

PROPOLİSİN İZOLE SIÇAN KALBİNDE MİYOKARDİYAL İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINA ETKİSİ

Effect of Propolis on Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury in Isolated Rat Heart

H. Fatih AŞĞÜN¹, Turgut Alperen ASLANER¹

ÖZET

Amaç: Açık kalp cerrahisi esnasında oluşan miyokardiyal iskemi ve reperfüzyon hasarının, vitamin E gibi antioksidanlar tarafından azaltılabildiği gösterilmiştir. Bir arı ürünü olan propolis, antioksidan ve immünstimülan etkileri ile bilinir. Bu çalışmada oral propolis uygulamasının antioksidan mekanizmalar üzerinden miyokardiyal iskemi ve reperfüzyon hasarına etkileri araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntemler: 32 adet siçan propolis (grup P), vitamin E (grup E), kontrol (grup K) ve sham (grup S) gruplarına eşit olarak dağıtıldı. Oral propolis ve vitamin E sırasıyla grup P ve E'deki deneklere 21 gün süre ile gavaj yolu ile uygulandı. Deney günü Langendorff düzeneğine asılan siçan kalplerinde 30 dakikalık perfüzyonla stabilizasyon sağlandı. Akabinde grup P, E ve K'ye kardioplejik solüsyon verildi, grup S'ye verilmedi. Ardından 45 dk iskemi ve 30 dk reperfüzyon uygulandı. Deney süresince sol ventrikül ve aort basınçları kaydedildi. Koroner perfüzyon atk sıvısından iskemi öncesi ve sonrasında alınan örneklerde laktat dehidrogenaz, kreatinin kinaz, kreatinin kinaz-miyokard bandı ve troponin I, total antioksidan durum, total oksidan durum, toplam tiyol, doğal tiyol ve disülfid düzeyleri ölçüldü. Oksidatif stres indeksi, doğal tiyol/toplam tiyol oranı, disülfid/doğal tiyol oranı ve disülfid/toplam tiyol oranı hesaplandı.

Bulgular: Grup P'de iskemi öncesi aort basıncı diğer gruplara kıyasla anlamlı düzeyde düşük ($p=0,046$), iske mi sonrası sol ventrikül sistolik ve türetilmiş basınçları ise diğer gruplara kıyasla anlamlı yüksekti (sırasıyla $p=0,018$ ve $p=0,011$). Grup E ve K'de antioksidan kapasite anlamlı düzeyde yüksekken oksidatif stres düşük bulunmuştur. Grup P ve E'de toplam tiyol ve disülfid düzeyleri anlamlı düzeyde düşük olduğu belirlenmiştir. Gruplar arasında iskemi öncesi ve sonrası periyotlarda laktat dehidrogenaz, kreatinin kinaz, kreatinin kinaz-miyokard bandı ve troponin I ölçümleri arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır.

Sonuç: Doğal tiyol yüksekliği ve disülfid düşüklüğü miyokardiyal iskemide daha az ventrikül hasarı ile ilişkilidir. Propolis kullanımı disülfid düzeyinde azalmaya, aort basıncında düşmeye ve iskemi sonrası sol ventrikül basıncında artışa yol açar. Ancak uzun süreli oral propolis kullanımı miyokardın antioksidan kapasitesini artır maz ve kardioplejik arreste bağlı akut iskemide miyokard hasarının azaltılmasına anlamlı katkıda bulunmaz.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan Kapasite; Miyokardiyal İskemi-Reperfüzyon Hasarı; Propolis; Tiyol-Disülfid Homeostazi

ABSTRACT

Objective: Myocardial ischemia-reperfusion damage can be reduced by antioxidants. Propolis, a bee product, is known for its antioxidant and immune-stimulating effects. We investigated the effects of oral propolis on myocardial ischemia-reperfusion injury through antioxidant mechanisms.

Material and Methods: 32 rats were equally distributed to propolis (group P), vitamin E (group E), control (group K) and sham (group S) groups. Oral propolis and vitamin E were administered by gavage for 21 days to rats in groups P and E, respectively. On the day of the experiment, rat hearts were suspended in Langendorff apparatus and after 30 minutes of perfusion, cardioplegic solution was administered to groups P, E and K, but not to group S. Ischemia for 45 min and reperfusion for 30 min were then performed. Left ventricular and aortic pressures were recorded throughout the experiment. Lactate dehydrogenase, creatinine kinase, creatinine kinase-myocardial band and troponin I, total antioxidant status, total oxidant status, total thiol, natural thiol and disulfide levels were measured from coronary perfusion effluent before and after ischemia. Oxidative stress index, natural thiol/total thiol ratio, disulfide/natural thiol ratio and disulfide/total thiol ratio were calculated.

Results: In Group P, aortic pressure before ischemia was significantly lower ($p=0.046$) and left ventricular systolic and derived pressures after ischemia were significantly higher compared to the other groups ($p=0.018$ and $p=0.011$, respectively). Antioxidant capacity was significantly higher and oxidative stress was lower in groups E and K. Total thiol and disulfide levels were significantly lower in groups P and E. There was no statistical difference between lactate dehydrogenase, creatinine kinase, creatinine kinase-myocardial band and troponin I measurements before and after ischemia ($p>0.05$).

Conclusion: High natural thiol and low disulphide are associated with less ventricular damage. Propolis decreases disulphide level and aortic pressure, and increases left ventricular pressure after ischemia. However, long-term oral propolis use does not increase the antioxidant capacity of the myocardium, and does not reduce myocardial damage in acute ischemia induced by cardioplegic arrest.

Keywords: Antioxidant Capacity; Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury; Propolis; Thiol-Disulfide Homeostasis

¹Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi
Tıp Fakültesi,
Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı,
Çanakkale.

H. Fatih AŞĞÜN, Prof. Dr.
(0000-0002-8969-5886)
Turgut Alperen ASLANER, Perfüzyonist
(0000-0002-6973-215X)

İletişim:

Prof. Dr. H. Fatih AŞĞÜN
Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi
Hastanesi, Kalp ve Damar Cerrahisi
Anabilim Dalı, 17010, Çanakkale

Geliş tarihi/Received: 02.11.2023

Kabul tarihi/Accepted: 21.03.2024

DOI: 10.16919/bozoktip.1385011

Bozok Tıp Derg 2024;14(2):104-112

Bozok Med J 2024;14(2):104-112

GİRİŞ

Çeşitli koruma tekniklerine rağmen açık kalp cerrahisinde değişen derecelerde miyokardiyal hasar oluşmaktadır. Bu hasarın ana kaynağı aortik çapraz klemp sürecindeki iskemi ve ardından yaşanan reperfüzyondur. Her ne kadar güncel miyokard koruma teknikleri ile kalbin elektromekanik aktivitesi etkin şekilde durdurulabiliyor, böylece miyositlerin oksijen ihtiyacı çok büyük ölçüde azaltılabiliyor ve yaşanan iskeminin etkileri hafifletilebiliyorsa da bu süreç boyunca ortamda oksijen ve enerji substratlarının mevcut olmaması, hücre asidozun gelişmesine ve sitozolde kalsiyum birikimine yol açar. Reperfüzyonla beraber daha fazla hücre içi kalsiyum birikimine bağlı olarak aritmiler, miyokardiyal sersemleme ve hatta kontraktür görülebilir. Bu hasarın oluşmasında iskemi ve reperfüzyon (I/R) süreçlerinde artan oksidatif stresin önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir (1-3). Artmış serbest radikal üretimi, yetersiz antioksidan mekanizmalar tarafından ortamdaki uzaklaştırılmazlar ve hücre hasarına neden olurlar. Oksidatif stres kapillerlerde lökosit tıkaç oluşumu, mikrovasküler oklüzyon, protein denatürasyonu, DNA sarmallarında kırılma gibi etkilerle hücre ölümüne varan hasarlara yol açabilir (2). Oksidatif stresin kontrol altına alınmasından antioksidan mekanizmalar sorumludur. Gerek enzimatik (süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon-S-transferaz) gerekse enzimatik olmayan (albumin, laktoferrin, ferritin, melatonin, bilirubin, seroplazmin ile A, C ve E vitaminleri) yollarla etki eden antioksidanlar; serbest radikallerin proteinler, lipid yapılar ve DNA üzerine olumsuz etkisine engel olarak veya oluşan hasarı onararak I/R hasarına karşı koruyucu etkinlik gösterir (3,4).

Bal arıları tarafından bitki eksüdatlarından toplanarak üretilen propolis içeriğinde 300'den fazla biyolojik bileşen (esterler, terpenler, fenolik bileşikler, flavanoidler, aldehit ve alkoller, stilbenterpenler ve beta steroidler) barındırmaktadır (5). Propolisin antioksidan, antibakteriyel, antiviral ve anti-inflamatuar etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Bileşiminde yer alan fenolik bileşikler (kuersetin, kaempferol, galangin, apigenin, luteolin, krisin, asasetin, kafeik asit fenetil ester [CAPE], pinosembirin, naringin, hesperitin) antioksidan ve anti-inflamatuar etkinlikten sorumludur (5).

Bu çalışmanın amacı, oral propolisin antioksidan

etkinliğinin ve kardiyoplejik arrest esnasında görülen miyokardiyal I/R hasarı üzerine etkilerinin araştırılmasıdır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulunun (Karar No: 2019/01-06) onayı ile Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezinde gerçekleştirildi.

Çalışmada 230-300 gr ağırlığında 32 adet Wistar albino türü dişi sıçan kullanıldı. Deney süresince sıçanlar $20\pm 2^\circ\text{C}$ sabit oda sıcaklığında, %50 nem oranında ve 12 saatlik gece-gündüz döngüsüne sahip laboratuvar ortamında takip edildi. Standart yem ve musluk suyuyla beslendi. Sıçanlar her grupta 8 adet olacak şekilde rastgele 4 gruba ayrıldı. Grup P'de (propolis grubu) deneklere gavaj yoluyla 21 gün süre ile oral propolis uygulandı. Kaz Dağları'nın endemik bitki türlerinden elde edilen propolis (Propolis Damla 350 mg/mL, İdapolis Arı Ürünleri, Çanakkale, Türkiye) 200 mg/kg dozunda 1:1 oranında serum fizyolojik (SF) ile karıştırılarak verildi. Grup E'de (vitamin E grubu) deneklere gavaj yoluyla 21 gün süreyle vitamin E (EVİGEN 2 mL ampul, Aksu Farma Tıbbi Ürünler İlaç Sanayi ve Tic. Ltd. Şti, İstanbul, Türkiye) 100 mg/kg dozunda 1:1 oranında SF ile karıştırılarak verildi. Grup K'de (kontrol grubu) deneklere gavaj yoluyla 21 gün süreyle aynı hacimde sadece SF uygulandı. Grup S'de (sham grubu) ise 21 gün süreyle ad libitum beslendi. Gavajla besleme sürecinde grup K'de yer alan bir sıçan öldü.

Deney aşamasına 21 günlük gavaj süresi tamamlandıktan sonra geçildi. İntramüsküler 10 mg/kg ksilazin (%2 Xylazinbio, Bioveta a. s., Ivanovice na Hané, Çekya) ve 80 mg/kg ketamin (%10 Ketamol, Richter Pharma AG, Wels, Austria) ile anestezi uygulandı. Karın ve göğüs açılarak vena kava inferiyor bulundu ve 250 IU/kg heparin (Poliparin, 5 ml/25.000 IU flakon, Polifarma İlaç Sanayi ve Tic. A.Ş., Tekirdağ, Türkiye) verildi. Ardından perikard açıldı ve kalp hızlıca eksise edildi. Soğuk Krebs-Henseleit (KH) solüsyonuna alınan kalpler, asendan aortası kanüle edilip Langendorff düzeneğine (May LS 09, Commat Ltd., Ankara, Türkiye) asıldı ve aort basıncı (AB) 60 ± 10 mmHg olacak şekilde 37°C 'de, %95 O_2 ve %5 CO_2 ihtiva eden KH solüsyonuyla perfüze edildi. Sol ventrikül içine balonlu kateter yerleştirildi ve basıncı

10±2 mmHg olacak şekilde ayarlandı. Perfüzyon için KH sıvısı 37°C'de ve pH 7,4 olacak şekilde distile su içine 0,34 mg/L KCL, 6,9 mg/L NaCL, 0,19 mg/L KH₂PO₄, 2,1 mg/L NaHCO₃, 2,18 mg/L glukoz, 0,3 mg/L MgSO₄ ve 0,21 mg/L CaCl₂ (Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, ABD) tuzları manyetik karıştırıcıda eklenerek günlük olarak hazırlandı.

Tüm kalpler ilk 30 dakika KH sıvısı ile perfüze edildi (stabilizasyon periyodu). Ardından grup P, E ve K'te kardiyopleji ile arrest sağlandı. Kardiyopleji, 10 mL St. Thomas No 2 sıvısına (Plegisol, Hospira Inc., Austin, ABD) 0,1 mL sodyum bikarbonat (%8,4 Sodyum Bikarbonat 10 mL ampul, Onfarma İlaç Sanayi Ltd. Şti., Samsun, Türkiye) eklenmesiyle hazırlandı ve aort kökünden 5 mL hacimde verildi. Grup S'de kardiyopleji verilmedi. Tüm kalplerde KH sıvısı 45 dakika boyunca kesilerek miyokardiyal iskemi oluşturuldu (iskemi periyodu). Grup P, E ve K'de iskeminin 25. dakikasında ek doz kardiyopleji uygulandı. İskemi periyodu sonunda tüm kalplerde KH sıvısı ile tekrar perfüzyona başlandı ve 30 dakika boyunca devam edildi (reperfüzyon periyodu). Grup P'de yer alan kalplerden birisi Langendorff düzeneğine asıldığında çalışmadığı için, bir diğerinde ise reperfüzyonda taş kalp geliştiği için kayıp kabul edildi ve çalışma dışı bırakıldı.

Sol ventrikül sistol sonu basıncı (SVSSB), sol ventrikül diyastol sonu basıncı (SVDSB) ve AB laboratuvar veri toplama sistemiyle (BIOPAC MP36, BIOPAC Systems Inc., Goleta, ABD) sürekli kaydedildi. Veriler, stabilizasyon periyodunun son beş dakikasındaki (iskemi öncesi) ve reperfüzyon periyodunun son beş dakikasındaki (iskemi sonrası) ardışık ölçümlerin ortalamaları olarak kaydedildi. Sol ventrikül türetilmiş basıncı (SVTB), SVSSB'den SVDSB'yi çıkarılarak elde edildi.

Biyokimyasal ölçümler koroner perfüzyon atk sıvısından alınan örneklerde yapıldı. Örnekler stabilizasyon periyodunun son 5 dakikasında (iskemi öncesi) ve reperfüzyon periyodunun son 5 dakikasında (iskemi sonrası) atk haznesinde biriken sıvıdan alındı. Alınan örnekler -80°C de muhafaza edildi. Örneklerin biyokimyasal ölçümleri deney protokolü tüm sıçanlarda tamamlandıktan sonra gerçekleştirildi. Miyokardiyal hasar laktat dehidrogenaz (LDH), kreatinin kinaz (CK), kreatinin kinaz-miyokard bandı (CK-MB) ve troponin I (TnI) düzeylerinin ölçümü ile (Cobas 6000 c501-e601, Roche Diagnostics Corporation, Basel,

İsviçre) değerlendirildi. Oksidan ve antioksidan durum ise otomatize sistemde spektrofotometrik yöntem kullanılarak total antioksidan durum (TAS), total oksidan durum (TOS), toplam tiyol (TTL), doğal tiyol (NTL) ve disülfid (DS) düzeylerinin ölçümü (Rel Assay kitleri, Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, Türkiye; Mindray BS300, Mindray, İstanbul, Türkiye) ile değerlendirildi. Oksidatif stres indeksi (OSI), $TOS/(TAS*1000)*100$ formülü ile elde edildi. NTL/TTL, DS/NTL ve DS/TTL oranları hesaplandı.

İstatistiksel analizler için Jamovi Versiyon 1.1.9.0 (The Jamovi Project, <https://www.jamovi.org>) istatistik programından faydalanıldı. Veriler ortalaması± standart sapma şeklinde ifade edildi. Gruplar arası kıyas Kruskal-Wallis testi kullanılarak yapıldı. Post Hoc analiz Dwass-Steel-Critchlow-Fligner eşleşmeli kıyası ile sağlandı. İskemi öncesi ve sonrası ölçülen değerlerin kıyası Wilcoxon eşleştirilmiş örnek testi kullanılarak gerçekleştirildi. Veriler arasındaki korelasyonun analizi için Spearman korelasyon analizi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık %95 güven aralığında p<0,05 olarak kabul edildi.

BULGULAR

Grupların iskemi öncesi ve sonrası hemodinamik ölçüm sonuçları Tablo 1'de sunulmuştur. İskemi öncesi AB ve SVTB ile iskemi sonrası SVSSB ve SVTB'nin gruplar arası kıyasta istatistiksel olarak anlamlı farklı olduğu tespit edildi. Post-Hoc analizde iskemi öncesi AB'nin grup P ve K arasında (p: 0,028), iskemi sonrası SVSSB ve SVTB'nin grup P ve K (p: 0,048 ve p: 0,048) ile grup P ve S arasında (p: 0,023 ve p: 0,023) anlamlı farklı olduğu görüldü. İskemi öncesi SVTB değerleri eşleşmeli kıyaslarda benzerdi.

İskemi öncesi ve sonrasında miyokardiyal hasar enzim değerlerinin gruplara göre dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir. LDH, CK, CK-MB ve TnI değerlerinde gruplar arasında anlamlı fark yoktu.

Oksidatif durum ve antioksidan kapasiteyi gösteren biyokimyasal belirteçlerin gruplara göre sonuçları Tablo 1'de sunulmuştur. İskemi öncesi ve sonrası ölçülen TAS, OSI, TTL, DS ve DS/NTL düzeyleri ile iskemi sonrası NTL/TTL ve DS/TTL oranlarında gruplar arasında çeşitli farklar olduğu belirlendi. Post-Hoc analiz sonuçları Tablo 2'de sunulmuştur.

Tiyol-disülfid hemostazı ile oksidan-antioksidan durum

Tablo 1. Verilerin gruplara göre dağılımı.

		Grup P n=6	Grup E n=8	Grup K n=7	Grup S n=8	Toplam n=29	p
AB (mmHg)	İÖ	62,27±8,44	83,62±24,26	109,81±39,05	102,28±52,03	90,37±38,39	0,046
	İS	105,6±19,15	103,4±37,78	151,42±36,65	119,49±51,12	120,94±41,87	0,053
SVSSB (mmHg)	İÖ	68,93±15,15	56,35±18,81	54,93±11,56	50,71±18,41	57,37±16,84	0,197
	İS	83,44±17,49	59,96±31,61	37,67±25,74	37,2±22,42	52,64±30,23	0,018
SVDSB (mmHg)	İÖ	10,8±1,95	14,23±4,66	16,47±6,68	19,17±13,69	15,31±8,33	0,122
	İS	12,75±2,01	12,22±4,53	15,02±5,68	13,66±2,71	13,46±4,05	0,497
SVTB (mmHg)	İÖ	58,13±16,1	42,12±17,41	38,45±15,78	31,54±14,04	42,06±17,88	0,04
	İS	70,69±17,95	47,74±31,66	22,66±24,33	23,54±23,23	39,19±30,65	0,011
TAS (mcmol/L)	İÖ	0,38±0,53	2,19±0,64	2,02±0,62	0,43±0,44	1,31±1,02	< , 001
	İS	0,57±1,1	1,92±0,41	1,99±0,54	0,28±0,07	1,23±0,98	0,001
TOS (mcmol/L)	İÖ	0,39±0,18	0,44±0,15	0,33±0,14	0,44±0,14	0,4±0,15	0,322
	İS	0,38±0,12	0,38±0,13	0,35±0,12	0,43±0,18	0,38±0,14	0,578
OSI	İÖ	0,25±0,27	0,02±0,01	0,02±0,01	0,17±0,15	0,11±0,17	< , 001
	İS	0,53±0,56	0,02±0,01	0,02±0,01	0,16±0,07	0,16±0,31	0,001
TTL (mcmol/L)	İÖ	151±40,27	176,21±37,66	249,76±77,59	294,64±19,72	222,36±73,88	< , 001
	İS	158,5±31,07	182,36±30,57	216,83±59,4	288,23±17,6	215,01±61,26	< , 001
NTL (mcmol/L)	İÖ	18,6±13,75	31,52±14,75	24,63±24,06	19,48±12,1	23,89±16,96	0,564
	İS	18±13,8	33,41±19,74	22,83±11,49	14,88±10,71	22,56±15,48	0,224
NTL/TTL	İÖ	0,13±0,09	0,2±0,13	0,11±0,11	0,06±0,04	0,13±0,11	0,102
	İS	0,12±0,09	0,19±0,12	0,12±0,1	0,05±0,03	0,12±0,1	0,033
DS (mcmol/L)	İÖ	66,2±23,14	72,35±23,34	112,57±39,72	137,58±7,54	99,24±38,71	< , 001
	İS	70,25±17,06	74,48±19,5	97±33,92	136,68±5,77	96,22±33,9	< , 001
DS/NTL	İÖ	16,49±51,14	2,95±1,62	21,47±27,87	12,26±12,13	6,48±29,3	0,036
	İS	10,17±13,19	3,29±2,32	5,82±4,35	18,74±21,72	9,46±13,7	0,033
DS/TTL	İÖ	0,43±0,05	0,4±0,07	0,45±0,05	0,47±0,02	0,44±0,05	0,102
	İS	0,44±0,05	0,4±0,06	0,44±0,05	0,47±0,02	0,44±0,05	0,033
CK (U/L)	İÖ	0,8±0,51	15,46±39,84	13,06±23,06	10,83±20,08	8,35±23,94	0,598
	İS	0,28±0,4	32,84±75,97	24,01±22,81	426,05±814,84	142,14±464,56	0,11
CK-MB (U/L)	İÖ	0,58±0,3	5,21±12	4,5±6,21	4,19±6,2	3,82±7,5	0,366
	İS	0,62±0,35	7,56±14,58	8,2±6,41	77,83±148,22	25,08±80,12	0,054
LDH (U/L)	İÖ	1,77±0,82	1,46±0,67	1,88±0,58	3,66±7,03	5,08±13,13	0,503
	İS	1,78±0,94	13±20,5	1,56±0,8	202±272	50,53±150,46	0,061
TnI (ng/mL)	İÖ	0,17±0,06	0,26±0,28	0,24±0,17	0,83±1	0,39±0,59	0,244
	İS	4,36±10,11	1,64±4,15	1,52±1,3	6,81±11,25	3,53±7,61	0,142

AB: Aort basıncı, İÖ: İskemi öncesi, İS: İskemi sonrası, SVSSB: Sol ventrikül sistol sonu basıncı, SVDSB: Sol ventrikül diastol sonu basıncı, SVTB: Sol ventrikül türetilmiş basıncı, TAS: Total antioksidan durum, TOS: Total oksidan durum, OSI: Oksidatif stres indeksi, TTL: Toplam tiyol, NTL: Doğal tiyol, DS: Disülfid, CK: Kreatinin kinaz, CK-MB: Kreatinin kinaz-miyokard bandı, LDH: Laktat dehidrogenaz, TnI: Troponin I.

Tablo 2. Oksidatif durum ve antioksidan kapasiteyi gösteren biyokimyasal belirteçlerin Post-Hoc analiz (Dwass-Steel-Critchlow-Fligner eşleşmeli kıyası) sonuçları.

		Grup P vs E	Grup P vs K	Grup P vs S	Grup E vs K	Grup E vs S	Grup K vs S
		p	p	p	p	p	p
TAS	iÖ	0,016	0,016	0,606	0,86	0,007	0,009
	İS	0,165	0,165	0,333	1	0,004	0,004
OSI	iÖ	0,023	0,011	0,98	0,836	0,012	0,009
	İS	0,165	0,165	0,27	0,953	0,004	0,004
TTL	iÖ	0,651	0,093	0,011	0,19	0,004	0,306
	İS	0,336	0,213	0,011	0,589	0,004	0,032
NTL/TTL	İS	0,73	0,999	0,336	0,521	0,074	0,096
DS	iÖ	0,917	0,125	0,011	0,153	0,004	0,096
	İS	0,955	0,408	0,011	0,334	0,004	0,057
DS/NTL	iÖ	0,955	0,73	0,093	0,334	0,032	0,989
	İS	0,73	0,999	0,336	0,521	0,074	0,096
DS/TTL	İS	0,73	0,999	0,336	0,521	0,074	0,096

TAS: Total antioksidan durum, iÖ: İskemi öncesi, İS: İskemi sonrası, TOS: Total oksidan durum, OSI: Oksidatif stres indeksi, TTL: Toplam tiyol, NTL: Doğal tiyol, DS: Disülfid.

arasındaki ilişkinin belirlenmesi amacıyla NTL, TTL, DS, NTL/TTL ve DS/TTL değerlerinin TAS, TOS ve OSI ile korelasyonu değerlendirildi. TAS düzeyleri NTL (r: 0,297 ve p: 0,021) ve NTL/TTL ile anlamlı pozitif (r: 0,36 ve p: 0,005); DS (r: -0,281 ve p: 0,03), DS/NTL (r: -0,362 ve p: 0,004) ve DS/TTL ile anlamlı negatif koreleydi (r: -0,356 ve p: 0,005). OSI düzeyleri ile NTL/TTL arasında anlamlı negatif (r: -0,278 ve p: 0,031); DS (r: 0,265 ve p: 0,041), DS/NTL (r: 0,282 ve p: 0,029) ve DS/TTL arasında anlamlı pozitif korelasyon (r: 0,278 ve p: 0,032) mevcuttu. TOS ile NTL, TTL, DS, NTL/TTL ve DS/TTL değerleri arasında korelasyon yoktu.

İskemi sonrası sol ventrikül hasarının AB ve oksidasyon durumuyla ilişkisini değerlendirmek amacıyla iske-mi öncesi AB, TAS, TOS, OSI, NTL, TTL, DS, NTL/TTL, DS/NTL ve DS/TTL değerlerinin iske-mi sonrası SVSSB, SVDSB, SVTB, CK, CK-MB, LDH ve Tnl ile korelasyonu incelendi. Korelasyon sonuçları Tablo 3'te bildirilmiştir.

TARTIŞMA

Kardiyopulmoner bypass ve kardiyoplejik arrest, ciddi kalp hastalıklarının düşük mortalite ve morbidite ile tedavi edilebilmesine olanak sağlar. Ancak mevcut koruma yöntemlerine rağmen kalp cerrahisi esnasında çeşitli derecelerde miyokardiyal I/R hasarı oluşur. Bu hasardan sorumlu önemli mekanizmalardan biri özellikle reperfüzyon aşamasında üretilen serbest

radikallere bağlı artmış oksidatif streştir (1-3). Antioksidanların I/R hasarını azalttığını gösteren çeşitli yayımlar mevcuttur (1,6). Preoperatif dönemde oksidatif stresin azaltılması ve antioksidan kapasitenin artırılması, bir tür antioksidan prekon-disyon durumu yaratarak kardiyoplejik arrest esnasında oluşan iske-mik miyokard hasarının azaltılmasına yardımcı olabilir. Bu çalışmada geleneksel tıpta kullanılan propolisin bu tür bir antioksidan prekon-disyon yaratarak kardiyoplejik arrest esnasında miyokardiyal hasarı azaltıp azaltmadığı araştırılmıştır.

Propolis, bal arıları tarafından bitki eksüdatlarından toplanarak üretilen ve çeşitli biyolojik etkileri olan reçinems bir üründür. Ham propolisin %50'si bitki resinlerinden, %30'u bal mumundan, %10'u aromatik ve esansiyel yağlardan, geri kalanı polen ve diğer organik ürünlerden oluşur (7). Huang ve ark, propolis içeriğinde 241 adet bileşik tanımlamışlardır. Terpenler, stilbenler, lignanlar, fenilpropanoidler, flavonoidler ve kumarinler bunlardan bazılarıdır (7). Özellikle fenolik bileşikler (flavonoidler, kumarinler) antioksidan, antiinflamatuvar, antibakteriyel, antiviral ve kardiyoprotektif etkileri ile bilinir (5). Flavonoidler açısından zengin olduğu bilinen propolisinin doğal bir antioksidan olduğu ve içeriğindeki flavonoidlerin bu etkileri nedeniyle I/R hasarının engellemede rolü olabileceği öne sürülmüştür (8,9). Bunlardan CAPE'nin miyokardiyal

Tablo 3. İskemi öncesi aort basıncı, oksidatif durum ve antioksidan kapasite ile iske-mi sonrası hemodinamik değişkenler ve miyokard enzimleri arasındaki ilişki.

		İske-mi sonrası														
		SVSSB		SVDSB		SVTB		CK		CK-MB		LDH		Tnl		
		r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	
İske-mi öncesi	AB	-0.518	0.004	0.055	0.774	-0.56	0.002	0.402	0.028	0.535	0.002	0.258	0.212	0.239	0.204	
	TAS	-0,113	0,553	0,012	0,952	-0,141	0,459	0,094	0,62	0,039	0,837	-0,36	0,05	-0,312	0,093	
	TOS	0,242	0,198	-0,039	0,840	0,27	0,149	-0,124	0,513	-0,036	0,849	0,067	0,724	0,013	0,945	
	OSI	0,239	0,203	-0,082	0,667	0,279	0,136	-0,251	0,181	-0,124	0,514	0,308	0,098	0,201	0,287	
	TTL	-0,416	0,022	0,177	0,349	-0,432	0,017	0,224	0,234	0,277	0,138	0,007	0,971	0,198	0,295	
	NTL	0,222	0,238	-0,051	0,787	0,229	0,223	-0,103	0,587	-0,196	0,3	-0,403	0,027	-0,373	0,042	
	NTL/TTL	0,304	0,103	-0,164	0,384	0,322	0,083	-0,23	0,222	-0,313	0,093	-0,399	0,029	-0,469	0,009	
	DS	-0,456	0,012	0,174	0,356	-0,469	0,01	0,257	0,171	0,321	0,083	0,114	0,547	0,293	0,117	
	DS/NTL	-0,484	0,007	0,118	0,534	-0,503	0,005	0,348	0,059	0,379	0,039	0,272	0,146	0,288	0,122	
	DS/TTL	-0,304	0,103	0,164	0,384	-0,322	0,083	0,23	0,222	0,313	0,093	0,399	0,029	0,469	0,009	

SVSSB: Sol ventrikül sistol sonu basıncı, SVDSB: Sol ventrikül diyastol sonu basıncı, SVTB: Sol ventrikül türetilmiş basıncı, r: Korelasyon katsayısı, CK: Kreatinin kinaz, CK-MB: Kreatinin kinaz-miyokard bandı, LDH: Laktat dehidrogenaz, Tnl: Troponin I, AB: Aort basıncı, TAS: Total antioksidan durum, TOS: Total oksidan durum, OSI: Oksidatif stres indeksi, TTL: Toplam tiyol, NTL: Doğal tiyol, DS: Disülfid.

I/R hasarını, iske-miye bağlı aritmiyi ve miyokardiyal infarktüs alanının azalttığı bilinmektedir (10,11). Braik ve ark, propolisin iskemik kalbi oksidatif stres hasarından koruduğunu, doku bütünlüğünü koruduğunu, hipotermik iske-minin neden olduğu histopatolojik hasarı önlediğini ve izole kardiyak mitokondride serbest oksijen radikali üretimini azalttığını bildirmişlerdir (12). Sun ve ark. propolis verilen sıçanlarda plazma vitamin C düzeyinin daha yüksek ve kalın barsaktaki lipid hidroperoksitlerinin daha düşük olduğunu, propolisin hücre dışı mekanizmalarla antioksidan etki gösterdiğini bildirmiştir (13). Propolisin serbest radikal yakalama kabiliyetinin vitamin C, vitamin E ve kafeik asit gibi sık kullanılan antioksidanlardan daha potent olduğunu öne süren çalışmalar mevcuttur (14).

Çalışmamızda propolisin antioksidan kapasitesinin değerlendirilmesi ve I/R kaynaklı serbest oksijen radikali üretimi üzerine etkisinin incelenmesi TAS, TOS, OSI, TTL, NTL ve DS ölçümü ile yapılmıştır. Sülfür ve hidrojen atomlarından oluşan sülfhidril grubu içeren organik bileşikler tiyoller olarak isimlendirilir (15). Tiyoller oksidasyona açıktırlar ve disülfür bağlarının serbest oksijen radikallerine bağlandıkları bilinmektedir. Cremers ve Jakob, serbest oksijen radikallerinin yüksek afinitesi nedeniyle disülfid bağlarının oksidatif streste azalmaya etki ettiklerini bildirmişlerdir (16). Gümüşayla ve ark., migrenli hastalarda yaptıkları

çalışmada tiyollerini hem antioksidan hem de prooksidan moleküller olarak tanımlamışlardır (17). Oksidasyona uğramamış tiyol düzeyi NTL tarafından, okside olmuş tiyol düzeyi ise DS tarafından yansıtılır (15). TTL ise ikisinin toplamını ifade eder. Tiyol-disülfid homeostazının değerlendirilmesinde NTL, TTL ve DS düzeyleri ile DS/NTL, DS/TTL ve NTL/TTL oranlarından faydalanılır (15). NTL antioksidan kapasitenin bir belirteci olarak kullanılırken, DS artmış oksidasyonu yansıtır. Düşük NTL, TTL ve DS düzeyleri ile koroner arter hastalığının yaygınlığı, stabil anjina pektoris varlığı ve akut koroner sendrom gelişimi arasında ilişki bildirilmiştir (18-20). Azalmış NTL ve artmış DS düzeyleri ayrıca birçok klinik tabloda gözlenmiştir (15). Çalışmamızda gruptaki tüm veriler ele alındığında TAS'ın NTL ve NTL/TTL ile pozitif; DS, DS/NTL ve DS/TTL ile negatif korele olduğu görülmüştür. OSI ise NTL/TTL ile negatif; DS, DS/NTL ve DS/TTL ile pozitif koreledir. TOS ile bu değişkenler arasında ilişki bulunmamaktadır. Bu sonuçlar NTL ve NTL/TTL'nin antioksidan kapasitenin bir göstergesi olduğu; DS, DS/NTL ve DS/TTL düzeylerinin ise oksidatif stresin düzeyini yansıttığı görüşünü destekler. TOS oksidatif durum hakkında yeterli bilgi vermemektedir. Miyokardiyal hasar düzeyleri ile oksidasyon durumu kıyaslandığında TAS, NTL, NTL/TTL ile miyokard enzimleri arasında negatif korelasyonların; DS/NTL ve DS/TTL ile pozitif

korelasyonların bulunduğu gözlenmiştir (Tablo 3). Ayrıca TTL, DS ve DS/NTL ile iskemi sonrası sol ventrikül basınçları (SVSSB ve SVTB) arasında anlamlı negatif korelasyon mevcuttur. Çalışmamız TAS, NTL, NTL/TTL yüksekliğinin daha az miyokard hasarı ve daha iyi sol ventrikül fonksiyonuyla ilişkili olduğunu ancak TTL, DS, DS/NTL ve DS/TTL yüksekliğinin aksine bir duruma yol açtığını ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda TAS değerlerinin iskemi öncesinde ve sonrasında vitamin E ve kontrol gruplarında anlamlı yüksek olduğu, TOS değerlerinin benzer ancak OSI değerlerinin vitamin E ve kontrol gruplarında düşük olduğu tespit edilmiştir. Propolis uygulamasının TAS ve OSI üzerine olumlu yönde herhangi bir etkisi tespit edilmemiştir. İskemi öncesi ve sonrası TTL ve DS düzeylerinin propolis ve vitamin E grubunda anlamlı düşük olmasına rağmen NTL ve NTL/TTL düzeylerinin tüm gruplarda benzer olduğu görülmüştür. NTL düzeyleri sabitken TTL düzeyinin düşük olması DS düzeyinin düşük olmasına bağlanmıştır. Bu durum uzun süreli propolis ve vitamin E uygulamasının deney öncesinde antioksidan etkinlik göstermesi, bunun sonucunda serbest oksijen radikali düzeyini düşürerek daha az DS üretilmesine yol açmasıyla ilişkilendirilmiştir. Ne propolisin ne de vitamin E'nin iskemi öncesi NTL seviyesinde anlamlı bir artışa yol açmamış olması antioksidan etkinliğin bu mekanizma dışında kalan yollarla gerçekleşmesi ile açıklanmıştır. Gerek propolis ve gerekse vitamin E uzun süreli uygulama esnada antioksidan etkinlik göstererek serbest oksijen radikali temizlenmesini arttırmakta (iskemi öncesi TTL ve DS düşüklüğü), vitamin E tiyol-disülfid homeostazı dışında kalan mekanizmalarla sonrası için dokunun antioksidan kapasitesinde bir artışa yol açmakta (NTL benzerken TAS yüksekliği ve OSI düşüklüğü), ancak propolis böyle bir koruma sağlamamaktadır. Propolis uygulaması bir antioksidan prekondisyon yaratmamakta, iskemi öncesinde miyokardın antioksidan kapasitesinde bir artışa yol açmamaktadır.

Propolis verilen grupta iskemi öncesi AB'nin kontrol grubuna kıyasla daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu durum koroner yatak direncinin daha düşük olması ile ilişkilendirilebilir. Deney modelinde eksize edilen kalpler Langendorff sistemine asıldıktan sonra AB 60±10 mmHg olacak şekilde KH debisi ayarlanmış, ardından tüm deney süresince aort kökünden uygulanan bu

debi sabit tutulmuştur. Debi sabit iken AB değerindeki değişimler koroner yatağın direnci ve vazoreaktivitesi tarafından belirlenmek durumundadır. Propolis grubunda AB'nin daha düşük olması içeriğindeki bitkisel bileşenlerin doğrudan vazodilatör etkisi sonucu oluşabilir. Propoliste de bulunan kamferol, kuersetin, naringenin, hesperetin, epikateşin, daidzein ve genistein gibi flavonoidlerin nitrik oksit sentezinin uyarılması, potasyum kanal aktivasyonu, kalsiyum kanal blokajı, süperoksit üretiminin azaltılması, prostaglandin sentezinin arttırılması ve tirozin kinaz Pyk2 inhibisyonu gibi mekanizmalarla vazodilatör ve antihipertansif etki gösterdiği bilinmektedir (8,9).

Propolis grubunda iskemi öncesi AB'nin daha düşük olması aynı zamanda düşük DS ve TTL düzeyleri ile ilişkili olabilir. Benzer bir eğilim vitamin E uygulanan grupta da gözlenmektedir. Ancak vitamin E uygulanan grupta DS, TTL ve AB değerleri daha yüksek olup AB düşüklüğü istatistiksel olarak anlamlı değildir. Propolis grubunda ise DS ve TTL değerlerinin vitamin E grubuna göre daha düşük olması, AB basıncının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşmesine yol açmış olabilir. Çalışmamızda bunu doğrudan gösterebilecek bir inceleme yapılmamış olmasına karşın azalmış NTL/DS oranının yavaş koroner akımla ilişkili olduğu daha önce gösterilmiştir (21). Ayrıca literatürde tiyol-disülfid düzeyleri ile koroner arter patolojileri arasında ilişki bildiren yayınlar mevcuttur. Kundi ve ark. azalmış NTL ve NTL/DS oranının, yaygın koroner ateroskleroz varlığı ile ilişki olduğunu göstermişlerdir (18). Kundi ve ark. bir diğer çalışmalarında akut miyokard infarktüsü geçiren hastalarda NTL, TTL ve DS düzeylerini düşük, DS/NTL ve DS/TTL düzeylerini yüksek bulmuşlardır (19). Altıparmak ve ark. düşük NTL düzeylerinin koroner arter hastalığı varlığı ve ciddiyetiyle ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (20). Sivri ve ark. non-ST yükselmeli miyokard infarktüsü geçiren hastaların NTL, TTL ve NTL/TTL düzeylerini düşük, DS/NTL ve DS/TTL düzeylerini yüksek bulmuşlardır (22). Kaman ve ark. Kawasaki hastalığı bulunanlarda NTL ve TTL düzeylerinin düşük, DS seviyesinin yüksek olduğunu göstermişlerdir (23). Kızıltunç ve ark. düşük NTL ve yüksek DS seviyeleri ile koroner arter ektazisinin ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (24). Görüleceği üzere birçok koroner arter patolojisi NTL düzeyinin düşmesi ve DS seviyesinin yükselmesiyle yakından ilişkilidir. Tiyol-disülfid

homeostazının tiyol yönüne kayması, koroner arter yatağının sağlığının korunması açısından önemlidir. Propolis kullanımı TTL ve DS düzeylerini düşürmek suretiyle koroner arterler üzerine olumlu etkiler gösterebilir. Tiyol-disülfid homeostazi ve koroner yatak direnci arasındaki ilişkinin açıklanabilmesi için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Her ne kadar iskemi öncesi AB propolis grubunda anlamlı düşük ölçülmüş olsa da iskemi sonrası AB tüm gruplarda anlamlı yükselmiştir (90,37±38,39 mmHg vs 120,94±41,87 mmHg, p <0,001). Bu durum iskeminin yol açtığı endotel hasarı ve disfonksiyonuyla ilişkilendirilmiştir. Diğer gruplarda olduğu gibi propolis verilen sıçanlarda da AB iskemi sonrasında yükselmiştir. Propolisin koroner direnç üzerine olan muhtemel olumlu etkisi iskemi sonrası döneme yansımamıştır. Propolis yukarıda bahsedilen olumlu koroner arter etkilerine sahip olsa da koroner arter endotelini iskemiye karşı yeterince koruyamamış görünmektedir. Propolis verilen grupta iskemi sonrası SVSSB ve SVTB'nin kontrol ve sham gruplarına kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgu iskemi sonrası sol ventrikül sistolik fonksiyonunun propolis verilen grupta daha iyi olduğunu göstermektedir. Ancak iskemi öncesi ve sonrası miyokardiyal enzim seviyeleri tüm gruplarda benzerdir. Sadece iskemi sonrası CK-MB düzeyleri arasında istatistiksel anlamlılığa yakın (p: 0,054) bir fark tespit edilmiş ve anlamlı olmamakla birlikte propolis grubunda iskemi sonrası CK-MB'nin daha düşük olduğu görülmüştür. Bu durum propolis verilenlerde iskemik hasara bağlı sol ventrikül disfonksiyonunun daha az oluştuğunu destekler. İskemi öncesi AB düşüklüğünü açıklamak amacıyla öne sürülen düşük koroner yatak direnci varlığı, iskemi öncesinde koroner perfüzyonun daha iyi olmasına yol açarak miyokardı iskemiye karşı korumuş olabilir. Korelasyon analizinde tüm sıçanlarda iskemi öncesi AB ile iskemi sonrası SVSSB ve SVTB arasında anlamlı negatif; iskemi sonrası CK ve CK-MB arasında anlamlı pozitif korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 3). Bu veriler AB'nda düşüğe yol açan faktörlerin miyokard hasarını azalttığı ve ventrikül fonksiyonunu koruduğunu desteklemektedir. Tiyol-disülfid dengesi ile iskemi sonrası sol ventrikül basınçları (SVSSB ve SVTB) ve miyokard enzimleri arasındaki anlamlı ilişki; yüksek NTL ve NTL/TTL ile düşük TTL, DS, DS/NTL ve DS/TTL düzeylerinin ventrikülü iskemiye karşı

koruduğunu göstermektedir. Tiyol-disülfid dengesinin tiyol yönüne kaymasıyla ilişkili bu olumlu etkiler, koroner direncin düşüp koroner perfüzyonun artması olasılığı yanında doğrudan miyokard üzerine olan bir koruyucu etkiyle de bağlantılı olabilir. Ancak bundan ağırlıklı olarak hangi mekanizmanın sorumlu olduğunu söylemek zordur. Açık olan tiyol yönüne kaymış tiyol-disülfid homeostazi, iskemi öncesi AB ve iskemi sonrası sol ventrikül fonksiyonları arasında bir ilişkinin varlığıdır. Propolisin tiyoller üzerine yaptığı olumlu etki bu durumdan sorumlu görünmektedir. Antioksidan kapasiteyi artırma ve oksidatif stresi azaltma performansı vitamin E'ye kıyasla daha kötü olan propolis, tiyol-disülfid homeostazını vitamin E'ye göre daha güçlü etkileyerek vitamin E'nin sağlayamadığı bir fayda sağlamıştır. Ancak her ikisi de iskemik koşullarda miyokard enzimlerini anlamlı düzeyde azaltacak etkinliğe sahip değildir.

Çalışmanın kısıtlılığı, Langendorff düzeneğine asıldığında izole edilmiş sıçan kalplerinin kanla perfüze edilememesidir. Kristalloid bir sıvı olan KH solüsyonunun oksijen taşıyabilme kapasitesi kana oranla düşük olduğundan I/R süreçlerini olumsuz etkilemiş olabilir. Ayrıca ortamda kan yokluğu oksidan-antioksidan sistemin etkileşiminde ve etkinliğinde değişimlere yol açmış olabilir. Bir diğer kısıtlılık bütçe kaynaklarındaki yetersizlik nedeniyle kalp örneklerinde histolojik inceleme yapılamamış olmasıdır.

SONUÇ

Tiyol-disülfid homeostazının tiyol yönüne kayması kardiyoplejik arreste bağlı iskemide daha az miyokard hasarı ve daha iyi sol ventrikül fonksiyonuyla ile ilişkiliyken DS yönüne kayması aksi yönde etki gösterir. Oral propolis kullanımı daha az DS üretimine ve daha düşük AB'na yol açar. Bu durum koroner direncin düşüşü ile ilişkili olabilir ve koroner perfüzyonu artırıp iskemi sonrası ventrikül fonksiyonlarını koruyabilir. Propolis DS üretimini azaltmakla birlikte miyokardın antioksidan kapasitesini arttırmaz ve kardiyoplejik arrest esnasında oluşan akut iskemide miyokardiyal hasarın azaltılmasına belirgin bir katkı sağlamaz. Propolis kullanımının ve tiyol-disülfid homeostazının damar direnci üzerine olan etkilerinin ortaya konması için yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Tasdik ve Teşekkür

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TYL-2019-3026 proje numarası ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Bugger H, Pfeil K. Mitochondrial ROS in myocardial ischemia reperfusion and remodeling. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2020;1866(7):165768.
2. Zweier JL, Talukder MA. The role of oxidants and free radicals in reperfusion injury. *Cardiovasc Res.* 2006;70(2):181-90.
3. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ J.* 2012;5(1):9-19.
4. Sies H. Strategies of antioxidant defense. *Eur J Biochem.* 1993;215(2):213-9.
5. Viuda-Martos M, Ruiz-Navajas Y, Fernández-López J, Pérez-Alvarez JA. Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. *J Food Sci.* 2008;73(9):R117-24.
6. Bahuron T, Soobrattee MA, Luximon-Ramma V, Aruoma OI. Free radicals and antioxidants in cardiovascular health and disease. *Internet Journal of Medical Update.* 2006;1(2): 25-41.
7. Huang S, Zhang CP, Wang K, Li GQ, Hu FL. Recent advances in the chemical composition of propolis. *Molecules.* 2014;19(12):19610-32.
8. Kurek-Górecka A, Rzepecka-Stojko A, Górecki M, Stojko J, Sosada M, Swierczek-Zieba G. Structure and antioxidant activity of polyphenols derived from propolis. *Molecules.* 2013;19(1):78-101.
9. Ciumărnean L, Milaciu MV, Runcan O, Vesa ŞC, Răchişan AL, Negrean V, et al. The Effects of Flavonoids in Cardiovascular Diseases. *Molecules.* 2020;25(18):4320.
10. Huang SS, Liu SM, Lin SM, Liao PH, Lin RH, Chen YC, et al. Antiarrhythmic effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on myocardial ischemia/reperfusion injury in rats. *Clin Biochem.* 2005;38(10):943-7.
11. Ozer MK, Parlakpınar H, Acet A. Reduction of ischemia-reperfusion induced myocardial infarct size in rats by caffeic acid phenethyl ester (CAPE). *Clin Biochem.* 2004;37(8):702-5.
12. Braik A, Lahouel M, Merabet R, Djebbar MR, Morin D. Myocardial protection by propolis during prolonged hypothermic preservation. *Cryobiology.* 2019;88:29-37.
13. Sun F, Hayami S, Haruna S, Ogiri Y, Tanaka K, Yamada Y, et al. In vivo antioxidative activity of propolis evaluated by the interaction with vitamins C and E and the level of lipid hydroperoxides in rats. *J Agric Food Chem.* 2000;48(5):1462-5.
14. Banskota AH, Tezuka Y, Kadota S. Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytother Res.* 2001;15(7):561-71.
15. Erel O, Erdogan S. Thiol-disulfide homeostasis: An integrated approach with biochemical and clinical aspects. *Turk J Med Sci.* 2020; 50:1728-38.
16. Cremers CM, Jakob U. Oxidant sensing by reversible disulfide bond formation. *J Biol Chem.* 2013;288(37):26489-96.
17. Gumusyayla S, Vural G, Bektas H, Neselioglu S, Deniz O, Erel O. A novel oxidative stress marker in migraine patients: dynamic thiol-disulphide homeostasis. *Neurol Sci.* 2016;37(8):1311-7. Erratum in: *Neurol Sci.* 2016;37(8):1381.
18. Kundi H, Erel Ö, Balun A, Çiçekçiöğlü H, Cetin M, Kiziltunç E, et al. Association of thiol/disulfide ratio with syntax score in patients with NSTEMI. *Scand Cardiovasc J.* 2015;49(2):95-100.
19. Kundi H, Ates I, Kiziltunç E, Cetin M, Cicekcioglu H, Neselioglu S, et al. A novel oxidative stress marker in acute myocardial infarction; thiol/disulphide homeostasis. *Am J Emerg Med.* 2015;33(11):1567-71.
20. Altıparmak IH, Erkuş ME, Sezen H, Demirbag R, Gunebakmaz O, Kaya Z, et al. The relation of serum thiol levels and thiol/disulphide homeostasis with the severity of coronary artery disease. *Kardiol Pol.* 2016;74(11):1346-53.
21. Kundi H, Gok M, Cetin M, Kiziltunç E, Topcuoglu C, Neşeliöğlü S, et al. Association of thiol disulfide homeostasis with slow coronary flow. *Scand Cardiovasc J.* 2016;50(4):213-7.
22. Sivri S, Kasapkara HA, Polat M, Alsancak Y, Durmaz T, Erel Ö, et al. Dynamic thiol/disulphide homeostasis and its prognostic value in patients with non-ST elevation-acute coronary syndromes. *Kardiol Pol.* 2018;76(2):426-32.
23. Kaman A, Aydın Teke T, Gayretli Aydın ZG, Karacan Küçükali G, Neşeliöğlü S, Erel Ö, et al. Dynamic thiol/disulphide homeostasis and pathogenesis of Kawasaki disease. *Pediatr Int.* 2019;61(9):913-8.
24. Kiziltunç E, Gök M, Kundi H, Çetin M, Topçuoğlu C, Gülkan B, et al. Plasma thiols and thiol-disulfide homeostasis in patients with isolated coronary artery ectasia. *Atherosclerosis.* 2016;253:209-13.