

2022



YÜKSEK LİSANS

BİYOKİMYA (VETERİNER)

ÖMER EBREM



T.C.  
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOKİMYA (VETERİNER)  
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI  
VBY-2022-000

## DENEYSEL PERİODONTİTİS OLUŞTURULMUŞ RATLARDA PROPOLİS İÇEREN MUKOADESİV JELİN ETKİLERİ

ÖMER EBREM

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Pınar Alkan ULUTAŞ

AYDIN- 2022

**T.C.**  
**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**BİYOKİMYA (VETERİNER)**  
**YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**  
**2022-YL-032**

**DENEYSEL PERİODONTİTİS OLUŞTURULMUŞ**  
**RATLARDA PROPOLİS İÇEREN MUKOADESİV**  
**JELİN ETKİLERİ**

**Ömer EBREM**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. Pınar Alkım ULUTAŞ**

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından ADÜ-VTF-21025 proje numarası ile desteklenmiştir.

**AYDIN-2022**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya (Veteriner) Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Ömer EBREM tarafından hazırlanan “Deneysel Periodontitis Oluşturulmuş Ratlarda Propolis İçeren Mukoadesiv Jelin Etkileri ” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 0./0./2021

Üye(T.D.)	:Prof.Dr.Pınar Alkım ULUTAŞ	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	imza
Üye	: Prof. Dr. Funda KIRAL	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	imza
Üye	:Dr.Öğr. Üyesi Hakan TEKELİ	Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi	imza

### ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün ..... tarih ve ..... sayılı oturumunda alınan ..... nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK

Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez çalışmamda ilgi, yardım ve hoşgörüsünü esirgemeyen danışmanım Prof. Dr. Pınar Alkım ULUTAŞ'a çok teşekkür ederim.

Ayrıca bana her konuda yardımcı olan ve desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Ayşegül BİLDİK, Prof. Dr. Funda KIRAL, Doç. Dr. Serap ÜNÜBOL AYPAK'a, propolis içeren mukoadesiv jel hazırlamadaki desteklerinden dolayı Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünden Prof. Dr. Deniz AKTAŞ UYGUN'a, çalışmam sırasında desteklerini hissettiğim Araş. Gör. Dr. Gamze Sevri EKREN AŞICI ve Doktora Öğrencisi Bilgehan AKAR'a teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmam süresince gösterdiği sabır, özveri ve destekleri için eşime/aileme ayrıca teşekkür ederim.

# İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI .....	i
TEŞEKKÜR .....	ii
İÇİNDEKİLER .....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	vii
RESİMLER DİZİNİ .....	viii
TABLolar DİZİNİ .....	ix
ÖZET .....	x
ABSTRACT .....	xi
1. GİRİŞ .....	1
1.1. Problemin Tanımı ve Önemi .....	1
1.2. Araştırmanın Amacı .....	2
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Propolis .....	3
2.2. Propolisin Fiziksel Özellikleri.....	4
2.3. Propolisin Kimyasal Yapısı ve Özellikleri .....	5
2.4. Propolisin Biyokimyasal Yapısı ve Özellikleri .....	6
2.5. Propolisin Farmokolojik Özellikleri .....	9
2.6. Propolisin Antioksidan Özellikleri .....	9
2.7. Propolisin Tıbbi ve Sağlık Alanındaki Kullanımı.....	10
2.7.1. Propolisin Kan Şekeri Üzerinde Düzenleyici Etkisi.....	11
2.7.2. Propolisin Nöroprotektif Etkisi.....	12
2.7.3. Propolisin Yara Tedavisi Üzerinde Etkisi.....	12

2.7.4. Propolisin Bağışıklık Sistemi Üzerine Etkisi.....	13
2.7.5. Propolisin Bağırsak Sağlığı Üzerine Etkisi.....	13
2.7.6. Propolisin Yan Etkisi.....	13
2.7.7. Propolisin Toksik Etkisi.....	13
2.7.8. Propolisin Tüketim Dozu.....	14
2.7.9. Kitosan.....	14
2.7.10. Mukoadezyon .....	15
2.8. Diş Hastalıkları.....	16
2.8.1. Diş Çürüğü .....	16
2.8.2. Gingivitis .....	16
2.8.3. Periodontal Hastalıklar .....	17
2.8.4. Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması .....	19
2.8.5. Kronik Periodontitis .....	19
2.8.6. Periodontal Hastalıkların İlerlemesi .....	20
2.8.7. Kronik Periodontitisin Etiyolojisi .....	20
2.9. Sitokinler .....	21
2.9.1. İnterlökin-1 $\beta$ (İL-1 $\beta$ ) .....	22
2.9.2. İnterlökin-6 (İL-6) .....	24
2.9.3. Tümör Nekroz Faktör-Alfa ( TNF- $\alpha$ ) .....	25
2.10. C Reaktif Protein (CRP) .....	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	27
3.1. Gereç .....	27
3.1.1. Deney Hayvan Materyali .....	27
3.1.2. Kullanılan Cihazlar .....	28
3.1.3. Kullanılan Kimyasal Madde.....	29
3.2. Yöntem .....	29

3.2.1. Mukoadesiv Jelin Hazırlanması.....	29
3.2.2. Deney Grupları ve Uygulama Protokolü.....	30
3.2.3. Kan Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması.....	31
3.2.4. Kan Parametrelerin Analizi .....	31
3.2.4.1. Tam Kan Analizi.....	31
3.2.4.2. İnterlökin -1 Analizi.....	31
3.2.4.3. İnterlökin -6 Analizi.....	32
3.2.4.4. Tümör Nekroz Faktör-Alfa (TNF- $\alpha$ ) Analizi.....	33
3.2.4.5. C Reaktif Protein (CRP) Analizi .....	34
3.2.4.6. Histopatolojik Analizi... ..	34
3.2.5. İstatistiksel Değerlendirme .....	35
4. BULGULAR .....	36
4.1.Canlı Ağırlık .....	36
4.2. Biyokimyasal ve Hematolojik Bulgular .....	36
4.3. Histopatolojik Bulgular .....	39
5. TARTIŞMA .....	41
6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	46
KAYNAKLAR .....	47
EKLER .....	60
Ek :1 (ADÜ- HADYEK (Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul ) Onay Sayfası) .....	60
BİLİMSEL ETİK BEYANI.....	61
ÖZ GEÇMİŞ .....	62

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

CAPE	: Kafeik asit fenetil ester
CAT	: Katalaz
COX-1	: Siklooksijenaz-1
COX-2	: Siklooksijenaz-2
CRP	: C Reaktif protein
ELISA	: Enzyme linked immüno sorbent assay
G	: Gram(g)
GPx	: Glutatyon peroksidaz
IL-1	: İnterlökin-1 $\beta$
IL-6	: İnterlökin-6
MG	: Milligram(mg)
NF-kB	: Nükleer transkripsiyon faktörü-kB
OH	: Hidroksil
<i>P. gingivalis</i>	: Porphyromonas gingivalis
SOD	: Süperoksit dismutaz
TNF- $\alpha$	: Tümör nekroz faktör-alfa
UV	: Ultraviyole



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 1.</b>	Polifenollerin sınıflandırılması .....	7
<b>Şekil 2.</b>	Flavonoidlerin temel yapısı (a) ve bazı substituenleri (b) .....	7
<b>Şekil 3.</b>	Fenolik asitler.....	8
<b>Şekil 4.</b>	Kitosan kimyasal yapısı.....	15
<b>Şekil 5.</b>	Mukoadezif bağın üç bileşeni .....	16
<b>Şekil 6.</b>	Bakteri ve konak yanıtı arasındaki etkileşimi.....	19
<b>Şekil 7.</b>	İL-1 ve sitokin ağı.....	23
<b>Şekil 8.</b>	Tümör Nekroz Faktörü (TNF- $\alpha$ ).....	25
<b>Şekil 9.</b>	Beş adet protomerden oluşan CRP molekülü .....	26

## RESİMLER DİZİNİ

<b>Resim 1.</b>	Propolis örneği	3
<b>Resim 2.</b>	Kovan içinden propolis örneği .....	4
<b>Resim 3.</b>	Günümüzde propolis birçok farklı preperatta örnekleri .....	11
<b>Resim 4.</b>	Araştırma kapsamında kullanılan Sprague Dawley ratlar ve grupları.....	27
<b>Resim 5.</b>	Araştırma kapsamında kullanılan ELİSA cihazı .....	28
<b>Resim 6.</b>	Araştırma kapsamında kullanılan hemogram cihazı .....	28
<b>Resim 7.</b>	Araştırma kapsamında kullanılan rat kitleri .....	29
<b>Resim 8.</b>	Ratlara ligatürün atılırken .....	30
<b>Resim 9.</b>	Ratlara ligatürün atılmış hali... ..	30
<b>Resim 10.</b>	Sağlıklı kontrol grubu diş eti dokusu (HEX10) .....	39
<b>Resim 11.</b>	Negatif kontrol grubu (HEX10).....	39
<b>Resim 12.</b>	Kitosan ile hazırlanan mukoadesiv jel içeren grup diş eti dokusu (HEX10)...	40
<b>Resim 13.</b>	50 mg Kitosan içeren mukoadesiv jel uygulanan grup (HEX10).....	40
<b>Resim 14.</b>	100 mg Kitosan içeren jel uygulanan grup (HEX10).....	40

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b>	Propolisin kimyasal yapısı.....	5
<b>Tablo 2.</b>	Flavonoidlerin sınıflandırılması, çeşidi ve gıda kaynağı .....	8
<b>Tablo 3.</b>	Sitokin grupların Sınıflandırılması.....	22
<b>Tablo 4.</b>	Deneysel gruplara ait çalışma öncesi ve sonrası ortalama canlı ağırlıklar....	36
<b>Tablo 5.</b>	Deneysel periodontitis oluşturulan ve sağlıklı kontrol grubu ratlarında ortalama serum CRP, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ve IL-6 konsantrasyonları.....	36
<b>Tablo 6.</b>	Deneysel periodontitis oluşturulan ve sağlıklı kontrol grubu ratlarında ortalama kan hemogram düzeyleri.....	38

## ÖZET

### DENEYSSEL PERİODONTİTİS OLUŞTURULMUŞ RATLARDA PROPOLİS İÇEREN MUKOADESİV JELİN ETKİLERİ

**Ebrem Ö. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya (Veteriner) Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2021.**

**Amaç:** Bu çalışmada ratlarda oluşturulan deneysel periodontitis modelinde lokal olarak uygulanan propolis içeren mukoadesiv jelin etkilerinin biyokimyasal ve histopatolojik olarak incelenmesi amaçlandı.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmada, ortalama 200-250 g ağırlığında 35 adet Sprague Dawley erkek rat kullanıldı. Periodontitis oluşturmak için uygun anestezi altında sağ alt birinci kesici dişlerine submarjinal olarak 3/0 ipek suture materyali geçirilerek vestibülde düğüm atıldı. Ligatürün atılmasını takiben 11. günde tekrar anestezi altında bu ligatürler çıkarılarak gruplara 50 mg, 100 mg propolis içeren mukoadesiv jel; kontrol grubu ratlara mukoadesiv jel hazırlamada kullanılan kitosan ile hazırlanan jel aynı yöntemle hergün uygulandı. Negatif kontrol grubuna hiçbir jel uygulaması yapılmadı. 7 adet rat sağlıklı kontrol grubu olarak ligatür ve jel uygulaması yapılmadan aynı deney odasında farklı kafeslerde barındırıldı. 8. gün genel anestezi altında kalp içi kan örnekleri toplandı. Daha sonra servikal dislokasyonla ötenazi işlemi uygulandı. Uygun şekilde çıkarılan diş eti dokuları histopatolojik incelemeler için tampon çözelti içine alındı. IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  ve CRP düzeyi ölçümleri ticari test kitleri kullanılarak ELISA cihazında belirlendi. Hemogram ölçümleri kan sayım cihazında gerçekleştirildi. Elde edilen sonuçlar uygun istatistik yöntemler kullanılarak değerlendirildi.

**Bulgular:** Elde edilen sonuçlara göre propolis içeren mukoadesiv jelin serum CRP, IL-1, IL-6 ve TNF- $\alpha$  düzeylerinde istatistikî önemde olmayan azalmalara neden olduğu görüldü.

**Sonuç:** Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre propolis içeren mukoadesiv jel uygulaması periodontal enflamasyonun azalmasına, doku yıkımının önlenmesine ve iyileşmeye katkı sağlayabilir.

**Anahtar kelimeler:** Mukoadesiv jel, periodontitis, propolis, rat.

## ABSTRACT

### EFFECTS OF MUCOADHESIVE GEL CONTAINING PROPOLIS IN RATS WITH EXPERIMENTAL PERIODONTITIS

**Ebrem Ö. Aydın Adnan Menderes University Health Sciences Institute of Biochemistry  
(Veterinary) Program, Master's Thesis, Aydın, 2021.**

**Objective:** In this study, it was aimed to examine the effects of locally applied mucoadhesive gel containing propolis in the experimental periodontitis model created in rats, biochemically and histopathologically.

**Materiyal end metod:** In the study, 35 Sprague Dawley male rats with an average weight of 200-250 g were used. In order to induce periodontitis, 3/0 silk suture material was passed submarginally to the right mandibular first incisor under appropriate anesthesia and the knot was tied in the vestibule. On the 11th day following the removal of the ligature, these ligatures were removed again under anesthesia and the groups were given a mucoadhesive gel containing 50 mg and 100 mg of propolis; The gel prepared with chitosan used in mucoadhesive gel preparation was applied to the control group rats every day with the same method. No gel was applied to the negative control group. As a healthy control group, 7 rats were housed in different cages in the same experimental room without ligature and gel application. On the 8th day, intracardiac blood samples were collected under general anesthesia. Then, euthanasia was performed by cervical dislocation. Appropriately removed gingival tissues were taken into buffer solution for histopathological examinations. IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  and CRP levels were measured in an ELISA device using commercial test kits. Hemogram measurements were performed on a blood count device. The results obtained were evaluated using appropriate statistical methods. .

**Results:** According to the results obtained, it was observed that the mucoadhesive gel containing propolis caused a non-statistical decrease in serum CRP, IL-1, IL-6 and TNF- $\alpha$  levels.

**Conclusion:** According to the results obtained from this study, the application of mucoadhesive gel containing propolis may contribute to the reduction of periodontal inflammation, the prevention of tissue destruction and healing.

**Keywords:** Mucoadhesive gel, periodontitis, propolis, rat.

# 1. GİRİŞ

## 1.1. Problemin Tanımı ve Önemi

Çağımızda önemi giderek artan doğal bir karışım olan propolis, bal arıları (*Apis mellifera Linnaeus*) vasıtasıyla bitki, ağaç yaprakları ve bitki sürgünlerinden toplanan reçinemsî bir maddedir. Arıların topladığı materyal, bitkilerin yara kısımlarından akan karışımlar olabildiği gibi, ağaçların yapraklarındaki lipofilik materyaller ile reçine ve zambak gibi karışımlarda içerebilir. Arılar reçinelere farklı enzimler ile polen kökenli karışımları da katmaktadırlar (Castaldo ve Capasso ,2002). Propolisi oluşturan kavak (*Populus spp.*), kayın (*Fagus sylvatica*), huş (*Betula alba*), kestane (*Castanea sativa*), akça ağaç (*Alnus glutinosa*) ve çeşitli iğne yapraklı ağaçlardır (Silici ve diğerleri, 2005).

Arılar propolisi, bal mumu ile harmanlayarak petek oluşumunda, kovan kenarlarındaki boşluk ve çatlakların onarılmasında, arı barınaklarının girişinin daraltılmasında kullanırlar. Propolis aynı zamanda virüs, mantar ve bakterilerle savaşmakta etkilidir ve kovandaki arıları bazı enfeksiyonlara karşı koruyucu olarak görev yapmaktadır (Castaldo ve Capasso ,2002).

Propolisin rengi, niteliği, kokusu ve tıbbi karakteristikleri bitki kaynağına ve mevsime bağlı olarak değişebilmektedir. Sarımsı yeşilden, kırmızı ve koyu kahverengiye kadar değişik renklerde olabilir. Fiziksel yapısı katı olup, soğukta kırılğan, sıcakta yapışkan özelliğe sahiptir. Bitki kaynağına göre propolisin kimyasal yapısı değişiklik gösterir (Burdock , 1998).

Bugüne kadar propolisde 180'den fazla bileşik belirlenmiştir ve bunların çoğunluğunu polifenoller oluşturmaktadır. Propolisi oluşturan bileşikler polifenoller, fenolik asitler (kafeik asit, sinamik asit) ve esterleri, fenolik aldehitler, ketonlar; akasetin, krisin, luteolin, kamferol, kateşin, pinosembrin, pinobanksin, naringenin, galangin, apigenin, mirisetin, kuarsetin gibi flavonoidler, uçucu yağlar ve (%10) aromatik asitler, (%30) mumlar, reçineler, esansiyel yağlar ile magnezyum, nikel, kalsiyum, demir ve çinko gibi esansiyel elementlerin zengin kaynağı olan polendir. Çin ve Brezilya propolislerinden 3,5- difenil-4-hidroksinamik asit ve oktakonasol gibi farklı bileşikler izole edilmiştir (Castaldo ve Capasso,2002). Ayrıca propoliste süksinik dehidrojenaz, glikoz-6-fosfataz, asit fosfataz ve adozin trifosfataz enzimleri bulunur. Bu enzimler hücrelerin biyokimyasal döngülerini gerçekleştirirler (Kuşümler ve diğerleri, 2021).

Arıcılar arasında preboli yada arı zamlı olarakta bilinen propolisin tıbbi özellikleri çok eski zamanlardan beri bilinmektedir ve insanlar tarafından çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. Değişik çalışmalarla propolis etanolik özütünün antibakteriyel, antifungal, antiviral, antiprotozoal, antienflamatuvar, antikarsinojenik, antioksidan ve lokal-anestezik özellikler gösterdiği tespit edilmiştir (Burdock ,1998).

Propolisin antimikrobiyal aktivitesinin çoğunlukla pinobanksin, galangin ve pinosembrin vb flavonoidlere dayandırıldığı gözlenmiştir. Propolisin bileşiminde bulunan pinosembrin maddesi antifungal aktiviteye sahip olduğu, diterpenik asitlerin antibakteriyel ve tümör hücrelerine sitotoksik etkisi bulunmuştur. Fenetil esterlerinden kafeik asit tümör hücreleri için sitotoksik olduğu tespit edilmiştir (Castaldo ve Capasso ,2002).

Değişik türdeki propolislerin biyolojik etkinlikleri ile ilgili birçok farklı araştırma yapılmıştır. Propolisinin Brezilya'daki türü antibakteriyel, tümör hücreleri için sitotoksik etkisi olduğu tespit edilmiştir. Bulgaristan kökenli propolisinin ise antifungal ve *Helicobacter pylori*'nin çoğalmasını engelleyici etkisi belirlenmiştir (Murad ve diğerleri, 2002; Boyanova ve diğerleri, 2003). Propolisin bu özellikleri nedeniyle ticari olarak krem, merhem, losyon, jel, sprej, şurup, tablet, şampuan, diş macunu, kapsül şeklinde önemli bir pazarı da bulunmaktadır (Castaldo ve Capasso ,2002).

## 1.2 Araştırmanın Amacı

Propolisin etanolik özütünün antiviral, antibakteriyel, antifungal, antiprotozoal, antienflamatuvar, antikarsinojenik, antioksidan, lokal-anestezik özellikler gösterdiği daha önce yapılmış çalışmalarda gösterilmiştir. Bu nedenle bu çalışmada deneysel olarak periodontit modeli oluşturularak propolisin etanolik özütünü içeren mukoadesiv jelin etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. 50 ve 100 mg propolis içeren mukoadesiv jellerle tedavi edilen ve tedavi uygulanmayan gruplardan tedavi sonrası alınacak kanlar ile proenflamatuvar sitokinlerden IL-1, IL-6 ve TNF- $\alpha$  düzeyi ölçümleri ile akut faz proteinlerinden CRP ölçümleri yapılmış aynı zamanda tedavi uygulanmayan ve tedavi gruplarından diş eti örnekleri alınarak histopatolojik olarak değerlendirilmiş ve elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilerek diş eti hastalıklarından periodontitlerin tedavisinde propolisin tedavi edici etkinliğinin ortaya konması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Propolis

Propolis, Yunanca kökenli kelimedir. Eski Yunan'da pro (korumak) ve polis (şehir) anlamına gelir. Propolisin tam anlamı şehrin (kovanın) korunmasıdır. Propolis ilk kez Yunanlılar tarafından bulunmuş doğal bir antibiyotik olarak kullanılmıştır. Günümüzde antifungal, antibakteriyel, antiviral özellikleri yanında antitümör, antiinflamatuvar ve lokal anestetik gibi biyolojik aktiviteleri medikal alanda ve sağlıklı besin üretimi alanında kullanımının artmasına neden olmuştur. Propolis, bal arıları tarafından bitkilerin salgı ve tomurcuklarından toplandıktan sonra balmumu ile karıştırılarak, birçok amaca yönelik olarak kullanılan, reçinemsî bir doğal üründür (Popova ve diğerleri, 2005).



**Resim 1.** Propolis örneği ( <https://www.anzerbali.com.tr/propolis-damla>)

Arı, propolis toplamayı bitkinin tomurcuklu kısmına konarak gerçekleştirir. Arka bacakları ve üst çenesini kullanarak bir miktar yapışkan sızıntıyı bitkiden kopartır. Bu koparılan kısım ağızda nemlendirilip ve farklı enzimler eklenerek pelet haline getirilir. Propolis, işçi arıların arka bacaklarındaki polen sepetlerinde topladıkları bitki salgılarını bir miktar bal mumu karıştırılması ile oluşan bir pelettir. Pelet ön ve orta ayakları yardımı ile arka ayaklardaki polen sepetçisine konur. Polen sepetçisi yeteri kadar propolis ile dolduğunda kovana taşınmaya başlanır. İşçi arılar her defasında ortalama 10 mg propolisi kovana taşıyabilir (Hepburn ve diğerleri, 1984). Arılar çok erken saatlerde propolis toplamazlar.



Öğlen saatlerine yakın saat 10 gibi toplama işi başlar. Öğleye doğru sıcaklık derecesi arttıkça propolis toplama çalışmaları hız kazanır (Koo ve diğerleri, 2000). Sıcaklık derecesi propolisin toplanmasında değerli bir görev sağlar. Artan sıcaklık dereceleri propolisi yumuşattığından toplanması ve taşınması kolaylaşır (Ghisalberti ve diğerleri, 1979).

## 2.2. Propolisin Fiziksel Özellikleri

Propolis bal mumu ve bitki öz suyundan oluşan kokulu, acımsı tatta doğal bir üründür. Propolis, işçi bal arılarının bitkilerin filizlerinden ve tomurcuklarından toplanan; bitki reçineleri, bitki salgıları ve arıların tükürükten salgıladıkları enzimler ile biyokimyasal değişikliğe uğramaktadırlar. Balmumuyla karıştırdıkları propolis bazı bitkilere özgü olan proteinleri de bünyesinde bulundurmaktadır. Propolis renk olarak bitkinin yapısına, kaynağına, bölgeye, mevsime ve koloniye bağlı olarak sarı ve yeşilden başlayarak koyu kahverengine kadar değişen renktedir (Resim 1.) Normal oda şartlarında propolis yarı katı halde bulunur, organik yapışkan bir maddedir. Ayrıca arılar propolisi kovanların hasar görmüş kısımlarının tamirinde, kovanın dış ortamdan yalıtılmasında, giriş deliklerinin daraltılmasında, kovanın içine giren böceklerin ve zarar veren maddelerin mumyalanarak etkisiz hale getirilmesinde kullanmaktadır (Silici, 2003; Popova ve diğerleri, 2005).

Propolis; kloroform, eter, aseton ve diğer organik çözücülerde kısmen, %95'lik alkolde ise büyük bir ölçüde erimekte ve suda ise çok az çözünmektedir (Bankova ve diğerleri, 2000). Antibakteriyel komponentler genellikle %70 lik etil alkolde çözünür. Oda şartlarında 15-25°C arasında mum kıvamında yumuşak bir yapı gösterir. Soğukta ise katılaşmaktadır. Sıcaklık arttığında yumuşayıp yapışkan bir duruma geçer, 80°C de ise kısmen erimekte (Ziaran ve diğerleri, 2005).



**Resim 2.** Kovan içinden propolis örneği (Kun-Suk ve diğerleri, 1997)

### 2.3. Propolisin Kimyasal Yapısı ve Özellikleri

Propolis, bitkisel kökeni ve coğrafik olarak arı türü ve ekolojik koşullardan dolayı değişik kompleks bir kimyasal birleşim gösteren, doğal ve toksik olmayan bir arı ürünüdür (Silici, 2003).

Dünyanın bazı farklı bölgelerinden toplanan propolis örnekleri yapısında 180'nin üzerinde fazla bileşik bulundurmaktadır. Propolis; polifenoidler (fenolik asitler, flavonoid aglikonlar), steroidler ve onların esterleri, ketonlar, alkoller, aminoasitler, kumarinler, fenolik aldehitler ve inorganik bileşikler gibi çok çeşitli kimyasal bileşiği yapısında bulundurmaktadır (Bankova ve diğerleri, 2000).

Ham propolisin bileşimi genellikle, %5 polen ve %5 diğer organik maddeler, %10 esansiyel ve aromatik yağlar, %30 mum, %45-50 reçine maddesinden oluşmaktadır (Burdock ,1998).

**Tablo 1.** Propolisin kimyasal yapısı ( Burdock ,1998).

BİLEŞİK SINIFI	BİLEŞEN GRUPLARI	MİKTARI
Reçine	Falavonoidler, fenolik asitler ve esterleri	%45-50
Mumlar ve yağ asitleri	Bal mumu ve bitkisel orijin	%30
Esansiyel yağlar	Uçucular	%10
Polen	Proteinler (16 serbest aminoasit > %1)	%5
Diğer organik ve minarel maddeler	14 iz mineral çoğunlukla demir ve çinko, ketonlar, kinonlar, steroidler, benzoik asitler, vitamin ve şekerler	%5

Propolisin içinde titan, bakır, kurşun, nikel, kobalt, vanadyum, mangan, çinko, barit, krom, kalay, kalsiyum, fosfor, potasyum, kükürt, sodyum, klor, demir, magnezyum, molibden, alüminyum, silisyum, civa, selen, zirkonyum, flor ve antimon gibi elementler bulunur. Çinko ve mangan miktarlarının diğer elementlere göre daha fazla miktarlarda olduğu görülmüş olup propoliste vitamin düzeyleri çok azdır. B<sub>6</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>1</sub>, C, E, nikotinik ve

pantotenik asit vitaminlerini içermektedir. Propolis, serin, glikol, asparajin ve glutamik asitleri, alanin, triptofan, fenilalanin, lösin, sistin, lizin, histidin, arginin, prolin, treonin olmak üzere 8-17 kadar amino asit ihtiva etmektedir (Pellati ve diğerleri, 2013).

Propolis bileşim oranları; propolisin kaynağına, çeşidine, toplanma yeri ve zamanına bağlıdır (Silici, 2003).Yapılan birçok incelemelerin ışığında propolis numunelerinde tespit edilen flavon ve flavonoidler; pinosembrin, pinobanksin, organik ve yağ asitleri, ferulik asit, kafeik asit, 9-hekzadekanoik asit, sinamik asit, terpenler, ketonlar, lignanlar, hidrokarbonlu bileşiklerdir (Bankova ve diğerleri, 2000).

Polifenolik bileşiklerden olan flavonoidlerin propolisin temel bileşenleri olduğu söylenmiştir. Bitkiye bağlı olarak propolisin flavonoid yapısı bazı farklılıklar gösterebilmektedir (Marcucci ve diğerleri, 2001; Pellati ve diğerleri, 2013).

#### **2.4. Propolisin Biyokimyasal Yapısı ve Özellikleri**

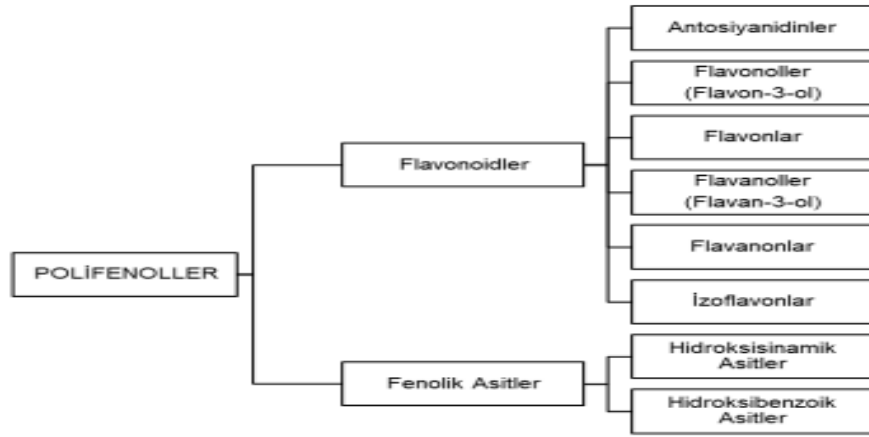
Propolis, geçmiş zamanlardan bu güne kadar halk tarafından kullanılmakla birlikte son dönemlerde antifungal, antitümoral, antibakteriyel ve diğer faydalı biyolojik etkileri üzerine birçok sayıda araştırmalar yapılmıştır (Sorkun ve diğerleri, 2001).

Farklı çalışmalarda propolisin metanol, etanol, eter, su ve yağ ekstratları hazırlanmıştır. Farklı türe sahip olan propolis numunelerinin biyolojik aktiviteleriyle ilgili bilimsel araştırmalar yapılmış olup Brezilya propolisinin antibakteriyel, sitostatik, serbest radikal koruyucu aktivitesi belirlenmiştir. Bugüne kadar propolisin antikarsinojenik, antibakteriyel, antioksidan, antifungal, antiviral, doku yenileyici, yara iyileştirici ve anestezik etkileri gibi birçok biyolojik aktivitesi belirlenmiştir (Kutluca ve diğerleri, 2006; Eroğlu ve diğerleri, 2004). Ayrıca yapılan çalışmalarda, propolisin antimikrobiyal özellikler taşıdığı ve insan sağlığı için değerli olan mineraller, vitaminler ve elementler içerdiği gösterilmiştir (Şahinler, 2000).

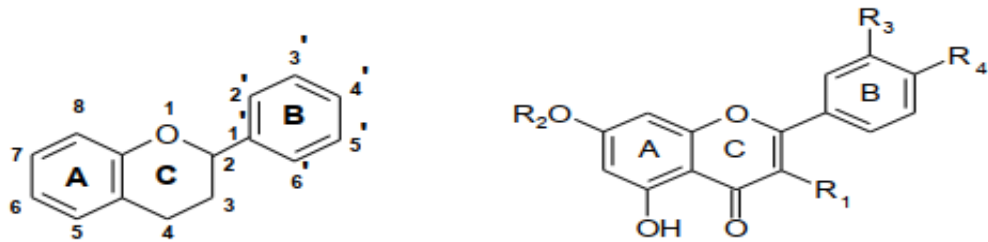
Aromatik zincir halkasında bir veya daha çok sayıda hidroksil grubu içeren bileşikler polifenoller olarak adlandırılmaktadır (Çimen ve diğerleri, 2020). Propolisin başta polifenoller olmak üzere 180'den fazla bileşeni vardır. Ana polifenoller, fenolik asitler (kafeikasit, sinami kasit ve esterleri, fenolik aldehitler ve ketonlar ile beraber pinosembrin, pinobanksin, akasetin, krisin, rutin, kateşin, naringenin, galangin, luteolin, kamferol, apigenin, mirisetin, kuarsetin gibi flavonoidlerdir (Castaldo ve Capasso ,2002). Polifenollerin iskeletinde yer alan fenol halkasının sayısına göre flavonoidler, tanenler, kumarinler, fenolik

asitler, lignanlar ve stilbenler şeklinde sınıflandırılır (D Archivio ve diğerleri, 2019). Fenolik bileşikler hububat, çay, meyve, sebze, şarap ve kahve gibi gıdalarda çeşitli miktar ve nitelikte bulunur. Bitkiler büyüme ve çoğalma için polifenollere ihtiyaç duymaktadır. Yaklaşık 8000'in üzerinde çeşidi olan polifenoller, bitkileri ultraviyole (UV) ışınlar, patojenlere karşı korur (Pandey ve diğerleri, 2009 ).

Kimyasal olarak, flavonoidler, 2 fenil halkası (A ve B) ve 1 heterosiklik halkadan (C) oluşan 15 karbonlu bir iskeletin genel yapısına sahiptir (Mülazımoğlu, 2008).



Şekil 1. Polifenollerin sınıflandırılması(Del Rio ve diğerleri, 2019).

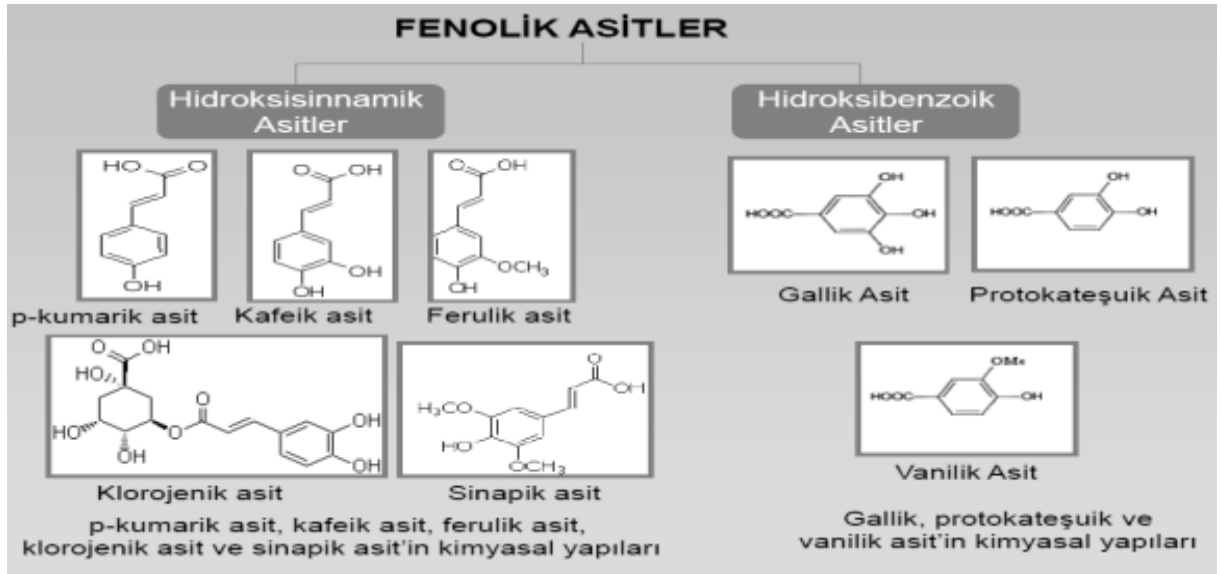


Şekil 2. Flavonoidlerin temel yapısı (a) ve bazı substituentleri (b) (Heim ve diğerleri, 2020; Fabre ve diğerleri, 2019).

**Tablo 2.** Flavonoidlerin sınıflandırılması, çeşidi ve gıda kaynağı (Arts ve diğerleri, 1999 ; Wang ve diğerleri, 2009).

SINIF	FLAVANOİD	GIDA KAYNAĞI
Flavanol	Kateşin,Epikateşin,Epigallokateşin	Meyve çeşitleri,çay,çikolata
Flavon	Chrysin,epigenin,luteolin	Domates,kırmızı biber
Flavonol	Kaempferol,guercetin,myricetin	Soğan,zeytin yağı,greyfurt
Flavanon	Naringin,naringenin,taxifolin	Turunçgiller,limon
Isoflavone	Geniştin,daidzin	Soya fasulyesi
Anthocyanidin	Apigenidin,cyanidin	Kiraz,çilek,dutsu meyveler

Flavonoidler yapılarına göre sınıflandırıldığında flavononlar, flavonlar, flavonoller olmak üzere 3 sınıfa ayrılırlar. Bu bileşikler biyolojik etkinlikten sorumlu olabildikleri gibi aynı zamanda organoleptik özellikleri olan renk, tat ve kokudanda sorumludurlar (Heim ve diğerleri, 2001; Fabre ve diğerleri, 2002)



**Şekil 3.** Fenolik asitler (Heim ve diğerleri, 2001; Fabre ve diğerleri, 2002).

Flavonoidlerin bakterilere karşı etkilerinde farklılıklar olduğu görülmüş; flavonoidler bakımından zengin olan bu ürünlerin antibakteriyel aktivitelerinin gram pozitif bakterilerde gram negatif bakterilerden daha fazla olduğu belirlenmiştir. Fenolik bileşikler (fenil asetik asit ve fenilpropanoik asit) bakteri metabolizmasında selüloz yıkımını artıran bir etkiye sahiptir. (Seven ve diğerleri, 2007).

Propolisin etanol ekstraktı, karaciğerdeki kanserli hücrelerin gelişmesini önler ve letal etkiyi sağlayan maddeler, propolisten izole edilen klerodan diterpenoid, kafeik asit ve kuersetindir. Propolisten izole edilen klerodan diterpenoidler, tümör hücrelerine karşı seçici ve öldürücü bir etki gösterir. Propolisin aynı zamanda yumurtalık kanseri hücrelerini öldürdüğü ve hücre bölünmesini durdurmada etkili olup ayrıca cilt, meme, böbrek ve kolon kanseri hücreleri üzerinde de etkili olduğu tespit edilmiş; bu etkileri oluşturan bileşenin kafeik asit ve fenetil ester olduğu belirlenmiştir(Orsolice ve Basic,2003). Propolisten izole edilen Artepillin C'nin, insan gırtlak, mide ve kolon kanseri hücreleri üzerinde hücre öldürücü bir etkisi olduğu belirtilmiştir (Orsolice ve Basic, 2003). Kafeik asit esterlerinin tümör oluşumunu kimyasal olarak önlediği görülmüştür. Bu etki, kanserli hücrelerin gelişimini sağlayan genler üzerindeki seçici bir toksik etkiyle gerçekleşmektedir (Orsolice ve Basic, 2003).

## **2.5. Propolisin Farmakolojik Özellikleri**

Farmakolojik olarak propolisin önemi, gram pozitif (*Enterococcus*, *Stafilokok* ve *Streptokoklar*) ve gram negatif bakteriler (*E.coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* ve *Pseudomonas aeruginosa*), *Helicobacter pylori*, protozoa (*Trypanosoma cruzi*), mantar (*Candida albicans*) ve virüslere (*HIV*, *Herpes virüsü* ve *influenza virüsleri*) karşı antimikrobiyal etki göstermesidir. Propolisin antimikrobiyal aktivitesi kullanılan çözücülerden etkilenmektedir. Örneğin etanol ve propilen glikol solüsyonları mayalara karşı iyi bir inhibitör etki gösterebilmektedir (Castaldo ve Capasso ,2002).

Farmakolojik olarak propolis içeren kremin herpetik lezyonları iyileştirdiği ve bölgesel semptomları azalttığı bildirilmiştir (Vynograd ve diğerleri, 2000). Propolis içeren kremler herpes enfeksiyonlarında, topikal tedavide, diş hekimliği, dermatoloji ve kulak burun boğaz enfeksiyonlarında kullanılmaktadır (Castaldo ve Capasso ,2002).

## **2.6. Propolisin Antioksidan Özellikleri**

Hücrede metabolizma sırasında serbest oksijen radikalleri oluşur. Membran lipitlerinin oksidasyonu lipit peroksidasyonuna ve onların sebep olduğu hasarlara neden olurlar. Katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz (GPx) gibi enzimler savunma mekanizması esnasında üretilen enzimlerdir. Bilhassa savunma mekanizmasında bu enzimlerin yetersiz olması yada enzim aktivitelerinde meydana gelen azalmalar, hücre bileşenlerinde onarılamayacak hasarlara sebep olurlar (Özkul ve diğerleri, 2005). Savunmada enzimlerin koruyucu etkisine ilave olarak, besinler ile alınan C vitamini, E vitamini, flavanoidler,

karotenoidler ve diğerk polifenollerden antioksidanların tüketimi de büyük önem taşımaktadır. Serbest radikaller, hücrenel olarak yaşlanma, kardiyovasküler hastalıklar, artrit, diyabet, kanser, parkinson, alzheimer vb. hastalıklara neden olurlar (Mohammadzadeh ve diğerkleri, 2007).

Flavanoidler propolisin temel bileşendir. Bunlar serbest radikalleri ortamdan uzaklaştıran bileşikler olma özelliğı taşımaktalar. Bazı flavanoidler doymamış yağ asitlerinin peroksi radikalleri ile reaksiyona girerek lipit peroksidasyonun başlangıç aşamasında etkili olurlar. Flavanoidler, serbest radikalleri ortamdan temizlemeleri gibi işlevlerinin yanında siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimlerini inhibe ederek antioksidan etki göstermektedir (Türkez ve diğerkleri, 2010). Flavonoidler propolisin ana bileşeni olup antioksidan aktivitesi sayesinde serbest radikalleri temizlemede etki göstermektedirler. Antioksidan etkileri peroksit iyonları, singlet oksijen, hidrojen peroksit ve diğerk lipid peroksit radikallerini ortamdan uzaklaştırabilme yeteneklerine bağlanmıştır. Bu yeteneklerinin ön plana çıkmasında yapılarında bulunan OH gruplarının sayısı önem arz etmektedir (Cao ve ark 1997).

Propolisin ana bileşenlerinden biride kafeik asit fenetil esterdir (CAPE). CAPE güçlü bir antioksidan özelliğı sahiptir. CAPE lipooksijenaz, siklooksijenaz-1, siklooksijenaz-2 (COX-1, COX-2), glutatyon S-transferaz ve Ksantin oksidaz gibi çeşitli enzim aktivitelerini önleme özelliğı gösterir. Aynı zamanda, nükleer transkripsiyon faktörü-kB (NF-kB) aktivasyonunun güçlü ve spesifik bir inhibitörüdür. Propolis oksidatif stres ürünlerinin artışını antioksidan aktivitesi sayesinde azaltabilmektedir. Ayrıca süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz ve katalaz (CAT) enzimlerinin etkinliğini arttırmaktadır. Yapılan çalışmalarda propolisin oksidatif stres göstergesi olan malondialdehit konsantrasyonunu azalttığı gözlenmiştir (Park ve diğerkleri, 2002).

Propolis ile yapılan çalışmalarda, propolisin lipit peroksidasyonunu önlediğı ve serbest radikal oluşumunu indirdiğı belirtilmiştir ( Kanbur ve ark. 2009).

## **2.7. Propolisin Tıbbi ve Sağlık Alanındaki Kullanımı**

Modern tıpta sentetik ilaçlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu durum bilinen doğal ilaçların önemini azaltmıştır. Son yıllarda kullanılan sentetik ilaçların yan etkileri ve bazı hastalık etmenlerinin bu ilaçlara dirençli bir hale gelmeleri sonucunda insanların tekrar doğal ilaçları kullanma eğilimleri artmıştır. Doğal ürünlerin en önemlisi olan propolis farmakolojik özellikleriyle etkili ve çabuk bir şekilde yarar sağladığı için çeşitli şekillerde kullanımı

yaygınlaşmıştır. Propolis ürünleri tablet, kapsül, pastil ve granül gibi çeşitli formlarda bulunmaktadır (Arslan ve diğerleri, 2010).



**Resim 3.** Farklı propolis preparatları (Kaya ve diğerleri, 2011).

Propolis ham olarak işlem görmemiş şekilde ağızda yumuşatılarak çiğnenebilir yada doğrudan yutularak kullanılabilir. İnsanların günlük 10 gr kadar propolisi oral olarak alabileceği belirtilmiştir. Oral olarak alınan propolis, sindirim sisteminde hızlı olmayan bir şekilde eriyerek kana geçer, diş ağrılarında ve sindirim sistemi metabolik düzenlenmesinde kullanılabilir (İsla ve diğerleri, 2001).

### **2.7.1. Propolisin Kan Şekeri Üzerinde Düzenleyici Etkisi**

Bazı araştırmalara göre propolisin yüksek açlık kan şekeri düzeyini azalttığı ve glukoz seviyesini düzenleyici etki gösterdiği bildirilmiştir (Köksal, B. 2011). Bir başka çalışmada glikoz tüketen ratlar üzerinde propolis tedavisinin plazma insülin seviyesini anlamlı düzeyde azalttığı, ancak kan glukozu ve total kolesterol seviyesinde herhangi bir değişikliğe neden olmadığı görülmüştür. Araştırmada elde edilen bulgular ile propolisin insülin direnci gelişimini engelleyebileceği bildirilmiştir (Lee ve diğerleri, 2004).

2010 yılında yapılan diğer bir çalışmada propolisin antidiyabetik etkisinin Hepg-2 geninin glukoneojenik enzim olan glukoz-6-fosfataz ekspresyonu ile aktivitesi mekanizmalar üzerinden gözlemlenmiştir (Cao ve ark 1997). Propolisin glukoz-6-fosfatazın ekspresyonunu ve enzimatik aktivitesini önemli ölçüde düşürdüğü ve Tip-2 diyabetin tedavisi için potansiyel bir anti-diyabetik ajan olarak kullanılabilirliği söylenmiştir. Brezilya'da ve Çin'de diyabetik farelerde yapılan araştırmalarda oral olarak alınan propolis takviyesinin yüksek kan şekeri değerlerinin düzenlenmesine destek olduğu gözlemlenmiştir (Cho ve diğerleri, 2004). Benzer bir



araştırmada propolis ile tedavi edilen ratlarda, tedavi edilmemiş diyabetik ratlara kıyasla HbA1c seviyelerinde bir azalma bildirilmiştir. Propolis verilen ratlarda kan yağ düzey ölçümünde diyabetik ratlarda dislipidemi belirtileri görölmüş, ancak propolis ile tedavinin etkisinin kolesterol seviyesini düşürdüğü gözlenmiştir (Fuliang ve diğerleri, 2005).

### **2.7.2. Propolisin Nöroprotektif Etkisi**

Sinir sistemi organlarından beyin dokusunda gözlenen oksidatif stres akut ve kronik yaralanmalara neden olur ve nöronal hasarın patogenezinde önemli bir rol oynar. Propolis bileşenleri antioksidan enzim aktivitelerini artırarak, yağ peroksidasyonun oluşumunu engeller. Propolis serbest radikal oluşumunu önleyerek, radyasyona maruz kalan beyin dokusunda oksidatif stresi önlediği gözlenmiştir (Noori ve diğerleri, 2013).

Klinik çalışmalarda fareler üzerinde yapılan bir çalışmada propolis bileşenlerinden olan pinosembriin maddesinin fare beynini hem in vivo hem de in vitro iskemi reperfüzyon hasarında oksidasyona ve apoptozise karşı koruduğu bildirilmiştir (Gao ve diğerleri, 2014).

### **2.7.3. Propolisin Yara Tedavisi Üzerinde Etkisi**

Propolis toksik olmayan doğal bir üründür. Bu bileşiğe karşı bazı alerji ve dermatit vakaları esas olarak arıcılık işi ile ilgilenenler arasında tanımlanmıştır. Yara iyileşmesinde önemli bir faktör biyofilm oluşumudur. Bir antimikrobiyal ajan olan propolis, biyofilm oluşumunu azaltabilir ve hızlandırılmış iyileşme süreçlerini oluşturabilir. Çeşitli yara modelleri üzerinde yapılan çalışmaların çoğu, propolisin deneysel yara iyileşmesi üzerindeki yararlı rollerini öne sürmüştür. Klinik deney çalışmalarında da onaylanmıştır (Oryan ve diğerleri, 2020). Propolis, biyolojik özellikleri ve yara iyileşmesi üzerindeki etkisi ile ilgili araştırmalar sonucunda propolis merhemleri iyileşme sürecini etkili şekilde hızlandırıp iyileşme fizyolojisini iyileştirebileceği bildirilmiştir (Rojczyk ve diğerleri, 2020). Bu nedenle gelecekteki klinik çalışmalarda yara tedavisi için umut verici bir ilaç olarak önerilebilir (Rojczyk ve diğerleri, 2020).

#### **2.7.4. Propolisin Bağışıklık Sistemi Üzerine Etkisi**

Propolisin yapısında CAPE denen bileşimin bulunması sayesinde antienflamatuvar olarak prostaglandinlerin oluşumunu inhibe eder ve timus bezini aktive eder. Fagositik aktiviteyi tetikleyerek savunma sistemine yardımcı olur. Hücresel bağışıklığı uyarır ve dokularda iyileşmeyi sağlama özelliği vardır. Akut ve kronik durumlarda antienflamatuvar etki oluşturur (Aldemir ve diğerleri, 2019)

#### **2.7.5. Propolisin Bağırsak Sağlığı Üzerine Etkisi**

Propoliste bulunan temel bileşen olan polifenoller bağırsak florasındaki patojenik bakteri oluşumunu engeller (Alkhalidy ve diğerleri, 2019). Temel bileşeni polifenoller olan propolis bağırsak duvarındaki patojen bakterilerin adezyonunu önler ve doğal bağışıklık sistemi hücrelerinden doğal öldürücü (NK) hücrelerin aktivitesini artırır (Haddadin ve diğerleri, 2008).

#### **2.7.6. Propolisin Yan Etkisi**

Arılar için yapılan araştırmalarda propolisin detoksifikasyonu indükleyici ve arı mortalitesini azalttığına ilişkin sonuçlar izlenmiştir. Bazı akciğer hastaları üzerinde yapılan propolis öncülü çalışmalarında olumlu etkiler gözlemlenirken, kişi bazında bakıldığında propolisin nefes darlığı ve kaşıntıya da sebep olabildiğine dair sonuçlar mevcuttur (Khayyal ve diğerleri, 2005).

Klinik çalışmaların ortak sonucunda propolisin yan etkisinin günlük 15 g üzerinde alımlarda gözlemlendiği sonucu bildirilmiştir. Damla şeklinde kullanılan propoliste günde 20 damlaya kadar üç kez alımında 7 gün içinde bazı hastalarda orta şiddette mide bulantısı ve karın üst bölgede ağrı tespit edilmiştir (Barbaric ve diğerleri, 2011).

#### **2.7.7. Propolisin Toksik Etkisi**

Propolisin toksik etkisini açıklayan araştırmalar oldukça yetersizdir. Ancak fareler üzerinde yapılan deneyler sonucunda toksik dozu 2-7,3 g/kg olarak belirlenmiştir.Yapılan çalışma sonucunda insanlarda toksik etkisinin bulunmadığı tesbit edilmiştir. Güvenilir doz

olarak tanımlanan günlük 70 mg/kg olacak şekilde kullanılmasının uygun olabileceği bulunmuştur (Abd-El-Rhan ve A.M., 2009).

### **2.7.8. Propolisin Tüketim Dozu**

Genel olarak gözlemlenen sağlıklı insanlarda güvenilir dozun 70 mg/kg olduğu rapor edilmiştir. Fare deneylerinde ortalama öldürücü dozun ise 7,34 g/kg (LD 50) olduğu rapor edilmiştir (Kanbur ve diğerleri, 2009).

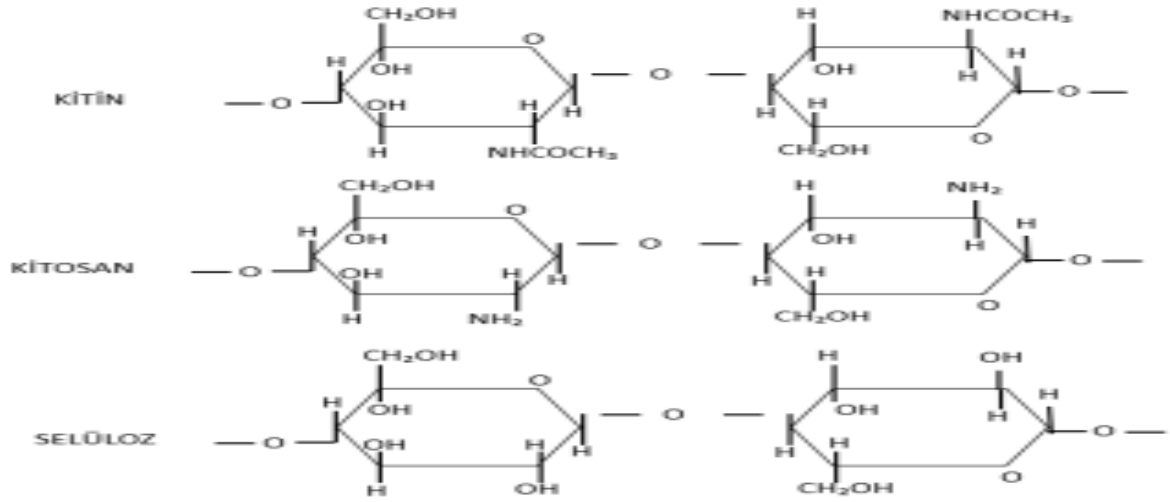
### **2.7.9. Kitosan**

Dünyada selülozdan sonra çok rastlanan polisakkarit kitindir. Kitinin türevlerinden biri olan kitosandır. Kitosan kitinin bazik ortamda kısmen veya tamamen deasetilasyonu (organik bir bileşikten asetil fonksiyonel grubunun çıkarılması) ile oluşan bir biyopolimerdir (Kumar, 2015).

Kitosanın enzimatik hidrolizinden ise kitosan oligosakkaritleri oluşmaktadır. Kitosan yengeç, mantar, kerevit, karides gibi dış iskeleti kitin içeren birçok kaynaktan çok miktarda elde edilir. Kitosan canlılar için toksik değildir. Biyolojik olarak rahat parçalanması ve biyolojik uyum gibi özellikleri sayesinde kitosan kitin dahil diğer biyopolimerlerden daha avantajlıdır (Dutta ve ark, 2002). Bu sebeple kitosan medikal, gıda, ziraat, eczacılık, kozmetik ve dokumacılık gibi pek çok endüstriyel alanda kullanılır. Kitosan doğal, güvenli ve hammaddesi ucuz bir biyopolimerdir (Demir ve Seventekin, 2009).

Kitosan antibakteriyel, antiviral ve antifungal özelliğe sahiptir. Kitosan doğal bağışıklık sistemini etkileyerek hastalıkların kontrolü ve yayılmalarının azaltılmasında rol oynar. (Vasconcelos, 2014).

Kitin ve kitosan biyokimyasal yapı olarak selüloza oldukça benzemektedir. Kitinde asetamid ve kitosanda ise amin grubu bağlı iken, selülozun 2 karbon atomunda hidroksil grubu bağlıdır (Koç ve Özkan, 2009).



Şekil 4. Kitosan kimyasal yapı (Koç ve Özkan, 2009).

#### Kitinden dört aşamada kitosan elde edilmektedir;

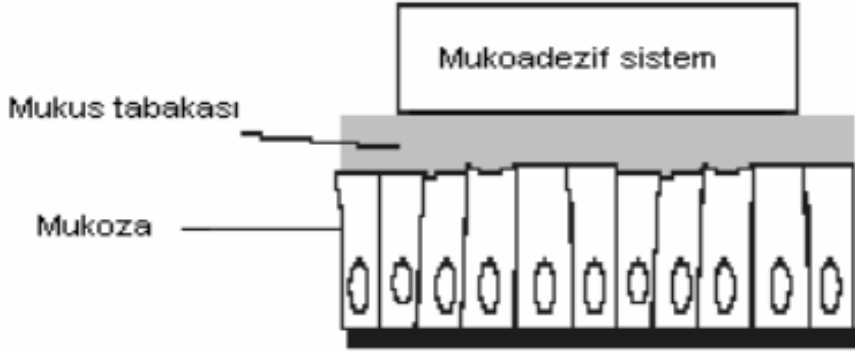
- (1) deproteinizasyon
- (2) demineralizasyon
- (3) dekolorizasyon (renksizleştirme)
- (4) deasetilizasyon (No ve ark, 2002).

#### 2.7.10. Mukoadezyon

Günümüzde yapılan çalışmalarda biyoadeziv polimerler olarak kitosan sayılabilir. Biyoadeziv polimer olarak kitosan mukoadesiv formülasyonlarında fazla miktarda çalışılan bir polimerdir. Kitosan monosakkaritin glikozit bağıyla birleşmesiyle oluşan kimyasal maddelerdir. Kitosan biyolojik olarak bir katyonik polisakkarittir. Pozitif yüklü oluşu hücre yüzeyi ve mukus gibi negatif yüklü materyallere çok güçlü bağlanabilme özelliğini verir. Kitosanın dokularda absorpsiyonu arttırdığı için hayvan deneylerinde çalışmaları kanıtlanmıştır (Dodane ve ark, 1999). Kitosan bir seyreltici olarak kullanılmasına rağmen, aynı zamanda bir bağlayıcı, kaydırıcı veya güçlü bir dağıtıcı olarakta kullanılmaktadır. Kitosanın mukoadesif özellikleri ağız boşluğunda propolis, ilaç ve diğer maddelerin lokal iletiminde kolaylık sağlar (Singh, 2011).

Mukoadezyon sistemin bir katmanı biyolojik kökenli olma şartıyla iki katman, ara katman kuvvetlerinin desteğiyle uzun sürelerce birbirine yapışmasına mukoadesyon denir. Mukoadezyon lokal, bölgesel veya sistemik olarak bileşiklerin veya ilacın canlı üzerinde

meydana getirdiği tesir etkisinin uzun süreli bir şekilde oluşmasını sağlar. Mukoadezyon, farklı uygulama yöntemleri vasıtasıyla çeşitli bileşiklerin verilmesi için büyük kolaylıklar sağlar. Mukoadezif sistemde elektrostatik etkileşim, hidrofobik etkileşimler, Van der Waals güçleri ve hidrojen bağları gibi fiziksel ve kimyasal etkileşimler oluşur (Singh ve ark, 2001).



Şekil 5: Mukoadezif bağın üç bileşeni (Smart, 2005).

## 2.8. Diş Hastalıkları

### 2.8.1. Diş Çürüğü

Geçmişten günümüze kadar var olan diş çürüğü bir ağız hastalığı ve ağız konforunun bozulmasıdır. Ağızdan alınan yiyecekler kişi ile ağız içi florası arasındaki etkileşim sonucu uzun sürede oluşan diş dokusunun mineral kaybına sebep olur. Diş çürüğü dünyada en fazla görülen hastalıkların arasında yer almaktadır (Suddick ve diğerleri, 1990).

Diş çürüğü 1850'den önce oldukça nadir görülmesine rağmen rafine gıdaların tüketilmesi ile diş çürüğü sıklığı net bir şekilde artmıştır. Yapılan çalışmalarda *S. mutans* sukrozu fermente ederek belirgin miktarda asidi ortama saldığı ayrıca alınan yiyecek kaynaklarını sindirerek oluşturdukları metabolik artıklar ile birlikte diş çürüğünü oluşturmaktadır (Nikiforuk ,1985)

### 2.8.2. Gingivitis

Gingivitis plak kaynaklı gingiva (diş eti) iltihabı olarak adlandırılan, diş yüzeylerine yapışan bakteriyel biyofilmlere (plak) yanıtdır. Plak ile gingivanın etkileşmesi sonucu gingiva dokusunun yangısıdır. Dental plak gingivitisin başlamasında ve ilerlemesinde en büyük etkindir. Gingivitis başladığında, gingivada yangı bulguları olan kızarıklık ve şişlik görülür.

Çoğu çalışma sonucuna göre bakterilerin alanda kolonize olması sonucunda bakteriyel enzimler ve metabolizma son atıkların etkisi ile birleşim epitelinin geçirgenliği artmakta ve başlangıç akut lezyon görülmektedir. Gelişen lezyon ödem oluşumu, lökosit toplanması ve birleşim epiteli yanındaki bağ dokusu yıkımı sağlar. Gingivayı ve dişi destekleyen dokuları (periodontal ligament ve alveolar kemik) etkileyen bir periodontal hastalıktır (Gendron ve diğerleri, 2000).

Gingiva oluşu seviyesinde veya hemen altında toplanan bakteri kolonisine tepki olarak oluşan non-spesifik enflamasyona gingivitis denir (Dahlen ,1993). Periodontitiste gingiva oluşunda spesifik gram (-) bakteri türlerinin toplanması görülmektedir (Dahlen ,1993).

Periodontal oyuk oluşumu sonucu burada farklı mikroorganizmaların toplanması görülür. Diş hekimliği çalışmalarının temel hedefi diş plağını uzaklaştırmaktır. Yapılan son çalışmalarda dental plak oluşumunu engellemek için tüm bakterilerin inhibe edilmesinden ziyade seçici bir şekilde bakteri inhibisyonunun yapılması kabul görmektedir (Hepburn ve diğerleri, 1984).

### **2.8.3. Periodontal Hastalıklar**

İnsan vücuduna yerleşik mikroorganizmalar ağız, deri ve bağırsak gibi canlı yapılar için karakteristiktir (Henderson ve ark,1998). Mikroorganizmalar ağızın sabit canlılarıdır. Yaklaşık olarak 700 den fazla üyesi olduğu söylenmiştir. Bunların da yaklaşık 500 türü subgingival plakta bulunmaktadır (Aas ve diğerleri, 2005). Ağız içindeki bakteri kolonileri yaşam boyu devam eder ve ağız florası bakteri-konak arasındaki etkileşimle içerisinde bir denge oluşturmaktadır (Marsh ve diğerleri, 2006).

Bu dengenin bozulması sonucu ağız-diş hastalıklarının oluşmasına sebep olmaktadır (Marsh, 2003). Ağızdaki bakterilerin çoğu yüzeye yapışarak kolonize olurlar. Dişler temizlendikten sonra tükürük bezleri diş yüzeyini kaplar ve ilk bakterileri plakları oluşturur. Plak oluşumunun ilk safhalarında gram pozitif koklar ürerken ilerleyen zamanlarda plak topluluğu *cocobasiller* bakterilere doğru ilerler (Nyvad ve diğerleri, 1987).

İlk diş yapılarına yapışan bakteriler fiziksel ve kimyasal etkileşimle tutunurlar. Bu bakteriler çoğalarak polisakkarit üreterek lokal çevresel şartların değişmesine sebep olurlar. Bu da başka türlerin oluşmasına uygun bir ortam hazırlanır (Rickard ve diğerleri, 2003).

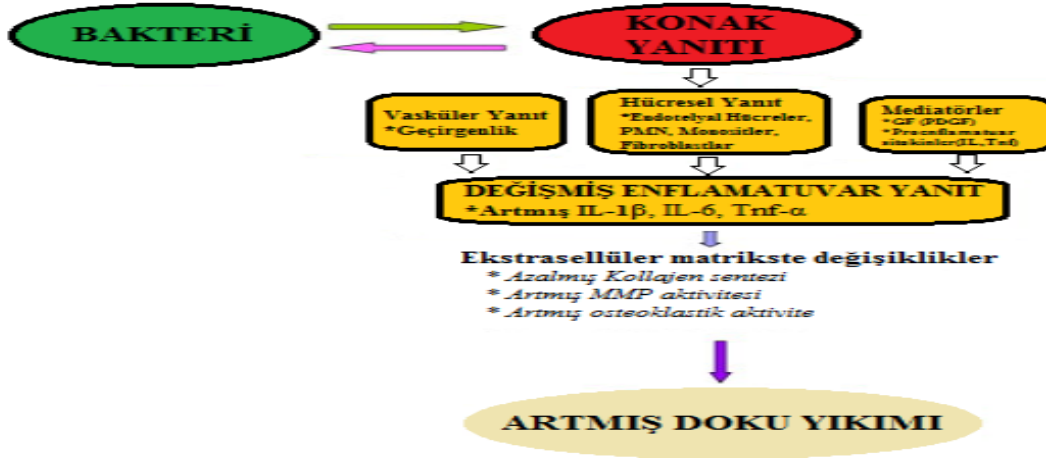
Ağızda *Fusobacterium nucleatum* ilk ve son oluşan olan bakteriler arasında transfer görevi görür. Diş çevresi giderek daha fazla gram(-) bakteri türlerin yer almaya başladığında bir biyofilm oluşur. Biyofilm geliştikçe *Porphyromonas gingivalis* (*P.gingivalis* ve *Eubacterium*) türleri gibi son oluşan bakterilerin sayısı giderek artar. Sonuçta dişte oluşan plak biyofilmi bu safhada periodontitisin en büyük etkeni olur (Kolenbrander ve diğerleri, 2002).

Periodontitis patojenik bakteriler ve canlı doku arasındaki kompleks etkileşim sonucunda oluşan enfeksiyon tedavi edilmediğinde oluşan diş eti destek dokularının kaybına sebep olabilen enflamatuvar bir periodontal hastalıktır (Lindhe ve diğerleri, 1989).

Periodontitis, dental plaktaki bakterilerin sebep olduğu, dişi tutan periodontal ligament, kemik ve yumuşak dokularda enflamasyona bağlı yıkımla karakterize olup, kronik, bir hastalıktır. Periodontitis, bakterilere karşı gelişen bir hastalık olmasına rağmen, hastalığın gözlemi konak doku cevabı ile görülmektedir (Loesche ve Grossman,2001). Toplumun her kesiminde değişik oranlarda periodontal hastalıklar mevcuttur. Periodontal hastalık insanlarda en çok görülen iltihabi hastalıklardandır (Oliver ve diğerleri, 1998).

Periodontal hastalığın oluşmasında ana faktör dental plaktaki anaerobik bakteriler ile konak savunma sisteminin bu mikroorganizma ve ürünlerine karşı oluşan doku hasarlarıdır. Bu meydana gelen yıkım miktarı lokal faktörlere, subgingival floraya, canlılığın bağışıklık sistemine ve konağa ait genetik özelliklere de bağlıdır (Grossi ve diğerleri, 1994; Kinane ve diğerleri, 2007; Grossi ve diğerleri, 1995). Mikroorganizmalar ve canlı arasındaki bu ilişkiler hastalığın başlamasını, ilerlemesini ve şiddetini belirleyen en önemli faktörlerdir (Socransky ve diğerleri, 2005).

Periodontal hastalığın gingivitis ve periodontitis olmak üzere iki önemli şekli vardır (Newman ve diğerleri, 2002). Gingivitis, dental plak birikimi şeklinde gelişen, diş etlerinde eritem, ödem, diş eti yüzeyindeki düzensiz aşınması ve kanamayla karakterize olabilen iltihabi bir diş eti hastalığıdır. Kanama gingivitisin en erken bulgusudur. Genetik faktörler, metabolik faktörler ve çevresel faktörler de gingivitis etkilemektedir. Gingivisteki enflamatuvar bulgular ve doku yıkımı geri dönüşebilecek kadar azdır. Gingivitis tedavi edilmediğinde ise diş destek dokularının kaybına sebep olarak periodontitise ilerleyebilmektedir. Her gingivitis olgusu periodontitise dönüşmezken, periodontitisten önce mutlaka gingivitis gelişmektedir (Tatakis ve diğerleri, 2004).



Şekil 6. Bakteri ve konak yanıtı arasındaki etkileşimi (Kamer ve diğerleri, 2008).

#### 2.8.4. Periodontal Hastalıkların Sınıflandırılması

Diş eti ve dişleri destekleyen diğer dokuları etkileyen yangı hastalığın etiolojisine ve patogenezine yönelik yapılan çalışmalara göre birçok sınıflama yapılmış olup periodontal hastalıkların sınıflandırılmasına yönelik 1999'da uluslararası düzeyde yapılan Amerikan Periodontoloji Akademisi'nin çalıştayında gerçekleştirilmiştir. Buna göre sınıflandırma aşağıdaki gibidir (Armitage ,1999).

1. Gingival hastalıklar
2. Kronik periodontitis
3. Agresif periodontitis
4. Sistemik hastalıkların bir bulgusu olarak periodontitisler
5. Nekrotizan periodontal hastalıklar
6. Periodonsiyumun apseleri
7. Endodontik lezyonlarla ilişkili periodontitisler
8. Kazanılmış deformiteler ve durumlar

#### 2.8.5. Kronik Periodontitis

Periodontitis gingivitisin ilerlemesi sonucunda periodontal kemik kaybı ile sonuçlanan kronik sellüler, humoral ve vasküler bir hastalıktır. Kronik periodontitis ise periodontitisler içerisinde en sık rastlanılan formudur. Kronik periodontitis genellikle yavaş ilerleyen bir hastalık olmasına rağmen diyabet, sigara, stres gibi sistemik veya çevresel faktörlerin etkisiyle



daha yıkıcı ve daha hızlı ilerleyen bir duruma dönüşür. Kronik periodontitis genellikle yetişkin toplumda görülmekle beraber kronik diş plağı ve taşı oluşmasına bağlı olarak çocuklarda da görülmektedir. Kronik periodontitiste ağrı, periodontal apse oluşumu, gıda sıkışması, kök çürükleri ve açığa çıkan kök yüzeylerinde sığağa, soğuga karşı hassasiyet gelişmektedir. Subgingival plak birikiminin etkisiyle kronik periodontitis oluşur. Dişin bir yüzeyinde periodontal kemik kaybı izlenirken diğer yüzeylerinde kayıp görülmeyebilir bu şekilde periodontal cep oluşumu oluşmaktadır (Newman ve diğerleri, 2002).

#### **2.8.6. Periodontal Hastalığın İlerlemesi**

Subgingival yapı mikroskop altında incelendiğinde içerisinde mikroorganizmalar ve nötrofiller görülür(Kinane,2001). Nötrofiller enfeksiyon oluşturan ajanlara karşı konak savunmasında ilk savunma hattını oluştururlar. Nötrofillerin görevi fagositoz yapmak ve bakterileri yok etmektir (Dennison ve diğerleri, 1997).

Kronik periodontitisin ilerleme hızı hastadan hastaya ve aynı hastanın farklı bölgelerinde değişkenlik gösterir. Bir kısım bölgeler uzun zaman inaktif kalırken başka bir bölgede daha hızlı bir yıkım görülebilir. Periodontal hastalığın ilerleyişi genellikle yavaş olmakla birlikte sistemik ve çevresel faktörlerle hız kazanabilir. Periodontal hastalığın aktif olarak tespit edildiği yerler daha çok interproksimal bölgeler, malpoze dişler ve gıda sıkışmasının olduğu bölgeler gibi plak kontrolünün zor sağlandığı alanlardır. Her iki cinsiyeti de eşit etkileyen kronik periodontitisin yaş ile beraber periodontal dokuların kronik plak birikimine maruz kalma süresinin artmasıyla kronik periodontitis her yaşta görülmesine rağmen otuzlu yaşlarla beraber klinik olarak artış göstermektedir (Newman ve diğerleri, 2002).

#### **2.8.7. Kronik Periodontitisin Etyolojisi**

Kronik periodontitisin temel etiyolojik nedeni mikroorganizmaların oluşturduğu dental plaktır. Dental plaktaki mikroorganizmaların çoğalması ve doku yıkımı etkileyen birçok sistemik ve çevresel faktör bulunur. Diş taşları ve benzeri plakların toplanıp kalmasına sebep olan faktörler plağın büyümesi için uygun ekolojik çevreyi sağlarlar.Kronik periodontitisin ilerlemesi için önemli rol üstlenirler. Toplanan plakların diş etinin altına uzanan çürük lezyonları, kemik ve ataşman kaybıyla açığa çıkmış bölgeleri risk faktörleri olarak kabul edilmektedir. Lokal faktörlerin yanı sıra şeker hastalığı , osteoporoz ve AIDS gibi sistemik

hastalık varlığında periodontal dokuların yıkımı daha fazla olur (Lamster ve diğeri, 1997; Lamster ve diğeri, 2001)

Kronik periodontitisli hastalardan sigara kullananların kullanmayanlara oranla ataşman, kemik kaybı, ve daha derin ceplerin oluştuğu bulunmuştur. Kanamanın ise daha az olduğu görülmüştür. Stres immün sistem üzerindeki etkilerinden dolayı kronik periodontitisin şiddetini, yayılımını ve dağılımını etkilemektedir (Warren ve diğeri, 2014).

Dental plaktaki mikroorganizmaların sebep olduğu periodontal hastalıklarda bazı genom-genom veya genetik-çevre etkileşimlerinin olabileceği hipotezide ileri sürülmüştür (Genco ve diğeri, 2013).

## **2.9. Sitokinler**

Mikroorganizma ve antijenlere karşı gelişen yangının başlamasında, ilerlemesinde ve durdurulmasında önemli rol oynayan hücresel düzenleyici polipeptid moleküllerdir (Seymour ve diğeri, 2001). Makrofajlar, T hücreleri, fibroblastlar, epitel hücreleri, monositler, nötrofiller gibi pek çok hücreden sitokinler salgılanmaktadır. Sitokinler hücre bölünmesi ve farklılaşmasının kontrolü, hücrelerin gelişimi, antijenlerin yok olması, immün sisteminin değişimi, yaraların iyileşmesi ve hücresel metabolizmanın farklılaşması gibi çok sayıda biyolojik olaylarda rol alır (Noronha ve diğeri, 1995)

**Tablo 3.** Sitokin grupların sınıflandırılması (Taylor, 2010).

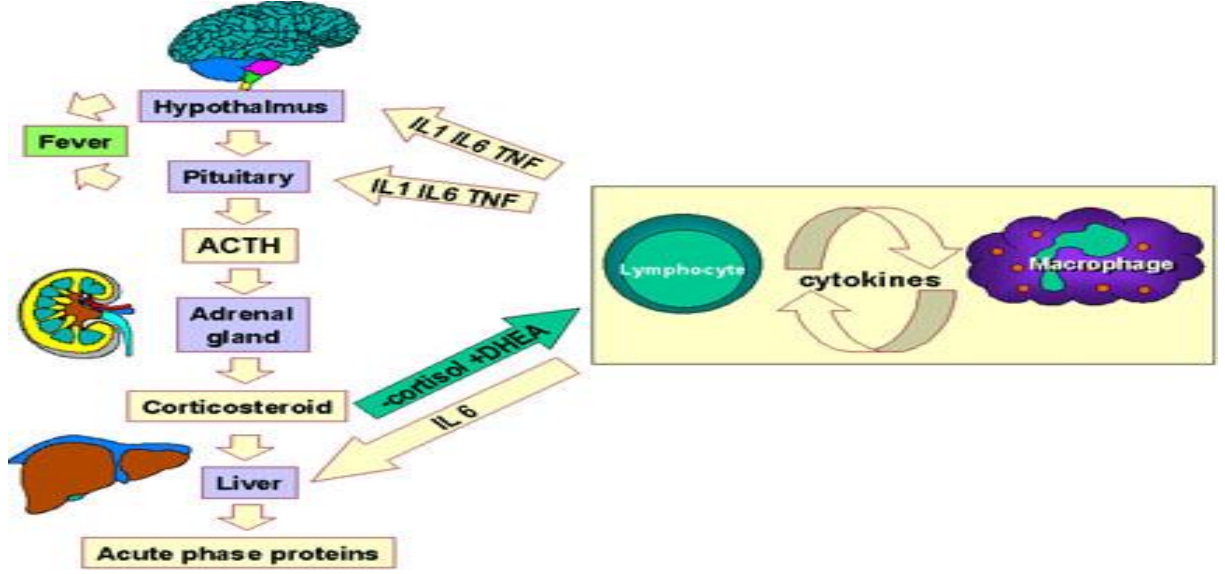
Sitokin Grubu	Sitokinlerin Görevi	Sitokinler
<b>Proenflamatuvar Sitokinler</b>	Primer doğal immün cevap ve enflamasyonun aktive edilmesi	IL-1 ailesi (IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1Ra) TNF- $\alpha$ , IL-12, IL-23, IL-32
<b>Sinyal sitokinler</b>	Lökosit farklılaşması ve büyümesi, akut faz reaksiyonları	IL-6, IL-11, oncastatin- M, Lösemi inhibitör faktör.
<b>T-Hücre düzenleyici sitokinler</b>	T-hücre alt kümelerinin düzenlenmesi, adaptif immünitenin düzenlenmesi, enflamatuvar cevabın düzenlenmesi	T-helper-1 sitokinler: IFN $\gamma$ , IL-12, IL-15, IL-8 T-helper-2 sitokinler: IL-4, IL-5, IL-25, IL-33. Thelper-17 sitokinler: IL-17, IL-21, IL-23, IFN- $\gamma$ , IL-6. Düzenleyici T: IL-2, TGF- $\beta$ , IL-10
<b>Anti- enflamatuvar sitokinler</b>	İmmün cevabın ve enflamasyonun baskılanması	IL-10, IL-13, TGF- $\beta$ , IL-1Ra, IL-1F5
<b>Kemokinler</b>	Nötrofil kemotaksisi	IL-8
<b>Tip-1 interferonlar</b>	Antiviral immün cevap	IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$
<b>Kemik hücre aktivatörleri</b>	Kemik hücre gelişimi ve fonksiyonu	RANKL
<b>Büyüme faktörleri</b>	Doku tamirinin düzenlenmesi	TGF- $\beta$ Süper ailesi, çeşitli büyüme faktörleri
<b>Adipokinler</b>	Metabolik ve immün düzenleme	Leptin, adiponektin, visfatin, TNF- $\alpha$ , IL-6
<b>Koloni stimüle edici faktörler</b>	Hematopoiezis, lokalize immün hücre farklılaşması	IL-3, IL-7, Granülosit stimüle faktörler

### 2.9.1. İnterlökin-1 $\beta$ (İL-1 $\beta$ )

Geçtiğimiz yıllar boyunca, konakçının enfeksiyonlara verdiği yanıtların mekanizmaları üzerine pek çok çalışma yapılmıştır. Böylece fagositik hücrelerden üretilen ürünlere odaklanılmıştır. İnterlökinler, lenfositlerince eksprese edilen gizli iletişim molekülleri olan sitokinlerin bir grubudur. Adı, lenfositlerden lökin ve iletişim manasına gelen interden gelmektedir. Buldukları günden beri bazı vücut hücrelerince üretildikleri

bilinmektedir. Bağışıklık sisteminin metabolik çalışmasının büyük kısmı interlökinlere bağlıdır. İnterlökinler makrofajlar ve lenfositlerden salınır.

IL-1 $\beta$ , temel olarak monositler, makrofajlar ve polimorfonükleer lökositler tarafından, bu hücrelerin haricinde epitel hücresi, deri keratinositleri, dermal fibroblastlar, B hücreleri, osteositler ve astrositler tarafından da üretilen kısa süreli ve uzun süreli hastalıkların enflamasyonda rol alan multifonksiyonel bir sitokindir (Seymour ve diğerleri, 2001)



Şekil 7: İL 1 ve sitokin ağı (<https://www.microbiologybook.org/Turkishimmunol/immunolchapter13turk.htm>).

Bu ürünlerin bazılarının biyolojik aktiviteleri akut faz tepkilerinin indüklenmesini içerir. Enfeksiyona ve yangıya karşı konak yanıtlarının aracılığını interlökin-1'in üretimi ve aktivitesine bağlayan deneysel ve klinik veriler sunulmaktadır. İnterlökin-1 mikroorganizma istilasına karşı konak tepkilerinin anahtarıdır. İnterlökin-1'in enfeksiyon ve enflamasyon sırasında üretilen gerçek bir hormonu temsil ettiği ve biyolojik aktivitelerinin savunma reaksiyonuna katıldığı bilinmektedir. İnterlökin-1 ailesi, endotel hücreleri ve lökositlerden integrinlerin salınmasıyla enflamatuvar cevabı başlatan ve düzenleyen birçok biyolojik olayda görev alırlar (Dinarello, 2011).

### 2.9.2. İnterlökin -6 (İL-6)

İL-6 olarak da bilinen interlökin-6, interlökin sınıfına ait bir sitokindir. Fibroblastlar, monositler, makrofajlar, T lenfositler, B lenfositler, epitel hücreleri, keratinositler ve çeşitli tümör hücreleri tarafından üretilir. Multifonksiyonel proenflamatuvar bir sitokin olan İnterlökin-6 (İL-6) hücrel ve humoral immün cevapları düzenler, enflamasyon ve doku hasarında önemli rol oynar (Van Snick , 1990)

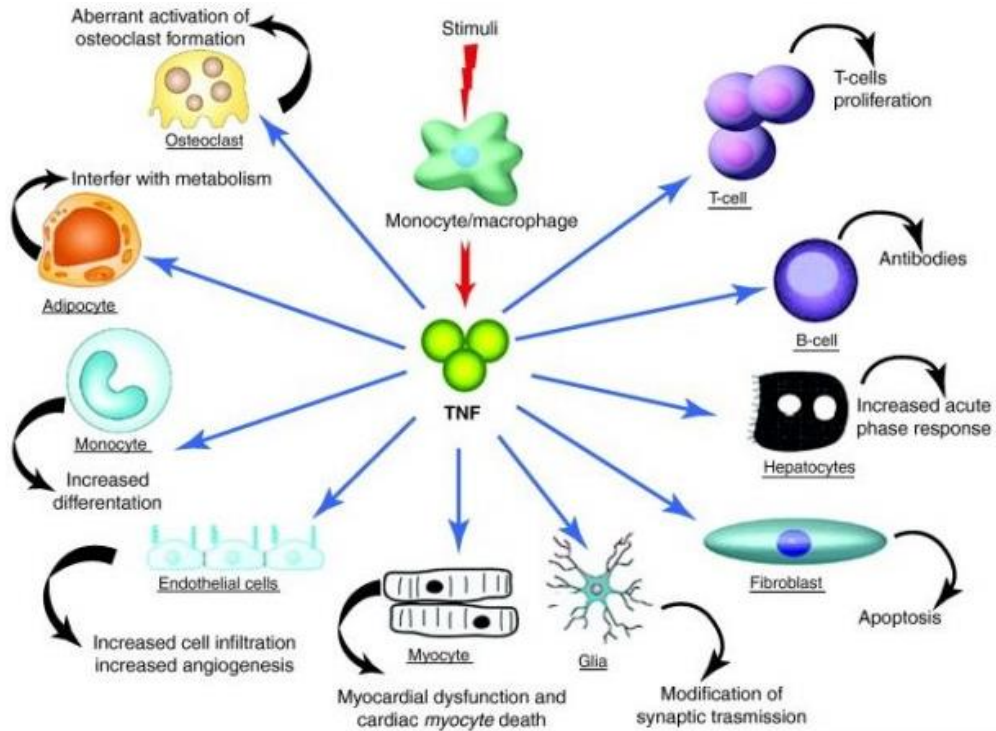
İnterlökin-6 üretimi, normal hücrelerde IL-1, TNF- $\alpha$ , viral enfeksiyon, çift sarmallı RNA ve benzerlerini içeren çeşitli faktörler tarafından indüklenebilir.

İL-6 polipeptit yapıdadır ve iki glikoprotein zincirinden oluşur. Bunlar molekül ağırlığı 80 kDa olan bir alfa zinciri ve moleküler ağırlığı 130 kDa olan bir beta zinciridir.  $\alpha$ -zinciri, hücre içi bölgeden yoksundur.  $\alpha$ -zinciri sadece düşük afinite ile IL-6'ya bağlanabilir ve daha sonra kompleks bileşik oluşturur. Yüksek afiniteli  $\beta$ -zincirine hemen bağlanır ve  $\beta$ -zinciri yoluyla hücreye bilgi iletir.

### 2.9.3. Tümör Nekroz Faktör-Alfa ( TNF- $\alpha$ )

İlk kez 1975'te Lloyd J. Old tarafından makrofajlarca üretilen başka bir sitotoksik faktör bulunmuş ve buna tümör nekroz faktörü (TNF- $\alpha$ ) adı verilmiştir (Carswell ve diğerleri, 1975).

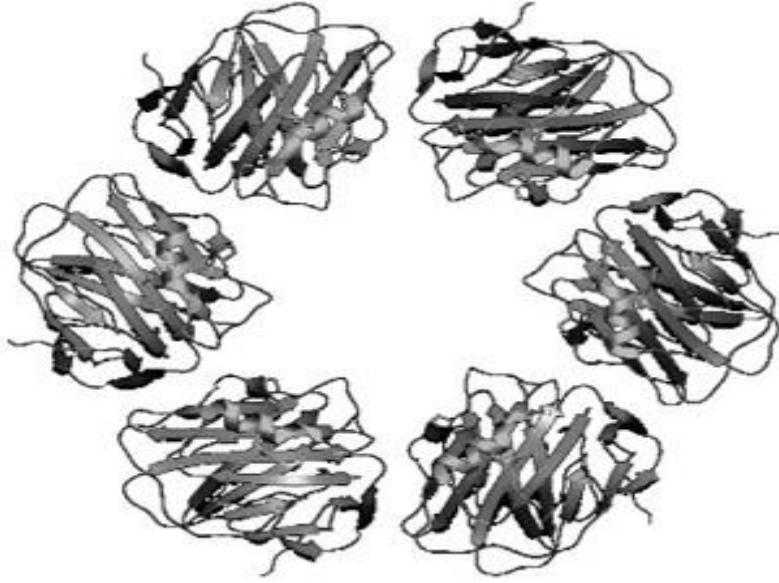
Polipeptit sitokin olan TNF- $\alpha$  hastalıkta meydana gelen enflamatuvar yanıtta anahtar rol oynar. Trimerik bir protein olan TNF- $\alpha$ 'nın molekül ağırlığı yaklaşık 17 kDa/monomerdir. Bu sitokin biyokimyasal olarak çeşitlilik gösteren 2 formda üretilmektedir. TNF- $\alpha$  ve TNF- $\beta$ 'ya bağlanarak biyolojik aktivitelerini nötralize eden iki yüzey reseptörü tanımlanmıştır (Graves ve diğerleri, 2003).



Şekil 8: Tümör Nekroz Faktörü (TNF- $\alpha$ ) (<https://www.tipacilar.com/tumor-nekroz-faktoru-tnf>).

## 2.10. C Reaktif Protein

İlk kez 1930 yılında *Streptococcus pneumoniae*'nin hücre duvarındaki C polisakkarit bileşiğine bağlanabilme özelliği keşfedilmiş ve C-reaktif Protein (CRP) olarak adlandırılmıştır. İlk zamanlarda kanser dahil birçok hastalıkta CRP'nin yükseldiği ve patojenik bir salgı olduğu düşünülmüştür. Ancak daha sonra karaciğerden salgılanan akut faz reaktantlarından olduğu anlaşılmıştır. CRP açlık veya tokluk durumu fark etmeksizin, vücuttaki yangıyı ve bunun şiddetini ölçen bir parametredir. Metabolizmada meydana gelen bir yangıda CRP değeri artar. CRP geni 1. kromozom üzerinde lokalizedir, yapısı ve  $Ca^{+2}$  bağlanma özelliği nedeniyle pentraksin olarak adlandırılan protein grubuna dahil edilmiştir. CRP benzer beş protein alt ünitesinin non-kovalent bağlanmasıyla oluşan ve 118.000 molekül ağırlığında bir  $\beta$ -globulindir (Volanakis , 2001)



**Şekil 9:** Beş adet protomerden oluşan CRP molekülü(Volanakis,2001).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereç

##### 3.1.1. Deney Hayvan Materyali

Bu çalışmaya 28/10/2020 tarih ve 64583101/2020/104 sayılı Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alınan onay ile başlandı. Deneyler Haziran 2021'de yapıldı.

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezinden ve erişkin yaşta, ortalama 200-250 gram ağırlığında ve 35 adet *Sprague dawley* tipi erkek ratlar alınarak çalışmaya başlandı. Deney süresi içinde hayvanlar Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesinde kontrollü odalarda ve nem oranı %40-60 olan, optimum ısıda (22° C), 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortam sağlanacak şekilde şeffaf polikarbon malzemeden yapılmış, kafes üstlükleri paslanmaz çelikten oluşan kafeslerde barındırıldı. Hayvanlar çalışma başlamadan önce deneme odasına alınarak adaptasyonları sağlandı. Ratların su ve yem ihtiyaçları ad libitum olarak karşılandı. Ratların günlük bakımları her gün 10:00-12:00 saatlerinde yapıldı. Gruplar oluşturulurken tesadüfi örnekleme ile her kafeste 7 hayvan olacak şekilde 5 grup oluşturuldu.



**Resim 4.** Araştırma kullanılan Sprague dawley ratlar ve deneysel gruplar (n=7).



### 3.1.2. Kullanılan Cihazlar

Çalışmada kullanılan cihazlar Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı'nda bulunan – 20°C derin dondurucu (Samsung RL62ZBSW, Japonya), ELISA cihazı (Optic Ivymen System, İspanya), Hemogram cihazı (abacus junior vet 5 ), santrifüj (Nüve NF800R, Türkiye), distile su cihazı (Nüve NS 112, Türkiye), Hassas terazi (Sartorius, Almanya), ve otomatik pipetler (2-20 µl, 5-50 µl, 20-200 µl, 100-1000 µl) kullanıldı.

#### ELİSA cihazı

Çalışmada ELİSA cihazı (Optik İvymen Sistem Cihazı, 2100-C Modeli) kullanıldı.



**Resim 5.** Araştırma kapsamında kullanılan ELİSA cihazı.

#### Kan sayım cihazı

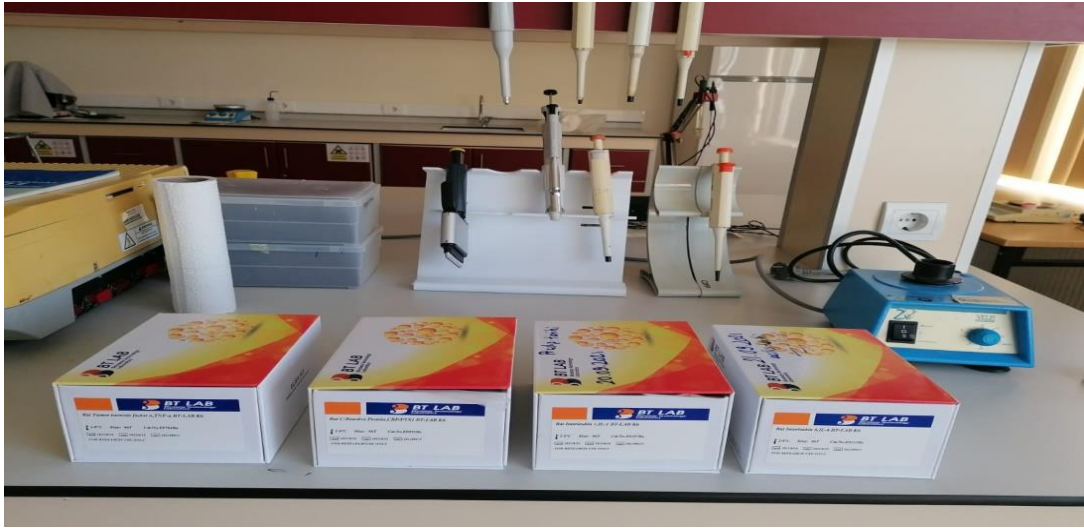
Çalışmada Kan Sayım (Hemogram cihazı) (abacus junior vet 5 ) kullanıldı.



**Resim 6.** Araştırma kapsamında kullanılan hemogram cihazı.

### 3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Bu çalışmada ratların İnterlökin-1, İnterlökin-6, TNF- $\alpha$  ve CRP düzeyleri ölçümleri için ticari ELISA test kiti (Assay Pro, Assay Max Rat CRP, Amerika) ile prosedürüne uygun şekilde ELISA cihazında ölçüldü.



**Resim 7.** Araştırma kapsamında kullanılan rat KİT'leri.

Ayrıca çalışmada Propolis (İdapolis, Çanakkale, Türkiye) Kitosan (Sigma-Aldrich 448877), Asetik Asit (Sigma-Aldrich 27225) ve gliserol (Sigma)-Aldrich G8773) kullanıldı.

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Mukoadesiv Jelin Hazırlanması

Propolis içeren mukoadesiv jelin hazırlanmasında modifiye mekanik işlem kullanıldı. %3 lük asetik asit çözeltisinde hazırlanan %4 lük kitosan çözeltisine %5 lik gliserol eklenerek sürekli karıştırma işlemi yapıldı. Jel içine belirlenen dozlarda (50 mg ve 100 mg) etanoldeki propolis ekstraktı ilave edildi. (Partha ve ark. 2016).

Kitosan jelde propolis eklenmeden aynı işlemlerle hazırlandı. Hazırlanan tüm formülasyonlar, serin ve karanlık bir yerde alüminyum folyo ile kaplı vidalı kapaklı geniş ağızlı bir beherde saklandı.

### 3.2.2. Deney Grupları ve Uygulama Protokolü

Çalışmaya başlamadan 2 hafta önce deney hayvanları ortama uyum sağlamaları için Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi ünitesine alındı. Hayvanların ortama uyum sağlama sürecinde her kafeste ortalama 7 rat olacak şekilde yerleştirildi. Periodontitis oluşturulması için kullanılan rat gruplarına 10 mg/kg Xylazine (Rompun®, Bayer, Topkapı, Turkey) ve 100 mg/kg ketamin (Ketalar, Pfizer, İstanbul, Turkey) hazırlanarak anestezi altında sağ alt birinci kesici dişlerine submarjinal olarak 3/0 ipek sütür materyali geçirildi ve vestibülde düğüm atıldı. Ligatürün atılmasını takiben 11. günde tekrar anestezi altında bu ligatürler çıkarıldı. Oluşturulan periodontitisli gruplara 7 gün boyunca 50 mg/dl, 100 mg/dl propolis içeren mukoadesiv jel dişetlerine uygulandı. Kitosan grubu ratlara mukoadesiv jel hazırlamada kullanılan kitosan ile hazırlanan jel aynı yöntemle uygulandı. Negatif kontrol grubuna hiçbir jel uygulaması yapılmadı. 7 adet rat sağlıklı kontrol grubu olarak ligatür ve jel uygulaması yapılmadan aynı deney odasında farklı kafeslerde barındırıldı. Jel uygulamaları ligatürün çıkarıldığı günden başlayarak 7 gün boyunca her gün lokal olarak yapıldı. 8. gün genel anestezi altında kalp içi kan örnekleri toplandı

Çalışma Grupları;

1 grup. 50 mg/dl propolis içeren mukoadesiv jel uygulandı. (n=7)

2 grup. 100 mg/dl propolis içeren mukoadesiv jel uygulandı. (n=7)

3 grup. Kitosan jel uygulandı. (n=7)

4 grup. Negatif kontrol: Ligatür uygulandı ve hiçbir jel uygulaması yapılmadı. (n=7)

5 grup. Sağlıklı Kontrol grubu: Ligatür ve jel uygulaması yapılmadan aynı deney odasında farklı kafeslerde barındırıldı. (n=7)



**Resim 8.** Ratlara ligatürün atılırken.



**Resim 9.** Ratlara ligatürün atılmış hali.

### **3.2.3. Kan Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması**

Mukoadesiv jel uygulanması tamamlanan hayvanlar tekrar tartıldı, ağırlıkları kaydedildi. Tartım işleminin ardından genel anestezi altında 10 ml'lik enjektörlerle intrakardiyak olarak kan örnekleri alındı. Ratlara servikal dislokasyonla ötenazi uygulandı. Uygun bir şekilde çıkarılan diş eti dokusu örnekleri histopatolojik incelemelerde kullanılmak üzere direkt tampon çözeltiye konularak muhafaza edildi.

Hemogram ölçümleri için alınan tam kan örnekleri veteriner kalibrasyonlu kan sayım cihazında Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Merkez Laboratuvarında ölçüldü. Ratlardan alınan kanlar serum elde etmek için bekletilmeden 3000 rpm ve 10 dakika süre boyunca santrifüj edildi. Elde edilen serumlar porsiyonlara ayrılarak ependorf tüplerde analiz gününe kadar -20°C'de saklandı. Her analiz çalışması için donmuş serum örnekleri 1 kez çözündürüldü.

### **3.2.4. Kan Parametrelerin Analizi**

#### **3.2.4.1. Tam Kan Analizi**

EDTA'lı ( etilendiamin tetraasetik asit ) tüplere alınan 2 ml'lik kan örnekleri hemogram ölçümleri Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Merkez Laboratuvarında kalibrasyonlu kan sayım cihazında gerçekleştirildi. İmpedans yöntemine (elektrik direnci) göre analiz işlemi gerçekleştirildi.

#### **3.2.4.2. İnterlökin -1 Analizi**

Prensip: Rat IL-1 antikoruna ile kaplı kuyucuklara serum örnekleri eklendiğinde örnekteki IL-1 ile kuyucuklardaki antikor bağlanır. Biotinlenmiş rat IL-1 antikoruna eklendiğinde örnekteki IL-1 ile bağlanır streptavidin-HRP buna bağlanır. İnkubasyon sonunda bağlanmamış streptavidin yıkanır substrat solüsyonu eklenir. Oluşan renk IL-1 miktarına bağlıdır. Durdurma solüsyonu eklendiğinde reaksiyon durdurulur ve 450 nm de okuma yapılır.

#### Yapılışı:

1. Bütün reaktifler, standart solüsyonları ve numuneleri prosedüre göre hazırlandı. Kullanmadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi.
2. Test için gereken strip sayısı belirlendi ve şeritleri kullanım için çerçevelere yerleştirildi.
3. Standart kuyucuklarına 50ul standart eklendi. Standart çözelti biyotinlenmiş antikor içerdiğinden, standart kuyuya antikor eklenmedi.
4. Test kuyucuklarına 40 ul numune eklendi ardından 10 ul rat IL1B antikorunu eklendi. Daha sonra numune ve standart kuyulara 50ul streptavidin-HRP eklendi. İyi karıştırılıp 37 °C'de 60 dakika inkübe edildi.
5. İnkübasyonu takiben yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı.
6. Her kuyuya 50 ul substrat solüsyonu A ve her kuyuya 50 ul substrat solüsyonu B eklendi. Karanlıkta 37°C'de 10 dakika boyunca yeni bir kapatıcı ile kaplanmış plak inkübe edildi.
7. Her kuyuya 50ul Durdurma Solüsyonu eklendi.
8. Durdurma solüsyonunu ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'ye ayarlanmış bir mikroploka okuyucu kullanarak hemen her kuyunun optik yoğunluğunu belirlendi.

#### 3.2.4.3. İnterlökin -6 Analizi

Prensip: Rat IL-6 antikorunu ile kaplı kuyucuklara serum örnekleri eklendiğinde örnekteki IL-6 ile kuyucuklardaki antikor bağlanması esasına dayanır. Biyotinlenmiş rat IL-6 antikorunu eklendiğinde örnekteki IL-6 ile bağlanır. Streptavidin-HRP de buna bağlanır. İnkübasyon sonunda bağlanmamış streptavidin yıkılarak uzaklaştırılır. Substrat solüsyonu eklenir. Oluşan renk IL-6 miktarına bağlıdır. Stop solüsyonu eklendiğinde reaksiyon durdurulur ve 450 nm de okuma yapılır.

#### Yapılışı:

1. Bütün reaktifler, standart solüsyonları ve numuneleri prosedüre göre hazırlandı. Kullanmadan önce tüm reaktifleri oda sıcaklığına getirildi.
2. Test için gereken strip sayısını belirlendi ve şeritleri kullanım için çerçevelere yerleştirildi.
3. Standart kuyucuklarına 50 ul standart eklendi. Standart çözelti biyotinlenmiş antikor içerdiğinden, standart kuyuya antikor eklenmedi.

4. Test kuyucuklarına 40 ul numune eklendi ardından 10 ul rat IL-6 antikoru eklendi. Daha sonra numune ve standart kuyulara 50ul streptavidin-HRP eklendi. İyice karıştırılıp 37 °C'de 60 dakika inkübe edildi.

5. İnkübasyonu takiben yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı.

6. Her kuyuya 50 ul substrat solüsyonu A ve her kuyuya 50 ul substrat solüsyonu B eklendi. Karanlıkta 37°C'de 10 dakika boyunca inkübe edildi.

7. Her kuyuya 50 ul Durdurma Solüsyonu eklendi.

8. Durdurma solüsyonunu ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'ye ayarlanmış bir mikropłaka okuyucu kullanarak hemen her kuyunun optik yoğunluğunu (OD değeri) ölçüldü.

#### **3.2.4.4. Tümör Nekroz Faktör-Alfa (TNF- $\alpha$ ) Analizi**

Prensip: Rat TNF- $\alpha$  antikoru ile kaplı kuyucuklara serum örnekleri eklendiğinde örnekteki TNF- $\alpha$  ile kuyucuklardaki antikorun bağlanması esasına dayanır. Biotinlenmiş rat TNF- $\alpha$  antikoru eklendiğinde örnekteki TNF- $\alpha$  ile bağlanır. Streptavidin-HRP de buna bağlanır. İnkübasyon sonunda bağlanmamış streptavidin yıkanarak uzaklaştırılır. Substrat solüsyonu eklenir. Oluşan renk TNF- $\alpha$  miktarına bağlıdır. Durdurma solüsyonu eklendiğinde reaksiyon durdurulur ve 450 nm de okuma yapılır.

Yapılışı:

1. Bütün reaktifler, standart solüsyonları ve numuneleri prosedüre göre hazırlandı. Kullanmadan önce tüm reaktifleri oda sıcaklığına getirildi.

2. Test için gereken strip sayısını belirlendi ve şeritleri kullanım için çerçevelere yerleştirildi.

3. Standart kuyucuklarına 50 ul standart eklendi. Standart çözelti biyotinlenmiş antikor içerdiğinden, standart kuyuya antikor eklenmedi.

4. Test kuyucuklarına 40 ul numune eklendi ardından 10 ul rat TNF- $\alpha$  antikoru eklendi. Daha sonra numune ve standart kuyulara 50 ul streptavidin-HRP eklendi. İyice karıştırılıp 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.

5. inkübasyonu takiben yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı.

6. Her kuyuya 50 ul substrat solüsyonu A ve her kuyuya 50ul substrat solüsyonu B eklendi.. Karanlıkta 37 °C'de 10 dakika inkübe edildi.

7. Her kuyuya 50 ul Durdurma Solüsyonu eklendi.

8. Durdurma solüsyonunu ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'ye ayarlanmış bir mikropłaka okuyucu kullanarak hemen her kuyunun optik yoğunluğu belirlendi.

### 3.2.4.5. C Reaktif Protein (CRP) Analizi

Prensip: Rat CRP antikoru ile kaplı kuyucuklara serum örnekleri eklendiğinde örnekteki CRP ile kuyucuklardaki antikor bağlanması esasına dayanır. Biotinlenmiş rat CRP antikoru eklendiğinde örnekteki CRP ile bağlanır. Streptavidin-HRP de buna bağlanır. İnkubasyon sonunda bağlanmamış streptavidin yıkanarak uzaklaştırılır. Substrat solüsyonu eklenir. Oluşan renk IL-6 miktarına bağlıdır. Stop solüsyonu eklendiğinde reaksiyon durdurulur ve 450 nm de okuma yapılır.

Yapılışı:

1. Bütün reaktifler, standart solüsyonları ve numuneleri prosedüre göre hazırlandı. Kullanmadan önce tüm reaktifleri oda sıcaklığına getirildi.
2. Test için gereken strip sayısını belirlendi ve şeritleri kullanım için çerçevelere yerleştirildi.
3. Standart kuyucuklarına 50 ul standart eklendi. Standart çözelti biyotinlenmiş antikor içerdiğinden, standart kuyuya antikor eklenmedi.
4. Test kuyucuklarına 40 ul numune eklendi ardından 10 ul rat CRP antikoru eklendi. Daha sonra numune ve standart kuyulara 50 ul streptavidin-HRP eklendi. İyice karıştırılıp 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.
5. İnkubasyonu takiben yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı.
6. Her kuyuya 50 ul substrat solüsyonu A ve her kuyuya 50 ul substrat solüsyonu B eklendi.. Karanlıkta 37 °C'de 10 dakika inkübe edildi.
7. Her kuyuya 50 ul Durdurma Solüsyonu eklendi.
8. Durdurma solüsyonunu ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'ye ayarlanmış bir mikropilaka okuyucu kullanarak hemen her kuyunun optik yoğunluğu (OD değeri) belirlendi.

### 3.2.4.6. Histopatolojik Analizler

Ötenaziden sonra diş eti dokuları oral dokudan uzunlamasına kesitler alınarak çıkarıldı. Çıkarılan dokular NBF (nötral buffer formalin) içine aktarıldı. Bir gün tesbitte tutuldu. Gerekli histolojik prosedür takip edilerek parafilm gömüldü. Parafin içine gömülmüş dokulardan mikrotom ile 5µm kesitler alınarak hematoksilin eozin ile boyamalar yapıldı.

### **3.2.5. İstatistiksel Değerlendirme**

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizi amacıyla SPSS21 (Statistical Package For Social Sciences 21 paket program SPSS INC., Chicago,IL, USA) kullanıldı. Verilerin normal dağılım gösterip göstermedikleri ShapiroWilk testi ile değerlendirildi. Normal dağılım gösteren gruplara ANOVA testi ile karşılaştırılma yapılırken normal dağılım göstermeyen gruplarda Kruskal-Wallis testi uygulandı. Sonuçlar ortalama ve standart sapma olarak gösterildi.



## 4. BULGULAR

### 4.1. Canlı Ağırlık

Çalışma öncesi tüm ratların vücut ağırlıkları ölçüldü. Çalışmanın sonucunda kan alınmadan önce tüm hayvanların ağırlıkları tekrar belirlendi. Tüm gruplarda canlı ağırlıklarda artış gözlemlendi (Tablo 4). Canlı ağırlık değişimleri incelendiğinde kitosan ve propolis içeren mukoadesiv jel uygulanan gruplardaki artışın daha belirgin olduğu gözlemlenmiştir.

**Tablo 4.** Deneysel gruplara ait çalışma öncesi ve sonrası ortalama canlı ağırlıklar (g).

Gruplar	Başlangıcında canlı ağırlıklar	Çalışma sonunda canlı ağırlıklar
Sağlıklı Control	424	443
Negative Control	419	450
Kitosan	467	500
50 mg propolis	473	558
100 mg propolis	517	541

### 4.2. Biyokimyasal ve Hematolojik Bulgular

**Tablo 5.** Deneysel periodontitis oluşturulan ve sağlıklı kontrol grubu ratlarında ortalama serum CRP, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 konsantrasyonları (ortalama $\pm$ standart sapma ( $\chi\pm$ SD)).

GRUP	SAĞLIKLI KONTROL n=7 (X $\pm$ SD)	NEGATİF KONTROL n=6 (X $\pm$ SD)	KİTOSAN n=7 (X $\pm$ SD)	PROPOLİS 50mg/dl n=7 (X $\pm$ SD)	PROPOLİS 100 mg/dl n=7 (X $\pm$ SD)	p
CRP (ng/mL)	1,22 $\pm$ 0,52	1,78 $\pm$ 0,30	1,55 $\pm$ 0,53	1,24 $\pm$ 0,51	1,41 $\pm$ 0,52	ÖD
TNF- $\alpha$ (ng/L)	200,57 $\pm$ 95,70	293,25 $\pm$ 141	221,84 $\pm$ 23,03	244,41 $\pm$ 91,83	180,36 $\pm$ 81,18	ÖD
IL-1 (pg/mL)	28,36 $\pm$ 3,96	31,05 $\pm$ 5,49	29,56 $\pm$ 4,60	32,64 $\pm$ 2,30	32,18 $\pm$ 6,96	ÖD
IL-6 (pg/mL)	2,56 $\pm$ 0,36	2,37 $\pm$ 0,67	2,83 $\pm$ 0,22	2,43 $\pm$ 0,34	2,87 $\pm$ 0,39	ÖD

ÖD : Önemli değil p > 0.05

Gruplarda karşılaştırma yapıldığında serum CRP düzeylerinde istatistiki önemde bir fark belirlenemedi. Ancak sağlıklı kontrol grubuna göre negatif kontrol grubu CRP düzeyi yüksek olarak bulundu. Serum CRP düzeyleri kitosan ve propolis içeren mukoadesiv jel uygulanan ratlarda negatif kontrole göre düşük olarak belirlendi.

Ortalama serum TNF- $\alpha$  konsantrasyonları karşılaştırıldığında istatistiki önemde olmayan değişiklikler görüldü. Periodontitis oluşturulan ve tedavi uygulanmayan grupta en yüksek seviye saptanırken kitosan ve 50 mg propolis gruplarında düzeyin azaldığı; 100 mg/dl propolis içeren grupta sağlıklı kontrol grubundan daha düşük seviyede oldukları görüldü.

Ortalama serum IL-1 düzeyleri sağlıklı kontrole göre tüm gruplarda benzer oranda istatistiki önemi olmayan bir artış eğilimi gösterdi.

Ortalama serum IL-6 düzeyleri karşılaştırıldığında sağlıklı kontrol negatif kontrol kitosan, 50 mg ve 100 mg propolis uygulanan gruplarda istatistiki fark belirlenemedi.

**Tablo 6.** Deneysel periodontitis oluşturulan ve sağlıklı kontrol grubu ratlarında ortalama kan hemogram düzeyleri (ortalama±standart sapma ( $\chi$ ±SD) .

GRUP	SAĞLIKLI KONTROL n=7 (X±SD)	NEGATİF KONTROL n=6 (X±SD)	KİTOSAN ----- n=7 (X±SD)	PROPOLİS 50mg/dl n=7 (X±SD)	PROPOLİS 100mg/dl n=7 (X±SD)	p
WBC	9,63±3,23	11,27±3,47	8,95±3,18	9,35±1,80	9,78±2,50	ÖD
LYM	7,95±2,64	9,72±3,04	7,31±2,84	7,06±1,88	7,68±1,91	ÖD
NEU	1,34±0,66	1,37±0,55	1,33±0,50	1,92±1,57	1,63±0,87	ÖD
% LY	82,75±5,18	73,18±31,98	80,95±4,19	75,91±16,06	79,60±15,57	ÖD
% NE	13,58±3,59	12,11±2,60	15,90±5,57	20,56±16,52	16,28±5,83	ÖD
RBC	9,91±4,63	9,85±0,72	9,11±0,85	8,01±0,37	8,56±0,68	ÖD
HGB	13,56±1,39 <sup>a</sup>	15,25±0,48 <sup>b</sup>	15,85±1,00 <sup>b</sup>	14,30±1,21 <sup>ab</sup>	14,71±0,66 <sup>ab</sup>	P<0.05
HCT	45.36±2,17	53.91±3,54	49,72±2,89	43,83±3,72	47,33±3,52	ÖD
MCHC	27,13±9,66	28,53±2,40	31,83±0,72	32,68±1,98	31,14±1,70	ÖD
RDWc	18,08±6,03	16,20±0,55	16,20±0,67	16,20±0,50	15,90±0,69	ÖD
PCT	0,93±0,06 <sup>a</sup>	0,58±0,06 <sup>b</sup>	0,79±0,11 <sup>ab</sup>	0,76±0,13 <sup>ab</sup>	0,78±0,30 <sup>ab</sup>	P<0.05
MPW	7,04±0,16	7,30±0,49	7,05±0,64	6,98±0,43	7,07±0,59	ÖD
PDWc	33,16±0,35	32,81±2,55	33,46±2,34	32,75±1,04	32,65±1,10	ÖD

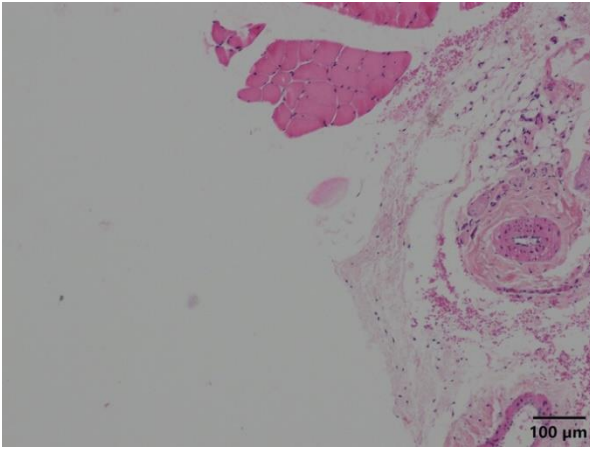
ÖD : Önemli değil

a,b : Aynı satırda farklı harf içeren gruplar arası fark önemli (p <0.05).

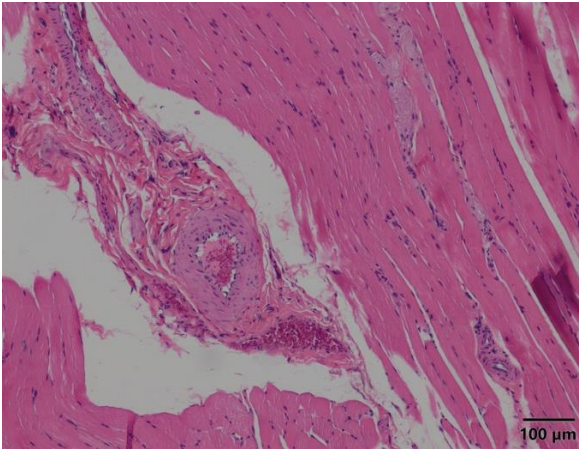
Hemogram düzeyleri karşılaştırıldığında hemoglobin ve PCT düzeylerinde istatistiki önemde bir fark belirlenirken diğer parametreler arasında sağlıklı, negatif kontrol ve kitosan ile propolis içeren gruplar arasında istatistiki anlamda değişiklik gözlenmedi. Hemoglobin düzeyi negatif kontrolde ve kitosanlı jel grubunda sağlıklı ratlardan yüksek belirlenirken propolis içeren jellerle tedavi edilen grupta düşme eğilimine geçtiği görüldü. Kan PCT düzeyi ise herhangi bir tedavi uygulanmayan periodontitisli ratlarda sağlıklı ve tedavi gruplarından anlamlı düzeyde düşük olarak belirlendi.

### 4.3. Histopatolojik Bulgular

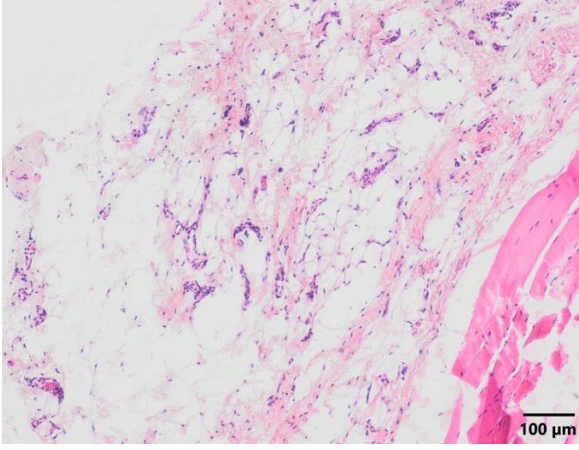
Tedavi edilmeyen negatif kontrol grubunda epidermis tahrip olduğu, kesintiye uğradığı ve yara boşluğu nekrotik materyal ile akut enflamatuvar eksudalarla dolu olduğu belirlendi. Ödem, hiperemi ve enflamatuvar filtrat gözlemlendi (Resim 11). Sağlıklı grup, kitosan, 50 mg ve 100 mg kitosan içeren mukoadesiv jel içeren grupların dişetleri histolojik bulguları arasında fark belirlenemedi (Resim 12, 14, 15,16).



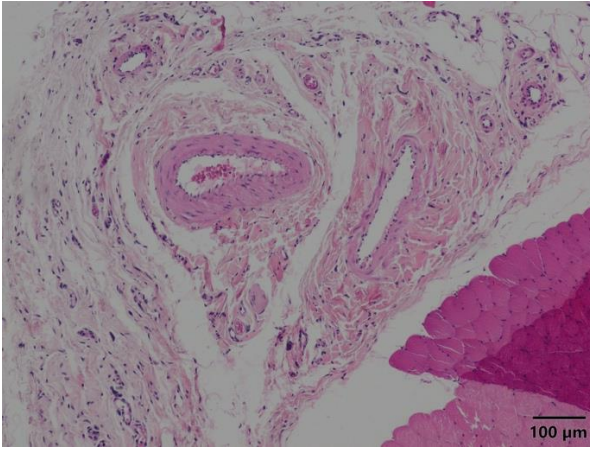
**Resim 10.** Sağlıklı kontrol grubu diş eti dokusu (HEx10)



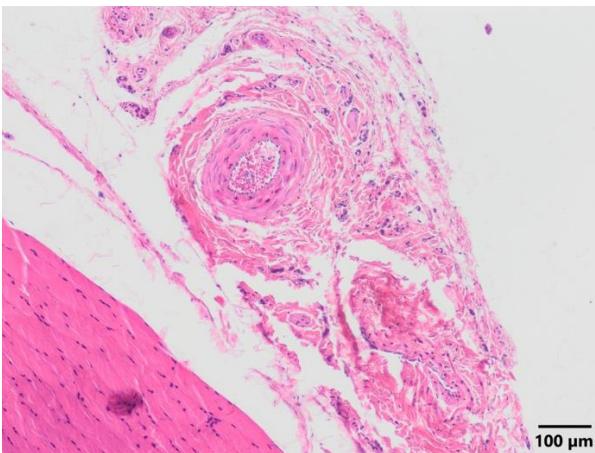
**Resim 11.** Negatif kontrol grubu (HEx10)



**Resim 12.** Kitosan ile hazırlanan mukoadesiv jel içeren grup diş eti dokusu (HEx10)



**Resim 13.** 50 mg Kitosan içeren mukoadesiv jel uygulanan grup



**Resim 14.** 100 mg Kitosan içeren jel uygulanan grup

## 5. TARTIŞMA

Hayvan modelleri, tıp bilimlerinde yeni bilgilerin üretilmesinde önemli bir role sahiptir. Bu deneysel modeller, insanlarda meydana gelen in vivo hücresel özellikleri ve reaksiyonları yeniden üretebildikleri için belirgin avantajlara sahiptir. Periodontal hastalıkta hayvan modelleri kullanmak patolojik süreçleri anlamak için bilimsel temelin geliştirilmesinde önemlidir (Graves ve ark. 2012). Özellikle kemirgenler ve sıçanlar deneysel periodontal araştırmalar için uygun modellerdir (Struillou ve ark. 2013). Dental gingival bölgenin yapısı, sığ diş eti sulkuslu ve bağlantı epitelinin diş yüzeyine tutunduğu yapılar insanlarınkine benzerdir(Lonel ve ark. 2015). Ligatür uygulanarak deneysel periodontitis oluşmasında ortaya çıkan yangısal süreç insan kronik periodontitisinden farklı olarak akut meydana gelir ancak buna rağmen bilimsel araştırmalarda yaygın şekilde kullanılmaktadır (Aral ve ark. 2015). Bu nedenle yapılan bu çalışmada periodontit modeli oluşturmak için ratlar tercih edilmiştir.

Propolisinin antibakteriyel, antioksidan, antifungal, antiviral, antiinflamatuvar, doku yenileyici ve yara iyileştirici etkileri klinik olarak kullanımına olanak verir (Kutluca ve diğerleri, 2006; Eroğlu ve diğerleri, 2004). Propolisin ağız için kullanım şekli ile ilgili birçok araştırma yapılmıştır ve yaygın olarak güvenle kullanılmaktadır. Diş hekimliğinde periodontitis, gingivitis ve çürükler üzerine denemeler yapılmıştır (Koo ve diğerleri, 2002; Skaba ve diğerleri, 2013). Propolis ağız gargarası ve diş macunu olarak kullanılmaktadır. Yaptığımız literatür çalışmalarında mukoadesiv jel şeklinde propolis kullanılan bir araştırmaya rastlanmamış bu nedenle bu çalışma planlanırken propolisin mukozada daha uzun süre kalmasına olanak sağlayabilecek şekilde kitosan kullanılarak mukoadesiv jel formu hazırlanmış ve deneysel periodontitis modelinde uygulamalar yapılmıştır. Propolisin antimikrobiyal aktivitesi kullanılan çözücüden etkilenebilmektedir. Gliserin solusyonları bakterilere az inhibitör etki gösterirken etanol solusyonları mayalara karşı iyi bir inhibitör etki oluşturur (Castaldo ve Capasso ,2002). Bu nedenle de bu çalışmada mukoadesiv jel içinde uygulanacak propolis etanolik ekstrat şeklinde tercih edilmiştir.

Propolisin antimikrobiyal aktivitesini araştırmak amacıyla pek çok çalışma yapılmıştır (Pellati ve diğerleri, 2013). Propolisin gram(-), gram (+) bakteriler ve bazı mantarlara etkili olduğunu belirtilmektedir. Ancak gram negatif bakterilere karşı propolis etkisinin daha çok

olduğunu bildiren çalışmalar da mevcuttur (Moreno ve diğerleri, 1999). Propolis dental plaktaki mikrobiyal organizmaların üzerindeki etki sistemi halen tartışma halindedir. Propolisteki flavonoidler, kafeik asit ve sinamik asit gibi içeriklerin muhtemelen hücre zarına veya hücre duvarına etki ederek bakteri hücresinde yapısal ve fonksiyonel hasara neden olmaktadır (Mirzoeva ve diğerleri, 1997). Diş köklerinin *Enterococcus* ile enfekte edilip propolisin etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada propolisin antibakteriyal etki gösterdiği kabul edilmiştir (Kayaoglu ve diğerleri, 2011). Başka bir çalışmada propolis streptomisin ile şiddetli, kloramfenikol ile daha az şiddette sinerjistik etkileşime girdiği gösterilmiştir (Parolia ve diğerleri, 2010). Propolis çözeltisinin hücrelerin yapışmasını ve glukun oluşumunu inhibe ettiği görülmüştür (Nishihara ve Koseki, 2004)

Murray ve ark.(1997) klorheksidin ve propolis plak oluşumunu engelleyip engellemediğini araştırdıkları bir çalışmada propolis içeren gargaranın klorheksidine göre daha iyi sonuç vermediğini rapor etmişlerdir. Ancak tedavi uygulanmayan gruba göre daha iyi durumda olduğunu bildirmişlerdir. Koo ve ark.(2002) propolis içeren ağız gargarasının etkili şekilde plak oluşumunu azalttığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda plak oluşumu, bakteriyel durum incelenmemiştir. Ancak incelenen parametreler açısından propolis içeren jel uygulamasının anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı ancak negatif kontrole göre daha düşük seviyelerde olduğunu göstermiştir.

İnterlökin 1beta (IL-1b), IL - 6 ve tümör nekroz faktör-alfa ( TNF- $\alpha$  ), osteoklast öncüllerinin farklılaşmasını uyarır ve osteoklastları aktive ederek bağ dokusu yıkımını ve kemik rezorpsiyonunu indükler (Farquharson ve ark. 2012; Dietrich ve ark.2013). Bu sitokinler ayrıca, periodontal hastalık aktivitesinde iyi araştırılmış belirteçleridir ve kemik rezorpsiyonunu indüklemek için sinerjistik olarak hareket ederler (Dietrich ve ark.2013); Olsen, 2015). Bu nedenle yapılan çalışmada bu stokinlerin değişimlerini inceleyerek mukoadesiv jel şeklinde uygulanan propolisin etkisini göstermek amaçlandı. Çalışmamızda TNF- $\alpha$  düzeyinde jel uygulanan gruplarda azalma saptandı ancak azalmaların istatistiki önemde olmadığı görüldü. Özellikle 100 mg propolis içeren jel uygulanan grupta sağlıklı kontrolden daha düşük bir düzeyde olduğu görüldü. Ancak IL-1 ve IL-6 düzeyleri sağlıklı kontrol ve deneme grupları karşılaştırıldığında anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı görüldü. Aral ve ark.(2015) diyabet ve periodontitis oluşturdukları ratlarda ortalama plazma IL-1b seviyelerinin tedavi edilmeyen gruplarda arttığını ve propolis tedavi gruplarında azaldığını bildirmişlerdir. Ancak bu çalışmada da farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Ayrıca plazma TNF- $\alpha$  seviyeleri gruplar arasında benzer bulundu. Nishihara ve

ark.(2009) deneysel diyabet ve periodontitis oluşturdıkları farelerde 2 hafta boyunca serum TNF- $\alpha$  düzeylerini değerlendirdikleri çalışmalarında TNF- $\alpha$  düzeylerinin arttığını ancak üçüncü günden sonra azaldığını bildirmişlerdir. Takano ve ark. (2010) benzer şekilde diyabetik farelerde periodontitis oluşturmuşlar ve sitokin düzeylerinin anlamlı şekilde arttığını rapor etmişlerdir. Çalışmalarda ortaya çıkan bu farklılıkların periodontitis indüklenme yöntemlerindeki ve çalışma sürelerindeki farklılıktan ileri geldiği düşünülmüştür.

Tüm bunlara ek olarak tıbbi olarak preparatları hazırlanırken karşımıza çıkan en önemli sorun propolisin heterojen bileşiminin olmasıdır. Çünkü propolisin bileşimi arazinin bitki örtüsüne göre değişmektedir (Samet ve diğerleri, 2007). Propolisin bileşimi ülkelerin bitki örtüsüne göre farklılık göstermesi propolisin standardize edilmesini zorlaştırmaktadır (Bankova, 2005).

CRP, karaciğer tarafından enfeksiyon veya doku hasarına yanıt olarak üretilen bir akut faz proteindir (Machado ve diğerleri, 2021). CRP ve periodontitis arasındaki ilişki, kısmen periodontitis ve kardiyovasküler hastalık arasındaki bağlantı nedeniyle büyük ilgi görmüştür (Paraskevas ve diğerleri, 2008; Bansal ve diğerleri, 2014). CRP'nin periodontitisin diğer sistemik hastalıklarla ilişkisinin bir belirteci olarak kullanılması yaygındır (Hajishengallis ve diğerleri, 2021). Yapılan çalışmada herhangi bir tedavi uygulanmayan negatif kontrol grubunda serum CRP düzeyi diğer tüm gruplardan yüksek bulunmuş; propolis içeren jel tedavi gruplarında azaldığı saptanmıştır. Ancak gruplar arası serum CRP düzeylerindeki değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Periodontitis ve CRP düzeyleri ile ilgili çalışmaların değerlendirildiği bir meta analiz derlemesinde sistematik olarak sağlıklı olmayan periodontitisli hastalar ile serum CRP düzeyleri arasında ilişki olduğu rapor edilmiştir. Tek başına periodontitis olan hastaların yüksek CRP düzeyinde sahip olduğu ancak sistemik hastalıkta CRP de daha şiddetli artışa neden olduğu bildirilmiş ve ayrıca yapılan literatür incelemelerinde periodontitisin agresif formlarının CRP düzeyinde daha ciddi artışa neden olduğu bildirilmiştir. Nitekim yaptığımız çalışmada da deneysel olarak periodontit indüklenmiş ve CRP'nin istatistiksel olmayan düzeyde arttığı görüldü. Çalışmada kullanılan ratlar sağlıklı erişkin ratlardan tercih edilmiştir, ligatür uygulanarak periodontitis oluşturulmuş ve tedavi süresi 7 gün olarak belirlenmiştir. Dolayısıyla ortaya çıkan düşük düzeydeki artış periodontitisin sistemik enflamatorik bir süreçle ilişkili olmamasıyla açıklanabilir.



Periodontitisli hastalarla yapılan çalışmaların değerlendirildiği bir metaanaliz çalışmasında periodontitisin sağlıklı kontrollere kıyaslandığında bazı hematolojik değişikliklere neden olduğu bildirilmiştir (Bothello ve diğerleri, 2020). Bu değişiklikler genel olarak yüksek WBC, yüksek nötrofil seviyesi ile düşük sedimantasyon oranı ve PCV olarak kaydedilmiştir. Bu çalışmada deneysel periodontitis oluşturulmuş ratlarda sağlıklı kontrolle kıyaslandığında WBC ve lenfosit sayılarının arttığı tedavi gruplarında azalma eğilimi gösterdiği belirlendi. Değişiklikler arasında istatistiki fark olmasa da bu sonuçlar daha önce yapılmış çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur. Bu çalışmada PCT düzeylerindeki azalma sağlıklı kontrol ile tedavi edilmeyen negatif kontrol grubu arasında istatistiki olarak önemli bulundu.

Enflamasyon, patojenler, hasarlı hücreler ve toksik maddeler dahil olmak üzere çeşitli faktörler tarafından tetiklenen önemli bir konakçı bağışıklık tepkisidir. Konakçı tarafından yeni bir enflamatuvar uyaran tanımlandığında, hücreler ve humoral değişiklikler başlatılır. Enflamasyonun izlenmesi için WBC ve eritrosit sedimentasyon hızı güvenilir ve ucuz hematolojik seçenekler olarak tanımlanmıştır. Akut enflamatorik süreç bitip kronik evreye geçildiğinde önemli sistemik etkiler oluşabilir. Diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar dahil tüm bulaşıcı olmayan hastalıkların ortak bir kronik enflamatuvar temele sahip olduğu kabul edilmektedir. Yaygın kronik hastalıkların hem başlangıcını hem de ilerlemesini ve bunların komplikasyonlarını etkileyebileceğinden, tüm enflamatuvar tetikleyici faktörlerin anlaşılması önem arz etmektedir.

Periodontitiste multifaktoriyel kronik bir enflamatuvar hastalık olarak dünya çapında diş kayıplarının önemli nedenlerinden biridir. Enflamatuvar hücre filtratı sadece diş eti dokusunda değil aynı zamanda sistemik değişikliklere de neden olabilir. Periodontitise bağlı sistemik yansımalar yoğun şekilde araştırılmaktadır ve bu değişikliklerin belirlenmesinde hematoloji bulguları önemli rol oynar. Yakın zamanda yapılan sistemik bir araştırmada periodontitisli hastalarda demir ve ferritin düzeylerinin değiştiğine dair ön gözlemsel kanıtları doğrulamıştır (Chakraborty ve diğerleri, 2014; Nibali ve diğerleri, 2019). Benzer şekilde, periodontitisli hastaların WBC ve trombosit sayılarında değişikliklerin ortaya çıktığı görülmektedir (Nibali ve diğerleri, 2019; Anand ve diğerleri, 2016). Periodontitis ile artan WBC ve nötrofil sayıları arasındaki ilişki çeşitli mekanizmalarla açıklanabilir. Diş etindeki uyaran enflamatuvar infiltrattan zengin lökositlerle karakterize olup bu da daha sonra sistemik dolaşıma atılabilir (Ryder, 2010; Hirschfeld, 2014). Alternatif olarak lokal sürekli enflamatuvar ve bakteriyel etkileşimi sayesinde kemik iliğini kronik olarak daha fazla sayıda

enflamatuvar hücre üretmesi için uyarabilir (Belkaid ve Hand, 2014). Ek olarak; periodontal bakteriler, ülserli epitel yoluyla periodontal dokuları istila edebilir ve herhangi bir zararlı etkiye karşı koymak için bir sistemik yanıtı tetikleyebilir. Bu çalışmada elde edilen hematolojik sonuçlar daha önce yapılmış çalışmalarla uyumlu bulunmuştur. Periodontitis oluşturma yöntemi ve süreye bağlı olarak daha düşük bir yanıtı neden olduğu söylenebilir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Doğal bir ürün olan propolis dünyada ve Türkiye’de antibakteriyel, antifungal, antiviral, antiinflamatuvar, antioksidan, lokal anestezi ve immünostimülatör etkileri nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Deneysel periodontit oluşturulmuş ratlarda propolis içeren mukoadesiv jel uygulamasının histopatolojik ve biyokimyasal parametreler üzerine etkilerinin incelendiği bu çalışmada incelenen IL- 1 $\beta$ , IL- 6, TNF- $\alpha$  gibi proenflamatuvar sitokinler ile enflamasyon belirteci CRP konsantrasyonlarında istatistiki olarak anlamlı değişikliklere neden olmadığı saptandı. Ancak CRP konsantrasyonunun ve TNF- $\alpha$  düzeylerinin özellikle propolisli jel uygulanan ratlarda düşme eğilimi gösterdiği belirlendi. Bu sonuçlar propolis içeren mukoadesiv jelin periodontal hastalıkların sebep olduğu enflamasyonun sistemik bulgularının azaltılmasında doku yıkımının önlenmesine ve iyileşmeye ilave katkılar sağlayabileceğini gösterdi. Benzer sonuçlar histolojik açıdan da doğrulanmıştır. Ancak mukoadesiv jel şeklinde uygulanan propolisin etkilerinin inceleneceği daha detaylı çalışmalara gerek vardır. Planlanacak yeni çalışmalarda değişik periodontitis indüklemeye yöntemleri, denek sayısının artırılması ve farklı doz uygulamaları denenmesi bu konudaki verilerin artışına olanak sağlayacaktır.

Propolis farmasötik açıdan önemli bir yere sahiptir. Propolisi mukoadesiv jel formunda uygulamak yeni bir yaklaşım olarak önemlidir. Daha sonra yapılacak çalışmalarda jelin fizikokimyasal özellikleri incelenerek ve standardizasyonu yapılarak propolisin bu formda daha etkili olabilmesinin sağlanabileceği öngörülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Aas, J. A., Paster, B. J., Stokes, L. N., Olsen, I., Dewhirst, F. E. (2005). Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(11), 5721-5732.
- Aldemir, O., Memmedov, H. (2019). Propolisin Bileşenlerinden Olan Kafeik Asit Fenil Esterin Antiinflamatuvar Etkileri. *Arıcılık Araştırma Dergisi*, 11(2), 43-47.
- Anand, P. S., Sagar, D. K., Mishra, S., Narang, S., Kamath, K. P., Anil, S. (2016). Total and differential leukocyte counts in the peripheral blood of patients with generalised aggressive periodontitis. *Oral Health Prev Dent*, 14, 443-50.
- Aral, C. A., Kesim, S., Greenwell, H., Kara, M., Çetin, A., Yakan, B. (2015). Alveolar bone protective and hypoglycemic effects of systemic propolis treatment in experimental periodontitis and diabetes mellitus. *Journal of Medicinal Food*, 18(2), 195-201.
- Armitage, G. C. (1999). Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Annals of Periodontology*, 4(1), 1-6.
- Arslan, S., Perçin, D., Silici, S. (2010). The in vitro effects of propolis extracts prepared with different solvents on mutans streptococci. *J Health Sci*, 19, 68-73.
- Arts, I. C., Hollman, P. C., Kromhout, D. (1999). Chocolate as a source of tea flavonoids. *The Lancet*, 354(9177), 488.
- Bankova, V. (2005). Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(1-2), 114-117.
- Bankova, V. S., de Castro, S. L., Marcucci, M. C. (2000). Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, 31(1), 3-15.
- Bansal, T., Pandey, A., Deepa, D., Asthana, A. K. (2014). C-reactive protein (CRP) and its association with periodontal disease: a brief review. *Journal of Clinical And Diagnostic Research: JCDR*, 8(7), ZE21.

- Barbarić, M., Mišković, K., Bojić, M., Lončar, M. B., Smolčić-Bubalo, A., Debeljak, Ž., Medić-Šarić, M. (2011). Chemical composition of the ethanolic propolis extracts and its effect on HeLa cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 135(3), 772-778.
- Belkaid, Y., Hand, T. W. (2014). Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell*, 157(1), 121-141.
- Botelho, J., Leira, Y., Viana, J., Machado, V., Lyra, P., Aldrey, J. M., ... Mendes, J. J. (2021). The Role of Inflammatory Diet and Vitamin D on the Link between Periodontitis and Cognitive Function: A Mediation Analysis in Older Adults. *Nutrients*, 13(3), 924.
- Boyanova, L., Derejian, S., Koumanova, R., Katsarov, N., Gergova, G., Mitov, I., ... Krastev, Z. (2003). Inhibition of *Helicobacter pylori* growth in vitro by Bulgarian propolis: preliminary report. *Journal of Medical Microbiology*, 52(5), 417-419.
- Burdock, G. A. (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food and Chemical Toxicology*, 36(4), 347-363.
- Cao, G., Sofic, E., Prior, R. L. (1997). Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radical Biology and Medicine*, 22(5), 749-760.
- Carswell, E. A., Old, L. J., Kassel, R., Green, S., Fiore, N., Williamson, B. (1975). An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 72(9), 3666-3670.
- Castaldo, S., Capasso, F. (2002). Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*, 73, S1-S6.
- Chakraborty, S., Tewari, S., Sharma, R. K., Narula, S. C. (2014). Effect of non- surgical periodontal therapy on serum ferritin levels: an interventional study. *Journal of Periodontology*, 85(5), 688-696.
- Cho, M. J., Howard, L. R., Prior, R. L., Clark, J. R. (2004). Flavonoid glycosides and antioxidant capacity of various blackberry, blueberry and red grape genotypes determined by high- performance liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(13), 1771-1782.

- Çimen, F., Polat, H., Ekici, L. (2020). Polifenollerin Bağırsak Mikrobiyota Kompozisyonunu Düzenleyici ve Nöroprotektif Etkileri. *Akademik Gıda*, 18(2), 190-208.
- D'Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., Masella, R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-Istituto Superiore di Sanita*, 43(4), 348.
- Dahlen, G. (1993). Role of suspected periodontopathogens in microbiological monitoring of periodontitis. *Advances in Dental Research*, 7(2), 163-174.
- Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A., Spencer, J. P., Tognolini, M., Borges, G., Crozier, A. (2013). Dietary (poly) phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxidants Redox Signaling*, 18(14), 1818-1892.
- Demir, A., Seventekin, N. (2009). Kitin, kitosan ve genel kullanım alanları. *Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 3(2), 92-103.
- Dennison, D. K., VAN DYKE, T. E. (1997). The acute inflammatory response and the role of phagocytic cells in periodontal health and disease. *Periodontology 2000*, 14(1), 54-78.
- Dietrich, T., Sharma, P., Walter, C., Weston, P., Beck, J. (2013). The epidemiological evidence behind the association between periodontitis and incident atherosclerotic cardiovascular disease. *Journal of Periodontology*, 84, S70-S84.
- Dinarello, C. A. (2011). Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 117(14), 3720-3732.
- Dodane, V., Khan, M. A., Merwin, J. R. (1999). Effect of chitosan on epithelial permeability and structure. *International Journal of Pharmaceutics*, 182(1), 21-32.
- Dutta, P. K., Ravikumar, M. N. V., Dutta, J. (2002). Chitin and chitosan for versatile applications. *Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews*, 42(3), 307-354.
- Eroğlu, H. E., Tatlışen, A., Özkul, Y. (2004). Mesane kanserli doku kültürlerindeki mikronükleus üzerine propolis ve mitomisin-c'nin etkileri. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 13(2), 15-21.

- Fabre, N., Rustan, I., de Hoffmann, E., Quetin-Leclercq, J. (2001). Determination of flavone, flavonol, and flavanone aglycones by negative ion liquid chromatography electrospray ion trap mass spectrometry. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 12(6), 707-715.
- Farquharson, D., Butcher, J. P., Culshaw, S. (2012). Periodontitis, Porphyromonas, and the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Mucosal Immunology*, 5(2), 112-120.
- Fuliang, H. U., Hepburn, H. R., Xuan, H., Chen, M., Daya, S., Radloff, S. E. (2005). Effects of propolis on blood glucose, blood lipid and free radicals in rats with diabetes mellitus. *Pharmacological Research*, 51(2), 147-152.
- Gao, W., Wu, J., Wei, J., Pu, L., Guo, C., Yang, J., ... Luo, H. (2014). Brazilian green propolis improves immune function in aged mice. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 55(1), 7-10.
- Genco, R. J., Borgnakke, W. S. (2013). Risk factors for periodontal disease. *Periodontology 2000*, 62(1), 59-94.
- Gendron, R., Grenier, D., Maheu-Robert, L. F. (2000). The oral cavity as a reservoir of bacterial pathogens for focal infections. *Microbes and Infection*, 2(8), 897-906.
- Ghisalberti, E. L. (1979). Propolis: a review. *Bee World*, 60(2), 59-84.
- Graves, D. T., Cochran, D. (2003). The contribution of interleukin- 1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *Journal of Periodontology*, 74(3), 391-401.
- Graves, D. T., Kang, J., Andriankaja, O., Wada, K., Rossa Jr, C. (2012). Animal models to study host-bacteria interactions involved in periodontitis. *Periodontal Disease*, 15, 117-132.
- Grossi, S. G., Genco, R. J., Machtet, E. E., Ho, A. W., Koch, G., Dunford, R., ... Hausmann, E. (1995). Assessment of risk for periodontal disease. II. Risk indicators for alveolar bone loss. *Journal of Periodontology*, 66(1), 23-29.
- Grossi, S. G., Zambon, J. J., Ho, A. W., Koch, G., Dunford, R. G., Machtei, E. E., ... Genco, R. J. (1994). Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss. *Journal of Periodontology*, 65(3), 260-267.

Haddadin, M. S. Y., Nazer, I., Jamal, S., Raddad, A., Robinson, R. K. (2008). Effect of propolis on two bacterial species with probiotic potential.

Hajishengallis, G., Chavakis, T. (2021). Local and systemic mechanisms linking periodontal disease and inflammatory comorbidities. *Nature Reviews Immunology*, 1-15.

Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(10), 572-584.

Henderson, B., Wilson, M. (1998). Commensal communism and the oral cavity. *J Dent Res*, 77(9), 1674-1683.

Hepburn, H. R., Kurstjens, S. P. (1984). On the strength of propolis (bee glue). *Naturwissenschaften*, 71(11), 591-592.

Hirschfeld, J. (2014). Dynamic interactions of neutrophils and biofilms. *Journal of Oral Microbiology*, 6(1), 26102.

<https://www.microbiologybook.org / Turkishimmunol/ immunol chapter13turk.htm>

<https://www.anzerbali.com.tr/propolis-damla>

<https://www.tipacilar.com/tumor-nekroz-faktoru-tnf>

Ionel, A., Lucaciu, O., Moga, M., Buhatel, D., Ilea, A., Tabaran, F., ... Campian, R. S. (2015). Periodontal disease induced in Wistar rats-experimental study. *Human and Veterinary Medicine*, 7(2), 90-95.

Isla, M. I., Moreno, M. N., Sampietro, A. R., Vattuone, M. A. (2001). Antioxidant activity of Argentine propolis extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 76(2), 165-170.

Kamer, A. R., Craig, R. G., Dasanayake, A. P., Brys, M., Glodzik-Sobanska, L., de Leon, M. J. (2008). Inflammation and Alzheimer's disease: possible role of periodontal diseases. *Alzheimer's Dementia*, 4(4), 242-250.

Kanbur, M., Eraslan, G., Silici, S. (2009). Antioxidant effect of propolis against exposure to propetamphos in rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(3), 909-915.



- Kaya, E. G., Özbilge, H. (2011). Lipopolisakkarit ile uyarılmış makrofajlarda propolis' in sitokin salınımı üzerine etkileri. *Journal of Clinical Experimental Investigations/Klinik ve Deneysel Arastirmalar Dergisi*, 2(4).
- Kayaoglu, G., Ömürlü, H., Akca, G., Gürel, M., Gençay, Ö., Sorkun, K., Salih, B. (2011). Antibacterial activity of Propolis versus conventional endodontic disinfectants against *Enterococcus faecalis* in infected dentinal tubules. *Journal of Endodontics*, 37(3), 376-381.
- Khayyal, M. T., El- Ghazaly, M. A., El- Khatib, A. S., Hatem, A. M., De Vries, P. J. F., El-Shafei, S., Khattab, M. M. (2003). A clinical pharmacological study of the potential beneficial effects of a propolis food product as an adjuvant in asthmatic patients. *Fundamental Clinical Pharmacology*, 17(1), 93-102.
- Kinane, D. F. (2001). Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology 2000*, 25(1), 8-20.
- Kinane, D. F., Mark Bartold, P. (2007). Clinical relevance of the host responses of periodontitis. *Periodontology 2000*, 43(1), 278-293.
- Koç, B. E., Özkan, M. (2011). gıda endüstrisinde kitosanın kullanımı. *Gıda/The Journal Of Food*, 36(3).
- Kolenbrander, P. E., Andersen, R. N., Blehert, D. S., Eglund, P. G., Foster, J. S., Palmer, R. J. (2002). Communication among oral bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 66(3), 486-505.
- Koo, H., Cury, J. A., Rosalen, P. L., Ambrosano, G. M., Ikegaki, M., Park, Y. K. (2002). Effect of a mouthrinse containing selected propolis on 3-day dental plaque accumulation and polysaccharide formation. *Caries Research*, 36(6), 445-448.
- Koo, H., Gomes, B. P. F. A., Rosalen, P. L., Ambrosano, G. M. B., Park, Y. K., Cury, J. A. (2000). In vitro antimicrobial activity of propolis and *Arnica montana* against oral pathogens. *Archives of Oral Biology*, 45(2), 141-148.
- Köksal, B. (2011). *Streptozotozin ile diyabet oluşturulan sıçanlarda propolisin öğrenme ve bellek üzerine etkisi*. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Malatya.

- Kumar, M. N. R. (2000). A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and functional Polymers*, 46(1), 1-27.
- Kun-Suk, W., Jong-Sung, P. (1997). Eucalyptus Propolis Beverages with Their Composition and Effects. In *Bee Products* (pp. 125-127). Springer, Boston, MA.
- Kutluca, S., Genç, F., Korkmaz, A. (2006). Propolis. Samsun Tarım İl Müdürlüğü Çiftçi Eğitimi ve Yayım Şubesi, Samsun, 57.
- Küşümler, A. S., Çelebi, A. (2021). Propolis ve Sağlık Üzerine Etkileri. *Akademik Gıda*, 19(1), 89-97.
- Lamster, I. B., Lalla, E. (2001). Periodontal disease and diabetes mellitus: discussion, conclusions, and recommendations. *Annals of Periodontology*, 6(1), 146-149.
- Lamster, I. B., Grbic, J. T., Bucklan, R. S., Mitchell- Lewis, D., Reynolds, H. S., Zambon, J. J. (1997). Epidemiology and diagnosis of HIV- associated periodontal diseases. *Oral Diseases*, 3(S1), S141-S148.
- Lee, K. W., Chun, K. S., Lee, J. S., Kang, K. S., Surh, Y. J., Lee, H. J. (2004). Inhibition of cyclooxygenase- 2 expression and restoration of gap junction intercellular communication in H- ras- transformed rat liver epithelial cells by caffeic acid phenethyl ester. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1030(1), 501-507.
- Lindhe, J., Okamoto, H., Yoneyama, T., Haffajee, A., Socransky, S. S. (1989). Longitudinal changes in periodontal disease in untreated subjects. *J Clin Periodontol*, 16(10), 662-670.
- Loesche, W. J., Grossman, N. S. (2001). Periodontal disease as a specific, albeit chronic, infection: diagnosis and treatment. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(4), 727-752.
- Machado, V., Botelho, J., Escalda, C., Hussain, S. B., Luthra, S., Mascarenhas, P., ... D'Aiuto, F. (2021). Serum C-reactive protein and periodontitis: A systematic review and meta-analysis. *Frontiers In Immunology*, 3054.
- Marcucci, M. C., Ferreres, F., Garcia-Viguera, C., Bankova, V. S., De Castro, S. L., Dantas, A. P., Paulino, N. (2001). Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 74(2), 105-112.

- Marsh, P. D. (2003). Are dental diseases examples of ecological catastrophes?. *Microbiology*, 149(2), 279-294.
- Marsh, P. D., Percival, R. S. (2006). The oral microflora—friend or foe? Can we decide?. *International Dental Journal*, 56, 233-239.
- Mirzoeva, O. K., Grishanin, R. N., Calder, P. C. (1997). Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. *Microbiological Research*, 152(3), 239-246.
- Mohammadzadeh, S., Sharriatpanahi, M., Hamed, M., Amanzadeh, Y., Ebrahimi, S. E. S., Ostad, S. N. (2007). Antioxidant power of Iranian propolis extract. *Food Chemistry*, 103(3), 729-733.
- Moreno, M. N., Isla, M. I., Cudmani, N. G., Vattuone, M. A., Sampietro, A. R. (1999). Screening of antibacterial activity of Amaicha del Valle (Tucumán, Argentina) propolis. *Journal of Ethnopharmacology*, 68(1-3), 97-102.
- Murad, J. M., Calvi, S. A., Soares, A. M. V. C., Bankova, V., Sforcin, J. M. (2002). Effects of propolis from Brazil and Bulgaria on fungicidal activity of macrophages against *Paracoccidioides brasiliensis*. *Journal of Ethnopharmacology*, 79(3), 331-334.
- Murray, M. C., Worthington, H. V., Blinkhorn, A. S. (1997). A study to investigate the effect of a propolis- containing mouthrinse on the inhibition of de novo plaque formation. *Journal of Clinical Periodontology*, 24(11), 796-798.
- Mülazimoğlu, İ. E. (2008). Camsı karbon elektrot yüzeyine çeşitli flavonoid türevlerinin modifikasyonu, yüzey karakterizasyonu, elektrokimyasal ve spektroskopik özelliklerinin incelenmesi.
- Newman, M. G., Takei, H. H., Carranza, F. A. (2002). Carranza's Clinical Periodontology. 9 ed. Philadelphia, PA.: W.B. Saunders Company.
- Nibali, L., Darbar, U., Rakmanee, T., Donos, N. (2019). Anemia of inflammation associated with periodontitis: Analysis of two clinical studies. *Journal of Periodontology*, 90(11), 1252-1259.

- Nikiforuk, G. (1985). *Understanding Dental Caries*. 1. Etiology and Mechanisms, Basic and Clinical Aspects, 125-127.
- Nishihara, R., Sugano, N., Takano, M., Shimada, T., Tanaka, H., Oka, S., Ito, K. (2009). The effect of Porphyromonas gingivalis infection on cytokine levels in type 2 diabetic mice. *Journal of Periodontal Research*, 44(3), 305-310.
- Nishihara, T., Koseki, T. (2004). Microbial etiology of periodontitis. *Periodontology* 2000, 36(1), 14-26.
- No, H. K., Park, N. Y., Lee, S. H., Meyers, S. P. (2002). Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *International Journal of Food Microbiology*, 74(1-2), 65-72.
- Noori, A. L., Al Ghamdi, A., Ansari, M. J., Al-Attal, Y., Al-Mubarak, A., Salom, K. (2013). Differences in composition of honey samples and their impact on the antimicrobial activities against drug multiresistant bacteria and pathogenic fungi. *Archives of Medical Research*, 44(4), 307-316.
- Noronha, I. L., Niemir, Z., Stein, H., Waldherr, R. (1995). Cytokines and growth factors in renal disease. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 10(6), 775-786.
- Nyvad, B. E. N. T. E., Kilian, M. O. G. E. N. S. (1987). Microbiology of the early colonization of human enamel and root surfaces in vivo. *Scandinavian Journal of Dental Research*, 95(5), 369-380.
- Oliver, R. C., Brown, L. J., Løe, H. (1998). Periodontal diseases in the United States population. *Journal of Periodontology*, 69(2), 269-278.
- Olsen, I. (2015). From the acta prize lecture 2014: The periodontal-systemic connection seen from a microbiological standpoint: Summary of the Acta Odontologica Scandinavia Price lecture 2014 presented at the meeting of the IADR/Pan European region in Dubrovnik, September 10–13. 2014. *Acta Odontologica Scandinavica*, 73(8), 563-568.
- Orsolich, N., Basic, I. (2003). Immunomodulation by water-soluble derivative of propolis: a factor of antitumor reactivity. *Journal of Ethnopharmacology*, 84(2-3), 265-273.
- Oryan, A., Alemzadeh, E., Moshiri, A. (2018). Potential role of propolis in wound healing: Biological properties and therapeutic activities. *Biomedicine Pharmacotherapy*, 98, 469-483.

- Ozkul, Y., Silici, S., Eroğlu, E. (2005). The anticarcinogenic effect of propolis in human lymphocytes culture. *Phytomedicine*, 12(10), 742-747.
- Paraskevas, S., Huizinga, J. D., Loos, B. G. (2008). A systematic review and meta- analyses on C- reactive protein in relation to periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 35(4), 277-290.
- Park, Y. K., Alencar, S. M., Aguiar, C. L. (2002). Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(9), 2502-2506.
- Parolia, A., Kundabala, M., Rao, N. N., Acharya, S. R., Agrawal, P., Mohan, M., Thomas, M. (2010). A comparative histological analysis of human pulp following direct pulp capping with Propolis, mineral trioxide aggregate and Dycal. *Australian Dental Journal*, 55(1), 59-64.
- Pattnaik, S., Priyadarshini, S., Niyogi, P., Maharana, L. (2016). Formulation and Evaluation of Microencapsulated Levofloxacin Gel. *Research Reviews: A Journal of Drug Formulation, Development and Production*, 3(1), 39-47.
- Pellati, F., Prencipe, F. P., Bertelli, D., Benvenuti, S. (2013). An efficient chemical analysis of phenolic acids and flavonoids in raw propolis by microwave-assisted extraction combined with high-performance liquid chromatography using the fused-core technology. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 81, 126-132.
- Popova, M., Silici, S., Kaftanoglu, O., Bankova, V. (2005). Antibacterial activity of Turkish propolis and its qualitative and quantitative chemical composition. *Phytomedicine*, 12(3), 221-228.
- Rickard, A. H., Gilbert, P., High, N. J., Kolenbrander, P. E., Handley, P. S. (2003). Bacterial coaggregation: an integral process in the development of multi-species biofilms. *Trends in Microbiology*, 11(2), 94-100.
- Rojczyk, E., Klama-Baryła, A., Łabuś, W., Wilemska-Kucharzewska, K., Kucharzewski, M. (2020). Historical and modern research on propolis and its application in wound healing and other fields of medicine and contributions by Polish studies. *Journal of Ethnopharmacology*, 113159.

- Ryder, M. I. (2010). Comparison of neutrophil functions in aggressive and chronic periodontitis. *Periodontology 2000*, 53(1), 124-137.
- Samet, N., Laurent, C., Susarla, S. M., Samet-Rubinsteen, N. (2007). The effect of bee propolis on recurrent aphthous stomatitis: a pilot study. *Clinical Oral Investigations*, 11(2), 143-147.
- Seven, İ., Taylan, A. K. S. U., SEVEN, P. T. (2007). Propolis ve hayvan beslemede kullanımı. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 18(2), 79-84.
- Seymour, G. J., Gemmell, E. (2001). Cytokines in periodontal disease: where to from here?. *Acta Odontologica Scandinavica*, 59(3), 167-173.
- Silici S. (2003). *Propolisin Bazı antimikrobiyal ve farmakolojik aktiviteleri üzerine bir araştırma* [Doktora Tezi]. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı; Adana.
- Silici, S., Kutluca, S. (2005). Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *Journal of Ethnopharmacology*, 99(1), 69-73.
- Singh, A. V. (2011). Biopolymers in drug delivery: a review. *Pharmacologyonline*, 1, 666-674.
- Singh, M., Briones, M., O'Hagan, D. T. (2001). A novel bioadhesive intranasal delivery system for inactivated influenza vaccines. *Journal of Controlled Release*, 70(3), 267-276.
- Skaba, D., Morawiec, T., Tanasiewicz, M., Mertas, A., Bobela, E., Szliszka, E., Król, W. (2013). Influence of the toothpaste with brazilian ethanol extract propolis on the oral cavity health. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
- Smart, J.D., (2005). The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. *Adv. Drug Del. Rev.*, 57: 1556-1568.
- Socransky, S. S., Haffajee, A. D. (2005). Periodontal microbial ecology. *Periodontology 2000*, 38(1), 135-187.

- Sorkun, K., Süer, B., Salih, B. (2001). Determination of chemical composition of Turkish propolis. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 56(7-8), 666-668.
- Struillou, X., Boutigny, H., Soueidan, A., Layrolle, P. (2010). Experimental animal models in periodontology: a review. *The Open Dentistry Journal*, 4, 37.
- Suddick, R. P., Harris, N. O. (1990). Historical perspectives of oral biology: a series. *Critical Reviews in Oral Biology Medicine*, 1(2), 135-151.
- Şahinler, N. (2000). Arı ürünleri ve insan sağlığı açısından önemi. *MKÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 5(1-2), 139-148.
- Takano, M., Nishihara, R., Sugano, N., Matsumoto, K., Yamada, Y., Takane, M., ... Ito, K. (2010). The effect of systemic anti-tumor necrosis factor-alpha treatment on Porphyromonas gingivalis infection in type 2 diabetic mice. *Archives of Oral Biology*, 55(5), 379-384.
- Tatakis, D. N., Trombelli, L. (2004). Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis. I. Background review and rationale. *J Clin Periodontol*, 31(4), 229-238.
- Taylor, J.J. (2010). Cytokine regulation of immune responses to Porphyromonas gingivalis. *Periodontol 2000*, 54(1), 160-194.
- Türkez, H., Yousef, M. I., Geyikoglu, F. (2010). Propolis prevents aluminium-induced genetic and hepatic damages in rat liver. *Food and Chemical Toxicology*, 48(10), 2741-2746.
- Van Snick, J. (1990). Interleukin-6: an overview. *Annual Review of Immunology*, 8(1), 253-278.
- Vasconcelos, M. W. (2014). Chitosan and chitooligosaccharide utilization in phytoremediation and biofortification programs: current knowledge and future perspectives. *Frontiers in Plant Science*, 5, 616.
- Volanakis, J. E. (2001). Human C-reactive protein: expression, structure, and function. *Molecular Immunology*, 38(2-3), 189-197.
- Vynograd, N., Vynograd, I., Sosnowski, Z. (2000). A comparative multi-centre study of the efficacy of propolis, acyclovir and placebo in the treatment of genital herpes (HSV). *Phytomedicine*, 7(1), 1-6.

Wang, L., Lee, I. M., Zhang, S. M., Blumberg, J. B., Buring, J. E., Sesso, H. D. (2009). Dietary intake of selected flavonols, flavones, and flavonoid-rich foods and risk of cancer in middle-aged and older women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 89(3), 905-912.

Warren, K. R., Postolache, T. T., Groer, M. E., Pinjari, O., Kelly, D. L., Reynolds, M. A. (2014). Role of chronic stress and depression in periodontal diseases. *Periodontology* 2000, 64(1), 127-138.

Ziaran, H. R., Rahmani, H. R., Pourreza, J. (2005). Effect of dietary oil extract of propolis on immune response and broiler performance. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 8(10), 1485-1490.

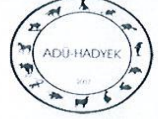


## EKLER

### Ek- 1 HADYEK (Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul ) Onay Sayfası



T.C.  
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU  
(AYDIN ADÜ-HADYEK)



Aydın, 28/10/2020

**Oturum** : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2020 Yılı V. Oturum  
**Sayı** : 64583101/2020/104  
**Proje Başlığı** : Deneysel Periodontitis Oluşturulmuş Ratlarda Propolis İçeren Mukoadesiv Jelin Etkileri.  
**Proje Yürütücüsü** : Pınar Alkım ULUTAŞ  
**Proje Ekibi** : Ömer EBREM

**Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:**

İnsan embriyosu ve fötüsü kullanılması  
İnsan embriyosu ve fötüsü dokularının kullanılması  
Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması

**Hayvan Çalışması**

İnsanlarda araştırma  
İnsan olmayan primatların kullanılması  
Transgenik hayvanların kullanılması  
Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.

**Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır.**

Prof. Dr. Murat SABERLER  
Başkan

Prof. Dr. M. Dinçer BİLGEN  
Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Turhan DOST  
Üye

Prof. Dr. Oğuz TÜRKÖZAN  
Üye

Prof. Dr. Işıl SÖNMEZ  
Üye

Doç. Dr. Serkan BAKIRCI  
Üye

(Toplantıya Katılmadı)  
Dr. Öğr. Üyesi Umur  
DEMETOĞLU  
Üye

Dr. Öğr. Üyesi A. Önder  
ÜSTÜNDAĞ  
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Aysun KOÇ  
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Solmaz  
KARAARSLAN  
Üye

Öğr. Gör. Dr. Asude Gülce  
GÜLER Sor. Vet. Hek.  
Üye

Vet. Hek. Dr. Serdar AKTAŞ  
Sor. Vet. Hek.  
Üye

(Toplantıya Katılmadı)  
Hidayet YAMAN  
Serbest Vet. Hek. Üye

(Toplantıya Katılmadı)  
Şenay TEKİNBAŞ  
HAYTAP Üye.

Mustafa ZOBANOĞLU  
Sivil Üye

Bu rapor, sadece Adnan Menderes Üniversitesi'nde yapılacak çalışmalar için geçerlidir.

**T.C.**  
**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİLİMSEL ETİK BEYANI**

“Deneysel Periodontitis Oluşturulmuş Ratlarda Propolis İçeren Mukoadesiv Jelin Etkileri” başlıklı Yüksek Lisans tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

.....

Ömer EBREM

... / ... / ...

## ÖZ GEÇMİŞ

**Soyadı, Adı**

: EBREM, Ömer