1992; 23:231–40.
- Andor M, Tomescu M. Endothelial Dysfunction-Methods of Assessment and Pharmacological Approach in Cardiovascular Diseases. *Timisoara Medical Journal*, 2005;55:58–63.
- Arenas I.A, Yi X, Lopez-Jaramillo P ve diğ. Angiotensin II-Induced MMP-2 Release from Endothelial Cells Is Mediated by TNF- $\alpha$ . *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 2004;286:779–84.
- Bankova VS, De Castro SL ve Marcucci MC. Propolis Recent Advances in Chemistry and Plant Origin. *Apidologie*, 2000;31:3–15.
- Basnet P, Matsushige K, Hase K ve diğ. Four Di-O-Caffeoyl Quinic Acid Derivatives from Propolis. Potent Hepatoprotective Activity in Experimental Liver Injury Models. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 1996;19(11):1479–1984.
- Basnet P, Matsuno T, Neidlein R. Potent Free Radical Scavenging Activity of Propol Isolated from Brazilian Propolis. *Zeitschrift Fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, 1997;52C:828–33.
- Bayramgurler D, Karson A, Yazir Y ve diğ. The Effect of Etanercept on Aortic Nitric Oxide-Dependent Vasorelaxation in an Unpredictable Chronic, Mild Stress Model of Depression in Rats. *European Journal of Pharmacology*, 2013;710(1–3):67–72.
- Belmaker R, Agam G. Major Depressive Disorder. *The New England Journal of Medicine*, 2008; 358(1):55–68.
- Black PH, Garbutt LD. Stress, Inflammation and Cardiovascular Disease. *Journal of Psychosomatic Research*, 2002;52(1):1–23.
- Bosio K, Avanzini C, D'Avolio A. ve diğ. In Vitro Activity of Propolis against Streptococcus Pyogenes. *Letters in Applied Microbiology*, 2000;31:174-177.
- Boyer P. 2000. Do Anxiety and Depression Have a Common Pathophysiological Mechanism? *Acta Psychiatrica Scandinavica. Supplementum*. 2000;406:24-9.
- Broadley AJM, Korszun A, Jones CJH ve diğ. Arterial Endothelial Function Is Impaired in Treated Depression. *Heart*, 2002;88(5):521–23.
- Brotto MAP. Temporal Effects of Stress by Immobilization and Sensitivity of the Isolated Rat Pacemaker to Isoproterenol: Roles of Corticosterone, Neuronal Uptake, and -Adrenergic Homogeneity. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2003;306:1152–58.
- Burdock GA. Review of the Biological Properties and Toxicity of Bee Propolis (Propolis). *Food and Chemical Toxicology*, 1998;36(4):347–63.
- De Castro SL. Propolis: Biological and Pharmacological Activities. Therapeutic Uses of This Bee-Product. *Annual Review of Biomedical Sciences*, 2001;3:49–83.
- De Castro SL, Paulino N, Valente PHM ve diğ. Phenolic Compounds from Brazilian Propolis with Pharmacological Activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 2002;74(2):105–12.
- Chaurasiya N D, Ibrahim MA, Muhammad I.ve diğ. Monoamine Oxidase Inhibitory Constituents of Propolis: Kinetics and Mechanism of Inhibition of Recombinant Human MAO-A and MAO-B. *Molecules*, 2014; 19(11):18936–52.
- Chopra S, Pillai KK, Husain S Z ve diğ. Propolis Protects against Doxorubicin-Induced Myocardiopathy in Rats. *Experimental and Molecular Pathology*, 1995;62:190–98.
- Cicala C, Morello S, Iorio C ve diğ. Vascular Effects of Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) on Isolated Rat Thoracic Aorta. *Life Sciences*, 2003;73:73–80.
- Clifford MN. Chlorogenic Acids and Other Cinnamates - Nature, Occurrence, Dietary Burden, Absorption



- and Metabolism. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2000;80:1033-1043.
- d'Audiffret AC, Frisbee SJ, Stapleton PA., ve diğ. Depressive Behavior and Vascular Dysfunction: A Link between Clinical Depression and Vascular Disease? *Journal of Applied Physiology*, 2010.108(5):1041–51.
- Delgado PL. Depression: The Case for a Monoamine Deficiency. *Journal of Clinical Psychiatry*,2000;61:7-11.
- Demirtaş T, Utkan T, Karson A ve diğ. The Link Between Unpredictable Chronic Mild Stress Model for Depression and Vascular Inflammation? *Inflammation*, 2014;37(5):1432–38.
- Drevets WC. Functional Neuroimaging Studies of Depression: The Anatomy of Melancholia. *Annual Review of Medicine*, 1998;49:341-361.
- Duman RS. Neurobiology OF Stress, Depression, and Rapid Acting Antidepressants: Remodeling Synaptic Connections. *Depression and Anxiety*, 2014;6:1–6.
- Ertürküner SP, Saraç EY, Göçmez SS ve diğ. Anti-Inflammatory and Ultrastructural Effects of Turkish Propolis in a Rat Model of Endotoxin-Induced Uveitis. *Folia Histochemica et Cytobiologica*, 2016; 54(1):49-57.
- Filho CB, Jesse CR, Donato F ve diğ. Chrysin Promotes Attenuation of Depressive-like Behavior and Hippocampal Dysfunction Resulting from Olfactory Bulbectomy in Mice. *Chemico-Biological Interactions*, 2016;260:154–62.
- Frodl T, Meisenzahl EM, Zetzsche T ve diğ. Hippocampal and Amygdala Changes in Patients with Major Depressive Disorder and Healthy Controls during a 1-Year Follow-Up. *Journal of Clinical Psychiatry*, 2004;65(4):492-9
- Fuchs E, Czéh B, Kole MH ve diğ. Alterations of Neuroplasticity in Depression: The Hippocampus and Beyond. *European Neuropsychopharmacology*, 2004;14:481-90.
- Furchgott RF, Zawadzki JV. The Obligatory Role of Endothelial Cells in the Relaxation of Arterial Smooth Muscle by Acetylcholine. *Nature*,1980;288(5789):373–76.
- Gatt JM, Williams LM, Schofield PR ve diğ. Impact of the HTR3A Gene with Early Life Trauma on Emotional Brain Networks and Depressed Mood. *Depression and Anxiety*, 2010;27(8):752-9.
- Ghisalberti EL. Propolis: A Review. *Bee World*, 1979;60(2):59–84.
- Godfrey PS, Toone BK, Carney MW ve diğ. Enhancement of Recovery from Psychiatric Illness by Methylfolate. *Lancet*, 1990;392–95.
- Gold PW, Machado-vieira R, Pavlatou MG. Clinical and Biochemical Manifestations of Depression : Relation to the Neurobiology of Stress. *Neural Plasticity*, 2015;1-11.
- Grippo AJ. Mechanisms Underlying Altered Mood and Cardiovascular Dysfunction: The Value of Neurobiological and Behavioral Research with Animal Models. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 2009;33(2):171–80.
- Hamilton JP, Siemer M, Gotlib IH. Amygdala Volume in Major Depressive Disorder: A Meta-Analysis of Magnetic Resonance Imaging Studies. *Molecular Psychiatry*,2008;13(11):993-1000.
- Haydak MH, Palmer LS. Royal Jelly and Bee Bread as Sources of Vitamins B1, B2, B6, C, and Nicotinic and Pantothenic Acids<sup>12</sup>. *Journal of Economic Entomology*, 1942;35(3):319–20.
- Hepşen IF, Er H, Çekiç O. Topically Applied Water Extract of Propolis to Suppress Corneal Neovascularization in Rabbits. *Ophthalmic Research*,1999;31:426–31.
- Hu F, Hepburn HR, Li Y ve diğ. Effects of Ethanol and Water Extracts of Propolis (Bee Glue) on Acute Inflammatory Animal Models. *Journal of Ethnopharmacology*,2005;100:276–283.
- Ilhan A, Koltuksuz U, Ozen S ve diğ. The Effects of Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) on Spinal Cord Ischemia/Reperfusion Injury in Rabbits. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 1999; 16(4):458–63.
- Isingrini E, Desmidt T, Belzung C ve diğ. Endothelial Dysfunction: A Potential Therapeutic Target for Geriatric Depression and Brain Amyloid Deposition in Alzheimer's Disease? *Current Opinion in*

- Investigational Drugs*, 2009;10(1):46–55.
- Isingrini E, Surget A, Belzung C ve diğ. Altered Aortic Vascular Reactivity in the Unpredictable Chronic Mild Stress Model of Depression in Mice. UCMS Causes Relaxation Impairment to ACh. *Physiology and Behavior*,2011;103(5):540–46.
- Iuchi T, Akaike M, Mitsui T ve diğ. Glucocorticoid Excess Induces Superoxide Production in Vascular Endothelial Cells and Elicits Vascular Endothelial Dysfunction. *Circulation Research*,2003;92(1):81–87.
- Iwata M, Ota KT, Duman RS. The Inflammasome:Pathways Linking Psychological Stress, Depression, and Systemic Illnesses. *Brain, Behavior, and Immunity*,2013;31:105-114.
- Karamustafalıoğlu O, Yumrukçal H. Depresyon ve Anksiyete Bozuklukları. *Ş.E.E.A.H. Tıp Bülteni*, 2011;45(2):65-74.
- Kartal M, Yıldız S, Kaya S ve diğ. Antimicrobial Activity of Propolis Samples from Two Different
- Katzung BG, Masters SB, Trevor A.J. Temel ve Klinik Farmakoloji (12. Baskı). Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 2014.
- Kayaalp O. Akılcı Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji (13. Baskı). Pelikan Kitabevi, Ankara, 2012
- Kimoto N, Hirose M, Kawabe M ve diğ. Post-Initiation Effects of a Super Critical Extract of Propolis in a Rat Two-Stage Carcinogenesis Model in Female F344 Rats. *Cancer Letters*,1999;147(1-2):221-7.
- Kimoto T, Koya S, Hino K ve diğ. Renal Carcinogenesis Induced by Ferric Nitrotriacetate in Mice, and Protection from It by Brazilian Propolis and Artepillin C. *Pathology International*,2000;50:679–89.
- Koolschijnm PC, Van Haren N, Lensvelt-Mulders G ve diğ. Brain Volume Abnormalities in Major Depressive Disorder: A Meta-Analysis of Magnetic Resonance Imaging Studies. *Human Brain Mapping*, 2009; 30(11):3719-35.
- Kotan Z, Sarandöl A, Eker SS ve diğ. Depresyon, Nöroplastisite ve Nörotrofik Faktörler. *Current Approaches in Psychiatry*,2009;1:22-35.
- Kubota Y, Umegaki K, Kobayashi K ve diğ. Anti-Hypertensive Effects of Brazilian Propolis in Spontaneously Hypertensive Rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*,2004; 31(2):29–30.
- Kujumgiev A, Tsvetkova I, Serkedjieva Y ve diğ. Antibacterial, Antifungal and Antiviral Activity of Propolis of Different Geographic Origin. *Journal of Ethnopharmacology*,1999;64(3):235-40.
- Kumar KV, Das UN. Are Free Radicals Involved in the Pathobiology of Human Essential Hypertension? *Free Radical Research*,1993;19:59–66.
- Kumazawa S, Hamasaka T, Nakayama T. Antioxidant Activity of Propolis of Various Geographic Origins., *Food Chemistry*,2004;84(3):329–39.
- Kuropatnicki AK, Szliszka E, Krol W. Historical Aspects of Propolis Research in Modern Times. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013;1–11.
- Lee M, Kim YH, Park W ve diğ. Novel Antidepressant-Like Activity of Propolis Extract Mediated by Enhanced Glucocorticoid Receptor Function in the Hippocampus. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013.
- Levinson DF. The Genetics of Depression : A Review. *Society of Biological Psychiatry*, 2005;60:84–92.
- Li L, Pang XB, Chen BN ve diğ. Pinocembrin Inhibits Angiotensin II-Induced Vasoconstriction via Suppression of the Increase of  $[Ca^{2+}]$  and ERK1/2 Activation through Blocking AT1R in the Rat Aorta. *Biochemical and Biophysical Research Communications*,2013;435(1):69–75.
- Long Y, Han M, Chen J ve diğ. The Vasorelaxant Effect of Caffeic Acid Phenethyl Ester on Porcine Coronary Artery Ring Segments. *Vascular Pharmacology*,2009;51(2–3):78–83.
- Maas JW, Fawcett J, Dekirmenjian H. 3-Methoxy-4-Hydroxy Phenylglycol (MHPG) Excretion in Depressive States: A Pilot Study. *Archives of General Psychiatry*,1968;19(2):129-134.
- Marcucci MC. Propolis: Chemical Composition, Biological Properties and Therapeutic Activity. *Apidologie*, 1995;26(2):83–99.

- Maruyama H, Sumitou Y, Sakamoto T ve diğ. Antihypertensive Effects of Flavonoids Isolated from Brazilian Green Propolis in Spontaneously Hypertensive Rats. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 2009;32(7):1244–50.
- Massaro FC, Brooks PR, Wallace HM ve diğ. Effect of Australian Propolis from Stingless Bees (*Tetragonula Carbonaria*) on Pre-Contracted Human and Porcine Isolated Arteries. *PLoS ONE*, 2013;8(11):1–10.
- Matsuno T, Jung SK, Matsumoto Y ve diğ. Preferential Cytotoxicity to Tumor Cells of 3,5-Diprenyl-4-Hydroxycinnamic Acid (Artepillin C) Isolated from Propolis. *Anticancer Research*, 1997;52C:702–4.
- McEwen BS, Weiss JM, Schwartz LS. Uptake of Corticosterone by Rat Brain and Its Concentration by Certain Limbic Structures. *Brain Research*, 1969;16(1):227–41.
- Mirzoeva OK, Calder PC. The Effect of Propolis and Its Components on Eicosanoid Production during the Inflammatory Response. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 1996;55:441–49.
- Mishima S, Yoshida C, Akino S ve diğ. Antihypertensive Effects of Brazilian Propolis: Identification of Caffeoylquinic Acids as Constituents Involved in the Hypotension in Spontaneously Hypertensive Rats. 2005;28(10):1909–14.
- Morello S, Vellecco V, Alfieri A ve diğ. Vasorelaxant Effect of the Flavonoid Galangin on Isolated Rat Thoracic Aorta. *Life Sciences*, 2006;78(8):825–30.
- Murphy HS, Shayman JA, Till GO ve diğ. Superoxide Responses of Endothelial Cells to C5a and TNF-Alpha: Divergent Signal Transduction Pathways. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 2017;263:51–59.
- Musselman DL, Evans DL, Nemeroff CB. The Relationship of Depression to Cardiovascular Disease. *Archives of General Psychiatry*, 1998;55(7):580–92.
- Musselman DL, Tomer A, Manatunga AK ve diğ. Exaggerated Platelet Reactivity in Major Depression. *American Journal of Psychiatry*, 1996;153(10):1313–7.
- Neves VJ, Moura MJ, Almeida BS ve diğ. Chronic Stress, but Not Hypercaloric Diet, Impairs Vascular Function in Rats. *Stress*, 2012;15(2):138–48.
- Neves VJ, Moura MJ, Tamascia ML ve diğ. Proatherosclerotic Effects of Chronic Stress in Male Rats: Altered Phenylephrine Sensitivity and Nitric Oxide Synthase Activity of Aorta and Circulating Lipids. *Stress*, 2009;12(4):320–27.
- Pacher P, Kohegyi E, Kecskemeti V ve diğ. Current Trends in the Development of New Antidepressants. *Curr Med Chem*. 2001;8(2):89–100.
- Palazidou E. The Neurobiology of Depression. *British Medical Bulletin*, 2012;101:127–145.
- Plante GE. Depression and Cardiovascular Disease: A Reciprocal Relationship. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 2005;54:45–48.
- Popravko SA, Gurevich AI, Kolosov MN. Flavonoid Components of Propolis. *Chemistry of Natural Compounds*, 1969;5(6):397–401.
- Porsolt RD, Pichon ML, Jalfre M. Depression: A New Animal Model Sensitive to Antidepressant Treatment. *Nature*, 1977;270:730–32.
- van Praag HM. The Significance of Biological Factors in the Diagnosis of Depressions: I Biochemical Variables. *Comprehensive Psychiatry*, 1982;23(2):124–35.
- Raison CL, Capuron L, Miller AH. Cytokines Sing the Blues: Inflammation and the Pathogenesis of Depression. *Trends in Immunology*, 2006; 27(1):24–31.
- Rajagopalan S, Brook R, Rubenfire M ve diğ. Abnormal Brachial Artery Flow-Mediated Vasodilation in Young Adults with Major Depression. *American Journal of Cardiology*, 2001;15;88(2):196–8
- Reis JSS, Oliveira GB, Monteiro MC ve diğ. Antidepressant- and Anxiolytic-like Activities of an Oil Extract of Propolis in Rats. *Phytomedicine*, 2014;21(11):1466–72.
- Rybakowski JK, Wykretowicz A, Heymann-Szlachcinska A ve diğ. Impairment of Endothelial Function in Unipolar and Bipolar Depression. *Biological Psychiatry*, 2006;60(8):889–91.
- Şahin TD, Yazir Y, Utkan T ve diğ. Penile Constitutive Nitric Oxide Synthase Expression in Rats Exposed to

- Unpredictable Chronic Mild Stress: Role of Inflammation. *International Journal of Impotence Research*, 2017;29(2):76–81.
- Sala M, Perez J, Soloff ve diğ. Stress and Hippocampal Abnormalities in Psychiatric Disorders. *European Neuropsychopharmacology*, 2004;14(5):393-405.
- Schatzberg AF, Parker KJ, Lyons DM. Neuroendocrine Aspects of Hypercortisolism in Major Depression. *Hormones and Behavior*, 2003;43(1):60-6.
- Scheller S, Kawalski H, Oklek K ve diğ. Correlation between Virulence of Various Strains of Mycobacteria and Their Susceptibility to Ethanolic Extract of Propolis (EEP). *Zeitschrift Fur Naturforschun - Section C Journal of Biosciences*, 1998;53(11-12):1040-4.
- Scheller S, Krol W, Swiacik J ve diğ. Antitumoral Property of Ethanolic Extract of Propolis in Mice-Bearing Ehrlich Carcinoma, as Compared to Bleomycin. *Zeitschrift Fur Naturforschung-Section C Journal of Biosciences*, 1989b;44(11-12):1063-5.
- Scheller S, Dworniczak S, Waldemar-Klimmek K ve diğ. Synergism between Ethanolic Extract of Propolis (EEP) and Anti-Tuberculosis Drugs on Growth of Mycobacteria. *Zeitschrift Fur Naturforschung-Section C Journal of Biosciences*, 1999;54c:549-553.
- Scheller S, Gazda G, Krol W ve diğ. The Ability of Ethanolic Extract of Propolis (EEP) to Protect Mice against Gamma Irradiation. *Zeitschrift Fur Naturforschung-Section C Journal of Biosciences*, 1989a; 44C:1049–52.
- Schildkraut JJ. The Catecholamine Hypothesis of Affective Disorders: A Review of Supporting Evidence. *American Journal of Psychiatry*, 1965;122(5):509–22.
- Seven İ, Aksu T, Seven PT. Propolis ve Hayvan Besleme Kullanimi Propolis and Its Usage in Animal Nutrition. *YYÜ Vet Fak Derg.*, 2007;18(2):79-84.
- Sherwood A, Hinderliter AL, Watkins LL ve diğ. Impaired Endothelial Function in Coronary Heart Disease Patients with Depressive Symptomatology. *Journal of the American College of Cardiology*, 2005;46(4):656–59.
- Shimizu E, Hashimoto K, Okamura N ve diğ. Alterations of Serum Levels of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in Depressed Patients with or without Antidepressants. *Biological Psychiatry*, 2003 ;54(1):70-5.
- Stahl S.M. Stahl'in Temel Psikofarmakolojisi. Çeviri Editörü: Prof.Dr. İ.Tayfun Uzay (3. Baskı). İstanbul Tıp Kitapevi, İstanbul, 2012.
- Stahl S.M. Stahl'in Temel Psikofarmakolojisi. Çeviri Editörü: Tunç Alkın (4. Baskı). İstanbul Tıp Kitapevi, İstanbul, 2015.
- Slattery DA, Hudson AL, Nutt DJ. Invited Review: The Evolution of Antidepressant Mechanisms. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, 2004;18(1):1-21.
- Starkman MN, Giordani B, Gebarski SS ve diğ. Improvement in Learning Associated with Increase in Hippocampal Formation Volume. *Biological Psychiatry*, 2003; 53(3):1:233-238.
- Strehl E, Volpert R, Elstner EF. Biochemical Activities of Propolis-Extracts III. Inhibition of Dihydrofolate Reductase. *Zeitschrift Fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, 1994;49C:39–43.
- Sun F, Hayami S, Haruna S ve diğ. 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*, 2000;48:1462–65.
- Takaisi-Kikuni NB, Schilcher H. Electron Microscopic and Microcalorimetric Investigations of the Possible Mechanism of the Antibacterial Action of a Defined Propolis Provenance. *Planta Medica*, 1994.
- Teles F, Da Silva TM, Da Cruz FP ve diğ. Brazilian Red Propolis Attenuates Hypertension and Renal Damage in 5/6 Renal Ablation Model. *PLoS ONE*, 2015;10(1):1–15.
- Tolba MF, Azab SS, Khalifa AE ve diğ. Caffeic Acid Phenethyl Ester, a Promising Component of Propolis with a Plethora of Biological Activities: A Review on Its Anti-Inflammatory, Neuroprotective, Hepatoprotective, and Cardioprotective Effects. *IUBMB Life*, 2013;65(8):699–709.
- Tosi B, Donini A, Romagnoli C ve diğ. Antimicrobial Activity of Some Commercial Extracts of Propolis

- Prepared with Different Solvents. *Phytotherapy Research*, 1996;10(4):335-336.
- Troshev K, Kozarev I, Markov D. Regulation of Traumatic Skin Wound Healing by Influencing the Process in the Neighbouring Zone of the Wound. *Acta Chirurgiae Plasticae*, 1990;152-63.
- Uzbay T. Anksiyete ve Depresyonun Nörobiyolojisi. *Klinik Psikiyatri Dergisi*, 2004;4:3-11.
- Uzbay T. Nöropsikofarmakoloji Rasyonel İlaç Kullanımı (1. Baskı) İstanbul Medikal Yayıncılık. Ankara, 2007.
- Verma S, Anderson TJ. Fundamentals of Endothelial Function for the Clinical Cardiologist. *Circulation*, 2002;105(5):546-49.
- Willner P, Jones C. Effects of Mood Manipulation on Subjective and Behavioural Measures of Cigarette Craving. *Behavioural Pharmacology*, 1996;7:355-63.
- Willner P. Validity, Reliability and Utility of the Chronic Mild Stress Model of Depression: A 10-Year Review and Evaluation. *Psychopharmacology*, 1997;134(4):319-29.
- Willner P. The Chronic Mild Stress (CMS) Model of Depression: History, Evaluation and Usage. *Neurobiology of Stress*, 2017;24;6:78-93.
- Willner P, Muscat R, Papp M. Chronic Mild Stress-Induced Anhedonia: A Realistic Animal Model of Depression. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 1992;16(4):525-34.
- Xu H, Wan M, Dong H ve diğ. Inhibitory Activity of Flavonoids and Tannins against HIV-1 Protease. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, 2000;23(9):1072-76.
- Yildiz O, Karahalil F, Can Z, ve diğ. Total Monoamine Oxidase (MAO) Inhibition by Chestnut Honey, Pollen and Propolis. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2014;29(5):690-94.
- Yoshizumi M, Perrella MA, Burnett JC ve diğ. Tumor Necrosis Factor Downregulates an Endothelial Nitric Oxide Synthase mRNA by Shortening Its Half-Life. *Circulation Research*, 1993;73:205-9.

## ÖZGEÇMİŞ

### Bireysel bilgiler

**Adı Soyadı** : Gülşen ÇELEBİ  
**Doğum Yeri ve Tarihi** : 22.06.1993 / EMİNÖNÜ  
**Uyruğu** : Türkiye Cumhuriyeti  
**Medeni Durumu** : Evli  
**Çalıştığı Kurum** : Zeynep Eczanesi Başiskele/KOCAELİ  
**İletişim Adresi** : Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji A.D.  
Umuttepe Yerleşkesi 41380 İzmit/KOCAELİ  
**E-posta** : ecz.gulsencelebi@gmail.com

### Eğitim Durumu

**2007-2011** Çemberlitaş Anadolu Lisesi, Fen-Matematik Bölümü, İSTANBUL  
**2011-2017** Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, İSTANBUL  
**2017-2019** Kocaeli Üniversitesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, KOCAELİ

**Yabancı Dili** : İngilizce

**Unvanları** : Eczacı

### Mesleki Deneyimler

**2017-devam** : İkinci Eczacı, Zeynep Eczanesi, Başiskele/KOCAELİ

### Bilimsel Etkinlikler

#### Yayınlar

Zengin Kurt B., Durdagi S., Celebi G., Ekhteiri Salmas R., Sonmez F. Synthesis, anticholinesterase activity and molecular modeling studies of novel carvacrol substituted amide derivatives. *J Biomol Struct Dyn.*, 2019 Mar 5:1-28.

#### Araştırma Projeleri

1. Sıçanlarda kronik öngörülemeyen hafif stresin neden olduğu depresyon modelinde propolisin vasküler fonksiyonlar üzerine etkileri, Kocaeli Üniversitesi BAP Birimi, Proje No: KOU-BAP 2019/03, Araştırmacı (2018-2019)

2. Monoterpen içeren yeni kumarin türevlerinin sentezi ve CA inhibisyonlarının in vitro incelenmesi, TÜBİTAK, Proje No: 116Z779, Araştırmacı (2016-2017)

3. Radar absorplayıcı malzeme olarak grafenhekzaferrit nanokompozitlerin hazırlanması, elektriksel ve manyetik özelliklerinin incelenmesi ve mikrodalga soğurma performanslarının belirlenmesi, TÜBİTAK, Proje No: 213M462, Araştırmacı (2015-2016)

### **Bildiriler**

1. "Sıçanlarda yaşlanmaya bağlı kognitif fonksiyon bozukları üzerine propolis ekstresinin etkileri", Çelebi G., Göçmez S.S., Şahin T., Demirtaş, Utkan T., S177-178, P-42., 2. Ulusal Marmara Eczacılık Kongresi, 2018, İSTANBUL.

2. "Synthesis, biological activity for carvacrol-amide derivatives as cholinesterase inhibitors", Sonmez G., Zengin Kurt B., Sonmez F., 3. Uluslararası İlaç ve Eczacılık Kongresi, 2017, İSTANBUL.

3. "Synthesis, characterization and application of graphene/noble metal nanocomposites in photocatalytic dye elimination processes". Zengin Kurt B., Bektay MY., Durmus Z., Sönmez G., Korkmaz S., 2nd Graphene and Related Technologies: from Laboratory to Industry, 2015, İSTANBUL.

4. "Nano-Celecoxib With Enhanced Anti-Inflammatory Efficacy", Sönmez G., Büyük A.S., Kazdal F., Bahadori F., S180-181, P-114., 11th International Symposium on Pharmaceutical Sciences, 2015, ANKARA.

### **Burslar**

1. 213M462 ve 116Z779 nolu TÜBİTAK projeleri kapsamında lisans bursu (2015-2017)

2. Bezmialem Vakıf Üniversitesi Akademik Başarı Bursu (2013-2017)

3. Kredi ve Yurtlar Kurumu Bursu (2012-2017)

4. ÖSYM %100 Eğitim Bursu (2011-2017)

## EKLER

### EK 1. Kocaeli Üniversitesi Hayvan Araştırmaları Etik Kurulu'nun 18.10.2018 tarih ve KOÜ HADYEK 1/7-2018 numaralı onayı



T.C.  
**KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ**  
**HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU**



|                             |  |   |
|-----------------------------|--|---|
| <b>PROJE NO:</b><br>2017/52 | <b>ARAŞTIRMANIN ADI</b>                      | Siçanlarda kronik öngörülemez hafif strese indüklenen depresyon modelinde propolisin öğrenme bellek ve torasik aorta fonksiyonları üzerine etkileri   |
|                             | <b>SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI KURUMU</b> | Doç.Dr.Semil Selcen GÖÇMEZ / Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi   |
|                             | <b>YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR</b>               | Prof.Dr.Tijen UTKAN, Doç.Dr.Yusufhan YAZIR, Vet Hekim Cüneyt ÖZER, Dr.Öğr.Üyesi Fevzi UÇKAN, Arş.Gör. Tuğçe DEMİRTAŞ ŞAHİN, Dr.Öğr.Üyesi Fatma Ceyla ERALDEMİR, Gülşen ÇELEBİ, Rabia KELOĞLAN |

|                              |                |          |
|------------------------------|----------------|----------|
| <b>DEĞERLENDİRİLEN BELGE</b> | <b>DİLEKÇE</b> | <b>X</b> |
|------------------------------|----------------|----------|

|  |  |
|--|--|
| <b>KARAR BİLGİLERİ</b>                 | 30.11.2017 tarihli Etik Kurul Oturumunda KOÜ HADYEK 11/8-2017 karar sayısı ile onaylanmış bulunan çalışma için talep edilen değişiklikler ve gerekçeleri değerlendirilmiş olup çalışmaya Gülşen ÇELEBİ ve Rabia KELOĞLAN'ın eklenmesi uygun bulunarak onaylanmıştır. |
| <b>KARAR NO: KOÜ HADYEK 1/7 - 2018</b> | <b>KARAR TARİHİ: 18.10.2018</b>  |

| <b>ETİK KURUL ÜYELERİ</b>                      |  |   |                                |
|--|--|---|--------------------------------|
| <b>UNVANI/ADI SOYADI<br/>ETİK KURUL GÖREVİ</b> | <b>BİRİMİ</b>  | <b>TOPLANTIYA<br/>KATILMA</b>   | <b>KARARA KATILMA<br/>İMZA</b> |
| Prof. Dr. Hüsnü EFENDİ<br>Başkan               | Kocaeli Üniversitesi (KOÜ)<br>Tıp Fakültesi Nöroloji AD                          | <input checked="" type="checkbox"/> Katıldı<br><input type="checkbox"/> Katılmadı | <i>[Signature]</i>             |
| Doç. Dr. Mine ŞEHİRALTI<br>Başkan Vekili       | KOÜ Tıp Fakültesi<br>Tıp Tarihi ve Deontoloji AD                                 | <input checked="" type="checkbox"/> Katıldı<br><input type="checkbox"/> Katılmadı | <i>[Signature]</i>             |
| Veteriner Hekim Cüneyt Özer<br>Raportör        | KOÜ Deneysel Tıp Araştırma ve<br>Uygulama Birimi                                 | <input type="checkbox"/> Katıldı<br><input type="checkbox"/> Katılmadı            |                                |
| Prof. Dr. Tijen UTKAN<br>Üye                   | KOÜ Deneysel Tıp Araştırma ve<br>Uygulama Birimi<br>Tıp Fakültesi Farmakoloji AD | <input type="checkbox"/> Katıldı<br><input type="checkbox"/> Katılmadı            |                                |
| Dr.Öğr. Üyesi Sabri CORA<br>Üye                | KOÜ Diş Hekimliği Fakültesi<br>Endodonti AD                                      | <input checked="" type="checkbox"/> Katıldı<br><input type="checkbox"/> Katılmadı | <i>[Signature]</i>             |
| Dr.Öğr. Üyesi Fevzi UÇKAN<br>Üye               | KOÜ Fen-Edebiyat Fakültesi<br>Genel Biyoloji AD                                  | <input type="checkbox"/> Katıldı<br><input type="checkbox"/> Katılmadı            |                                |
| Prof. Dr. Zafer CANTÜRK<br>Üye                 | KOÜ Tıp Fakültesi<br>Genel Cerrahi AD  | <input type="checkbox"/> Katıldı<br><input type="checkbox"/> Katılmadı            | <i>[Signature]</i>             |
| Prof. Dr. Melda YARDIMOĞLU YILMAZ<br>Üye       | KOÜ Tıp Fakültesi<br>Histoloji ve Embriyoloji AD                                 | <input type="checkbox"/> Katıldı<br><input type="checkbox"/> Katılmadı            | <i>[Signature]</i>             |
| Doç. Dr. Canan BAYDEMİR<br>Üye                 | KOÜ Tıp Fakültesi<br>Biyostatistik ve Tıbbi Bilişim AD                           | <input checked="" type="checkbox"/> Katıldı<br><input type="checkbox"/> Katılmadı | <i>[Signature]</i>             |
| Doç Dr. Gürler AKPINAR<br>Üye                  | KOÜ Tıp Fakültesi<br>Tıbbi Biyoloji AD   | <input checked="" type="checkbox"/> Katıldı<br><input type="checkbox"/> Katılmadı | <i>[Signature]</i>             |
| Veteriner Hekim Akın Ziya ÜNAL<br>Üye          | Hayvan Hakları Derneği<br>Veterinerler Odası                                     | <input type="checkbox"/> Katıldı<br><input type="checkbox"/> Katılmadı            |                                |
| Asiye ASLAN<br>Üye                             | Emekli Öğretmen  | <input type="checkbox"/> Katıldı<br><input type="checkbox"/> Katılmadı            | <i>[Signature]</i>             |



## EK 2. Tez Denetleme Listesi

Tez, aşağıdaki denetimler yapılarak tamamlanmıştır.

- ✓ Kapak ve iç kapak sayfalarında BİLİM UZMANLIĞI ya da DOKTORA şeklinde elde edilen unvanlar yazıldı (Kapak sayfasına danışman adı yazılmamalıdır).
- ✓ Kapak sayfasına mezun olunan PROGRAMIN (Anabilim dalının değil) adı yazıldı.
- ✓ Tez kapağı sırt kısmına kılavuzda belirtilen çizimde (yazının yönüne dikkat!) ad, program,yıl yazıldı.
- ✓ Onay sayfası uygun çizimde hazırlandı (kazanılan unvanlar BİLİM UZMANLIĞI ya da DOKTORA olmalıdır) imzalatıldı (Enstitü Müdürü'nün imzası da gereklidir, imzaların aynı renk kalemle atılmasına dikkat edilmelidir).
- ✓ Dizinler kılavuzda belirtildiği gibi sıralandı.
- ✓ Ön sayfalara i, ii, iii şeklinde Roma rakamları konuldu.
- ✓ Sayfa numaraları kılavuzda belirtildiği şekilde konuldu.
- ✓ Sayfa düzeni kılavuzda belirtildiği şekilde yapıldı.
- ✓ Ana metin yazı boyutu 12 olacak biçimde basıldı.
- ✓ Dipnot yazı boyutu 10 olacak şekilde basıldı.
- ✓ Ana metin satır aralığı 1.5 olacak şekilde yazıldı.
- ✓ Kaynaklar abecesel sıralamaya göre yazıldı.
- ✓ Kaynak gösterme ilkelerine ve yazım kurallarına uyuldu.
- ✓ Ekler kılavuzda belirtildiği gibi verildi.

28/05/2019

Danışman

Doç. Dr. Semil Selcen GÖÇMEZ

