

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

SU BAZLI ANADOLU PROPOLİS EKSTRAKTININ OBEZ
OLUŞTURULMUŞ FARELERDE ANTI-OBEZİTE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

Mehmet KEMAL

ŞUBAT 2024

TRABZON



KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

**SU BAZLI ANADOLU PROPOLİS EKSTRAKTININ OBEZ
OLUŞTURULMUŞ FARELERDE ANTİ-OBEZİTE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Mehmet KEMAL

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
"DOKTOR (KİMYA)"
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 26 / 01 / 2024

Tezin Savunma Tarihi : 21 / 02 / 2024

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Sevgi KOLAYLI

Trabzon 2024

ÖNSÖZ

“Su Bazlı Anadolu Propolis Ekstraktının Obez Oluşturulmuş Farelerde Anti-obezite Etkilerinin Araştırılması” isimli bu tez Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Doktora Programı’nda hazırlanmıştır. Doktora tezimi maddi olarak destekleyen KTÜ BAP07’ye ve SBS Bilimsel Bio Çözümler San. ve Tic. A.Ş.’ye teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca hiçbir desteğini esirgemeyen ve bilim insanı olma yolundaki ilk adımlarımı atarken kıymetli bilgileriyle ve tecrübesiyle yolumu aydınlatan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Sevgi KOLAYLI’ya teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca, yapıcı eleştirileri ve önerileri ile tezime büyük katkıları bulunan saygıdeğer hocalarım Sayın Prof. Dr. Murat KÜÇÜK’e, Sayın Prof. Dr. Ahmet ALVER’e, Sayın Prof. Dr. Oktay YILDIZ’a ve Sayın Doç. Dr. Eda DOKUMACIOĞLU’na, eğitim öğretim hayatımda katkısı olan tüm hocalarıma ve ortak olarak çalışmalar yürüttüğümüz ve tez çalışması süresinde de hiçbir yardımdan kaçınmayan arkadaşlarım Arş. Gör. Dr. Elif ŞAHİN’ne ve Arş. Gör. Ali KULABER’e teşekkür ederim. Tez çalışması sürecinde bana desteklerini esirgemeyen KTÜ Kimya ve Maçka MYO Gıda İşleme Bölümü’ndeki tüm değerli hocalarıma ve asistan arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Akademik alandaki tutkularımı paylaştığım, beni her aşamada destekleyen eşim ve meslektaşım Öğr. Gör. Dr. Mehtap Er Kemal’e, akademik destekleri ve özverili yardımları için içten teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, hayatım boyunca aldığım tüm kararlarda bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım ve her kararımda arkamda olan, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen annem ELMAS TOPAL başta olmak üzere tüm aileme teşekkür eder, minnettarlığımı sunarım.

Bu tez çalışmasının bundan sonraki çalışmalara katkı sağlamasını temenni ederim.

Mehmet KEMAL

Trabzon 2024

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Doktora Tezi olarak sunduğum “Su Bazlı Anadolu Propolis Ekstraktının Obez Oluşturulmuş Farelerde Anti-obezite Etkilerinin Araştırılması” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. Sevgi Kolaylı’nın sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı/yaptırdığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 21/02/2024

Mehmet KEMAL

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	III
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
TABLolar DİZİNİ.....	XI
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XII
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Propolis.....	2
1.2. Adipoz Doku	4
1.3. Leptin.....	7
1.4. Adiponektin	8
1.5. Tümör Nekrozis Faktör- α	9
1.6. İnterleukin-6	10
1.7. Uncoupling protein-1	11
1.8. Hiperlipidemi.....	11
1.9. İnsülin Direnci	14
1.10. Kafeterya Diyeti	17
2. GEREÇ VE YÖNTEM.....	19
2.1. Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar.....	19
2.2. Kullanılan Deney Hayvanı Temini ve Bakımı	21
2.3. Kullanılan Yem Deney Hayvanlarına Uygulanan Diyet Uygulaması.....	21
2.4. Deney Grupları	22
2.5. Kan ve Doku Örneklerinin Alınması.....	24
2.6. Serum Biyokimya Parametrelerinin Ölçümü	24
2.7. Serum İnsülin Seviyesinin Ölçümü	24
2.8. Serum Leptin Seviyesinin Ölçümü.....	25
2.9. Serum Adiponektin Seviyesinin Ölçümü	26
2.10. Serum TNF α Seviyesinin Ölçümü	27
2.11. Serum IL-6 Seviyesinin Ölçümü	28

2.12. Serum UCP-1 Seviyesinin Ölçümü.....	29
2.13. Karaciğer ve Yağ Dokularının Histopatolojik Değerlendirilmesi.....	30
2.14. Su Bazlı Anadolu Propolis Ekstrakt Örneğinin Temini	30
2.15. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini.....	30
2.16. Toplam Flavonoid Madde Miktarı Tayini.....	32
2.17. Antioksidan Aktivite Testleri	33
2.17.1. Demir İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP)	33
2.17.2. DPPH• Radikal Temizleme Aktivite Analizi	35
2.18. RP-HPLC-PDA ile Fenolik Kompozisyon Analizi.....	36
2.19. α -amilaz İnhibisyonu.....	36
2.20. α -glukozidaz İnhibisyonu.....	37
2.21. Histoloji.....	38
2.22. İstatistiksel Analizler.....	39
3. BULGULAR.....	40
3.1. SBAP Ekstrakt Örneğinin Vücut Ağırlığı, Epididimal Yağ Dokusu ve %Adiposite İndeksi Üzerine Etkisi	40
3.2. SBAP Ekstrakt Örneğinin Serum Biyokimya Parametreleri Üzerine Etkileri	43
3.3. SBAP Ekstrakt Örneğinin Histolojik Parametreler Üzerine Etkileri	47
3.4. SBAP Ekstrakt Örneğinin Antioksidan Özellikleri.....	55
3.5. SBAP Ekstrakt Örneğinin RP-HPLC-PDA ile Fenolik Kompozisyon Analizi	57
3.6. SBAP Ekstrakt Örneğinin α -amilaz ve α -glukozidaz İnhibisyonu	59
4. TARTIŞMA.....	61
5. SONUÇLAR.....	71
6. ÖNERİLER.....	72
7. KAYNAKLAR.....	73
ÖZGEÇMİŞ	

Doktora Tezi

ÖZET

SU BAZLI ANADOLU PROPOLİS EKSTRAKTININ OBEZ OLUŞTURULMUŞ FARELERDE ANTİ-OBEZİTE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Mehmet KEMAL

Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Sevgi KOLAYLI
2024, 93 Sayfa

Propolis özütlerinin önemli bir anti-obezitik potansiyel taşıdığı bildirilmektedir. Yapılan bu çalışmada, ticari su bazlı Anadolu propolis ekstraktının (SBAP) deneysel olarak anti-obezitik aktiviteleri araştırıldı. Propolis özütünün fenolik madde bileşimi ve antioksidan kapasitesi ölçüldü. Ayrıca, α -amilaz ve α -glukozidaz enzim inhibisyon etkisi araştırıldı. 42 adet C57BL/6 cinsi erkek fare kullanıldı. Kontrol grubu (n=6) ve çalışma grubuna (n=36) 12 hafta boyunca KAF diyeti uygulandı. 4 hafta obez farelere SBAP ve Orlistat® intraperitoneal uygulandı. 28. günde fareler dekapite edildi. Serum insülin, leptin, adiponektin, TNF α , IL-6 ve UCP-1 ELISA ile ve serum biyokimyasal parametreleri otoanalizör ile analiz edildi Karaciğer ve yağ dokularında histopatolojik analizler yapıldı. Bulgular, SBAP deney grubunda vücut ağırlığında, trigliserit, AST, ALT, HOMA-IR, leptin ve TNF α düzeylerinde obez kontrol gruba göre anlamlı bir azalma olduğu belirlendi. Ayrıca, SBAP grubu, adiponektin düzeyinde obez gruba göre anlamlı bir artış tespit edildi. Bulgular, su bazlı Anadolu propolis özütlerinin obezite ve insülin direncine karşı potansiyel terapötik etkiler sunabileceğini göstermektedir. Sonuç olarak, propolis özütlerinin obezite tedavisi için umut vaat edici doğal ve alternatif bir ürün olduğunu gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Propolis, obezite, anti-inflamasyon, antioksidan, C57BL/6

PhD. Thesis

SUMMARY

INVESTIGATION OF THE ANTI-OBESITY EFFECTS OF WATER-BASED ANATOLIAN PROPOLIS EXTRACTS IN OBESE MICE

Mehmet KEMAL

Karadeniz Technical University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Chemistry Graduate Program
Supervisor: Prof. Dr . Sevgi KOLAYLI
2024, 93 Pages

This study investigates the anti-obesity effects of water-based Anatolian propolis extract (SBAP) in mice with a cafeteria diet (CAF)-induced obesity model. The phenolic composition and antioxidant capacity of propolis extract were measured. In addition, the inhibitory effect on α -amylase and α -glucosidase enzymes was investigated. 42 male C57BL/6 mice were used. The control group (n=6) and the study group (n=36) were fed the CAF diet for 12 weeks. SBAP and Orlistat® were administered intraperitoneally to obese mice for 4 weeks. Serum samples were collected at the end of the 28th day after decapitation. Serum insulin, leptin, adiponectin, TNF α , IL-6 and UCP-1 were analysed by ELISA, and serum biochemical parameters were analysed by autoanalyzer. Liver and adipose tissues were also subjected to histopathological analysis. Significant reductions in body weight, triglyceride, AST, ALT, HOMA-IR, leptin and TNF α levels were observed in the SBAP-treated experimental group compared to the obese cafeteria group. In addition, there was a significant increase in adiponectin levels in the SBAP-treated group compared with the obese cafeteria group. In conclusion, the results showed that propolis extracts are a promising natural and alternative product for the treatment of obesity.

Key Words: Propolis, obesity, anti-inflammation, antioxidant, C57BL/6

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Üç yapısal ve fonksiyonel adipoz doku.....	6
Şekil 2. Leptinin sarmal döngü yapısı.....	7
Şekil 3. Farklı moleküler ağırlığa sahip üç yapısal adiponektin tipi.....	9
Şekil 4. Lipoproteinler ve lipit taşınması.....	13
Şekil 5. İnsülin	15
Şekil 6. İnsülin direncini gösteren test yöntemleri.....	17
Şekil 7. Çalışma planı	23
Şekil 8. İnsülin standart grafiği.....	25
Şekil 9. Leptin standart grafiği.....	26
Şekil 10. Adiponektin standart grafiği	27
Şekil 11. TNF α standart grafiği	28
Şekil 12. IL-6 standart grafiği.....	29
Şekil 13. UCP-1 standart grafiği.....	30
Şekil 14. Akarboz α -amilaz inhibisyon grafiği.....	37
Şekil 15. Akarboz α -glukozidaz inhibisyon grafiği	38
Şekil 16. 16 haftalık diyet süresince gruplardaki ağırlık değişimi (ortalama $\pm$ standart sapma).....	40
Şekil 17. KAF diyetiyle beslenen fareden çıkarılan EYD (A); KAF diyetiyle beslenen fare (B).....	43
Şekil 18. Kontrol grubunun karaciğer dokusuna ait fotomikrograf.....	49
Şekil 19. KAF grubunun karaciğer dokusuna ait fotomikrograf	50
Şekil 20. KAF+DDP grubunun karaciğer dokusuna ait fotomikrograf.....	50
Şekil 21. KAF+YDP grubunun karaciğer dokusuna ait fotomikrograf.....	51
Şekil 22. KAF+Orlistat grubunun karaciğer dokusuna ait fotomikrograf.....	52
Şekil 23. KAF+P1 grubunun karaciğer dokusuna ait fotomikrograf.....	53
Şekil 24. KAF+P2 grubunun karaciğer dokusuna ait fotomikrograf.....	54
Şekil 25. Kontrol grubunun (A) ve KAF grubu (B) ve yağ dokusuna ait fotomikrograf.....	54
Şekil 26. KAF+DDP (A), KAF+YDP (B) ve KAF+Orlistat (C) grubunun yağ dokusuna ait fotomikrograf	55
Şekil 27. KAF+P1 (A) ve KAF+P2 (B) grubunun yağ dokusuna ait fotomikrograf.....	55
Şekil 28. Gallik asit standart grafiği	56

Şekil 29.	Kuersetin standart grafiği	56
Şekil 30.	Troloks standart grafiği.....	57
Şekil 31.	Fenolik standart kromatogramı.....	59
Şekil 32.	SBAP α -amilaz enzimi inhibisyon grafiği.....	59
Şekil 33.	SBAP α -glukozidaz enzimi inhibisyon grafiği.....	60



TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Kullanılan malzemeler ve cihazlar	19
Tablo 2. Standart diyet kompozisyonu	21
Tablo 3. Kafeterya diyet kompozisyonu	22
Tablo 4. Grupların vücut ağırlıkları, karaciğer ile EYD ve % Adiposite indeksi değerleri	42
Tablo 5. Serum biyokimya parametreleri	45
Tablo 6. Grupların ALT, kolesterol, leptin, adiponektin, ve TNF α parametrelerinin istatistiksel karşılaştırılması (Kruskal- Wallis Test ve Mann-Whitney U test sonuçları)	46
Tablo 7. Karaciğer dokusuna ait morfolojik değişim skorları	48
Tablo 8. SBAP ekstrakt örneği antioksidan değerleri.....	57
Tablo 9. SBAP ekstrakt örneği fenolik kompozisyon miktarları.....	58
Tablo 10. SBAP ekstrakt örneğinin ve akarbozun α -amilaz inhibisyonu IC50 (μ g/mL) değerleri	60
Tablo 11. SBAP ekstrakt örneğinin ve akarbozun α -glukozidaz inhibisyonu IC50 (μ g/mL) değerleri	60

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SBAP	: Su bazlı Anadolu propolisi
CAPE	: Kafeik asit fenetil ester
TAG	: Triasilgliserol
BYD	: Beyaz yağ dokusu
KYD	: Kahverengi yağ dokusu
TNF α	: Tümör nekrozis faktör- α
IL-6	: İnterleukin-6
UCP-1	: Uncoupling protein-1
VLDL	: Çok düşük yoğunluklu lipoprotein
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
HDL	: Yüksek yoğunluklu lipoprotein
T2DM	: Tip 2 diabetes mellitus
KAF	: Kafeterya diyeti
YYD	: Yüksek yağlı diyet
STD	: Standart diyet
AST	: Aspartat aminotransferaz
ALT	: Alanin aminotransferaz
MPG	: Mono propilen glikol
FRAP	: Demir (III) indirgeme antioksidan gücü
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
KE	: Kuersetin eşdeğeri
DIO	: Diyetle indüklenen obezite

1. GENEL BİLGİLER

Obezite sağlık açısından risk oluşturan anormal veya aşırı yağ birikimi ile karakterize edilen küresel halk sağlığı sorunu olarak tanımlanmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre 1975'ten bugüne obez kişi sayısı yaklaşık olarak üç katına çıkmış ve 2016 yılında 18 yaş üzeri 650 milyon kişi obez olarak tanımlanmıştır. 2020 yılında 5 yaşın altındaki 39 milyon çocuğun ise aşırı kilolu ve obez olduğu belirtilmiştir (URL-1, 2021). İnsanların yaşam tarzlarındaki değişiklikler, özellikle yeme alışkanlıklarındaki değişimler sonucunda obezite küresel olarak pandemi haline gelmiştir. Obezite sadece bir dizi ciddi tıbbi komplikasyonla ilişkili değildir, aynı zamanda hipertansiyon, tip II diyabet, koroner kalp hastalığı ve bazı kanserler gibi hastalıkların riskini de artırmaktadır (Bray vd., 2017; Chang & Kim, 2019). Bu sebeplerden dolayı obezitenin önlenmesi ve tedavisi halk sağlığı açısından önem arz etmektedir.

Obezite tedavisinde kullanılan yöntemlerin amacı morbidite ve mortalite risklerini azaltmaktır. Bununla birlikte kişinin obezite olmasına neden olan alışkanlıklarını değiştirerek dengeli ve yeterli beslenmesini sağlayarak yaşam kalitesini arttırmaktır. Obezite tedavisinde kullanılan geleneksel yöntemler tıbbi beslenme tedavisi, egzersiz, farmakolojik tedavi, psikolojik yaklaşımlar ve bariatrik cerrahi başlıkları altında toplanabilir (Berberoğlu & Hocaoglu, 2021). Amerika Birleşik Devleti Gıda ve İlaç Dairesinin uzun süre kullanımına izin verdiği ve onayladığı anti-obezite ilaçları fentermin/topiramid-ER, bupropion/naltrekson-SR, liraglutide ve orlistattır. Bu ilaçlar genel olarak iştahı azaltarak doyumunu ve tokluğu arttırmaktadır (Calderon vd., 2022). Fakat bu ilaçların uzun süre kullanılması durumunda yağda çözünür vitamin düzeylerinde düşüklük, karın ve baş ağrısı, diyare, uykusuzluk ve baş dönmesi gibi yan etkiler gözlenmektedir (Erdoğan Erden vd., 2022). Son yıllarda bu yan etkilerden dolayı kilo kaybı için uygulanan düşük kalorili diyetler ile beraber doğal takviyelerin kullanımına ilgi gidererek artmaktadır. Dünya çapında kilo kaybı için diyet takviyelerinin yıllık satışlarının 30 milyar dolar değerinde bir pazara sahip olduğu belirtilmektedir (Konec vd., 2021).

Propolis *Apis mellifera* L. ve diğer türler tarafından bazı bitki yapraklarından, kabuklarından ve tomurcuklarından toplanan reçine ve arı ürünleri ile elde edilen bir karışımdır. Bu karışımın üretimi kovan içerisindeki sadece birkaç işçi arıya aittir. Reçine toplama işleminden sonra, bu işçi arılar reçineleri çiğneyerek ve salgıladıkları tükürük

enzimleri, balmumu ve bir miktar polen ile karıştırarak propolisi meydana getirirler. Propolisin çeşitli sağlık yararlarının yanı sıra antibakteriyel, antioksidatif, antifungal, anti-inflamatuar ve antikanserojenik özelliklere sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle propolisin gıda takviyeleri ve biyo-kozmetik ürünlerinde kullanımı hızla artmaktadır (Mountford-McAuley vd., 2023).

Bu araştırmanın temel amacı, obez C57BL/6 farelerinde su bazlı Anadolu propolis (SBAP) ekstraktının anti-obezite etkilerini incelemektir. Sonuçlar sadece genel olarak obezite araştırmalarına katkıda bulunmakla kalmayacak ayrıca obezite tedavisi için geliştirilecek ilaçların geliştirilmesine de fayda sağlayacaktır.

1.1. Propolis

Bal arıları tarafından çeşitli botanik kaynaklardan toplanan reçinemsi bir madde olan propolis yüzyıllardır farklı kültürlerde insanlık tarihinin ayrılmaz bir parçası olmuştur. Propolis antiseptik, antioksidan, antimikrobiyal ve anti-inflamatuar özelliklere sahip olan çok sayıda biyoaktif bileşik içerir. Bu özellikler nedeniyle insan sağlığı için çeşitli potansiyel faydalar sunabilir (Sforcin & Bankova, 2011). Propolisin bu özellikleri, 1960'lı yılların sonlarından itibaren bilim insanlarının dikkatini çekmiştir. İlk kapsamlı inceleme 1979 yılında yayınlanmıştır (Ghisalberti, 1979).

Arılar, propolisi kovanın yapısını güçlendirmek ve çatlaklarını kapatmanın yanı sıra kovan ortamını propolis ile sterilize ederek bakteri, mantar ve diğer patojenlere karşı etkili bir bariyer oluştururlar. Bugüne kadar, propolisin bileşenleri arasında başta polifenoller olmak üzere 180'den fazla bileşik tanımlanmıştır. Bunlar arasında flavonoidler ön plana çıkmaktadır. Bunlara fenolik asitler, esterler, fenolik aldehitler ve ketonlar eşlik eder. Propolisteki diğer bileşikler arasında uçucu yağlar ve aromatik asitler (%5-10), mumlar (%30-40), reçineler, balsamlar ve magnezyum, nikel, kalsiyum, demir ve çinko gibi temel elementler açısından zengin bir kaynak olan polen taneleridir (Memmedov vd., 2017). Propolisin kimyasal bileşimi, menşei, hasat zamanı ve elde edildiği bitki kaynağı ile doğrudan ilişkilidir. Bu nedenle propolisin kimyasal maddelerinin ve tedavi edici özelliklerinin tek bir sınıflandırmasını yapmak zor olmaktadır. Ayrıca, coğrafi dağılıma bağlı olarak propolisin çeşitlenmesine ve karakterize edilmesine dair kalitatif-kantitatif fitokimyasal farklılıklar, onu hem kimyasal hem de biyolojik açıdan benzersiz kılmaktadır. Farklı coğrafyalardan gelen propolis örneklerinin kimyasal yapısı kapsamlı bir şekilde

incelenmiş ve pek çok durumda belirli bölgelere özgü olduğu tespit edilmiştir. Genellikle, dünyanın dört bir yanından gelen örnekler, kimyasal bileşimleri ve kaynak bitkilere göre sınıflandırma çabalarına tabi tutulmuştur. Poplar, Brich, Tropikal, Akdeniz ve Pasifik bölgelerine özgü propolis tanınmış ana sınıflardır (Kasote vd., 2022).

Poplar propolisi ılıman bölgelerde üretilir ve ana botanik kaynakları çoğunlukla *Populus nigra* L. olmak üzere *Populus* türlerinin tomurcuk salgılarıdır. Başlıca flavonoidler (krisin, galangin, pinobanksin, pinobanksin-3-*O*-acetate, pinosembrin chalcone, kuersetin, kaempferol, apigenin, naringenin) fenolik asitler ve bunların esterleri bulunmaktadır. Brich propolisi Rusya'da brich tomurcuklarından üretilir ve esas olarak flavonoidleri, flavonoller ve flavanonları içerir. Tropikal bölge propolisi olan Brezilya yeşil propolisi, *Baccharis dracunculifolia* D.C. yapraklarından üretilir. Son zamanlarda ise *Dalbergia ecastophyllum* (L.) Taub'un yüzeyinde bulunan kırmızı reçineli salgılar ile elde edilen kırmızı Brezilya propolisi de ilgi çekmektedir. Yeşil ve kırmızı propolis 13 farklı Brezilya propolisi türü arasında en yaygın olanlarıdır. Yeşil propolis, artepillin C, fenolik asitler, *p*-kumarik asitler, diterpenik asitler, kaempferid, apigenin içerirken; tipik olarak kırmızı propolis, formononetin, isoliquiritigenin, biochanin A, daidzein, vestitol gibi bileşenler içermektedir. Diğer bir tropikal propolis türü olan Küba kırmızı propolisi Küba ve Venezuela'da bulunan farklı *Clusia* türlerinin çiçeklerinden salgılanan reçinelerden elde edilir. Bu propolis türü izoflavonlar, izoflavanlar, flavonoidler ve izoprenilen benzofenonlar bakımından zengindir. Tayvan, Okinawa ve Endonezya'da bulunan Pasifik propolisi veya Tayvan yeşil propolisi, *Macaranga tanarius* (L.) Müll'ün meyvelerinden elde edilir. Bu propolis türü propolinler, prokinawan, nymphaeol ve isonymphaeol ile karakterize edilir. Akdeniz propolis türü subtropikal propolis olarak da adlandırılır, ancak bu tür propolis çoğunlukla iğne yapraklı bitkilerden toplanır (Balica vd., 2021; Pant vd., 2024).

Türkiye Avrupa-Sibirya, İran-Turan ve Akdeniz bölgelerinin kesişme noktasında bulunmasıyla bilinir. Bu eşsiz coğrafi konumu Türkiye'yi 11.000'den fazla bitki türüne ev sahipliği yapan zengin bir floraya sahip kılar. Ülkemizdeki bu bitki çeşitliliği üretilen propolisin kimyasal yapısındaki farklılıkları açıklamaktadır (Guzelmeric vd., 2021). Anadolu propolisinin bileşimi üzerine yapılan birçok çalışmada Anadolu propolisinin kafeik, ferulik, *t*-sinamik asit, *p*-kumarik asit, *p*-*OH* benzoik asit gibi fenolik asitlerin yanı sıra krisin, epikateşin, luteolin, pinosembrin ve CAPE gibi türevler ile flavonoidler bakımından zengin olduğunu ortaya koymuştur (El Adaouia Taleb vd., 2020; Guler vd., 2021; Kurek-Górecka vd., 2022).

Propolis geleneksel tıpta, gıda takviyelerinde, nutrasötiklerde ve sağlık bakım ürünlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Son zamanlarda, birçok çalışma ayrıca propolisin gıda sistemlerinde doğal bir koruyucu, antioksidan ve fonksiyonel gıda bileşeni olarak nasıl kullanılabileceğini incelemiştir. Türk Gıda Kodeksine göre de propolis ekstraktları “Takviye Edici Gıda” olarak belirtilmektedir. Özellikle son yıllarda propolisin iyi bir doğal immünomodülatör ajan olmasından dolayı propolis ekstraktları çocukların tüketimi için çok tercih edilmektedir. Yukarıda belirtildiği gibi propolis tüketiminin temel amacı içerdiği yararlı bileşenlerin alınmasıdır. Bu nedenle, bu kompleks yapının içerdiği biyoaktif maddelerin çıkarılması yani ekstraksiyon işlemi gereklidir. Kompleks yapının mumsu karakteri nedeniyle içerdiği biyoaktif maddelerin çıkarılması zordur. Günümüzde en yaygın olarak kullanılan çözücü etil alkoldür. Bu çözücünün polaritesi propolis içerisindeki maddeleri çözebilecek uygunluktur. Fakat etil alkol tüketmek istemeyen kişiler özellikle çocuklar için yeni alternatif çözücüler araştırılmaktadır. Özellikle bitkisel yağ ekstraktları, su ekstraktları, çoklu alkollerin ekstraktları piyasada çok tercih edilen gıda takviyeleridir (Pant vd., 2024; Yıldız, 2020).

Propolis tüketimi piyasada kolay bulunabilirliği sayesinde son zamanlarda artmıştır. Arı kovanlarından toplanan ham propolis değişik polaritelere sahip çözücüler ile özütlendikten sonra propolis özütleri halinde veya bu özütlerin enkapsüle edilen formları (kapsül, tablet, granül, boğaz pastili, vs) halinde tüketilmektedir. Yapılan çalışmalar propolis için en ideal solventin % 70 etanol olduğunu göstermektedir (Kara vd., 2022b). Ancak yapılan bir diğer çalışma polialkollerin de ham propolis için iyi bir solvent olduğunu göstermiştir (Yıldız, 2020). Daha çok takviye edici gıda olarak kullanılan propolis özütlerinde kullanılan solventlerin yine takviye edici gıda regülasyonlarına uygun şekilde hazırlanma zorunlulukları vardır. Bu nedenle ticari propolis ekstraktlarında kullanılan çözücülerin günlük alım miktarları ve vücuttan çözücünün emilimi ve atılımı büyük önem arz etmektedir. Gıda takviyesi olarak kabul edilen bu ürünlerin üretim ve tüketimindeki yasal düzenlemeler ve bilimsel bulgulara göre tanzim edilmiştir.

1.2. Adipoz Doku

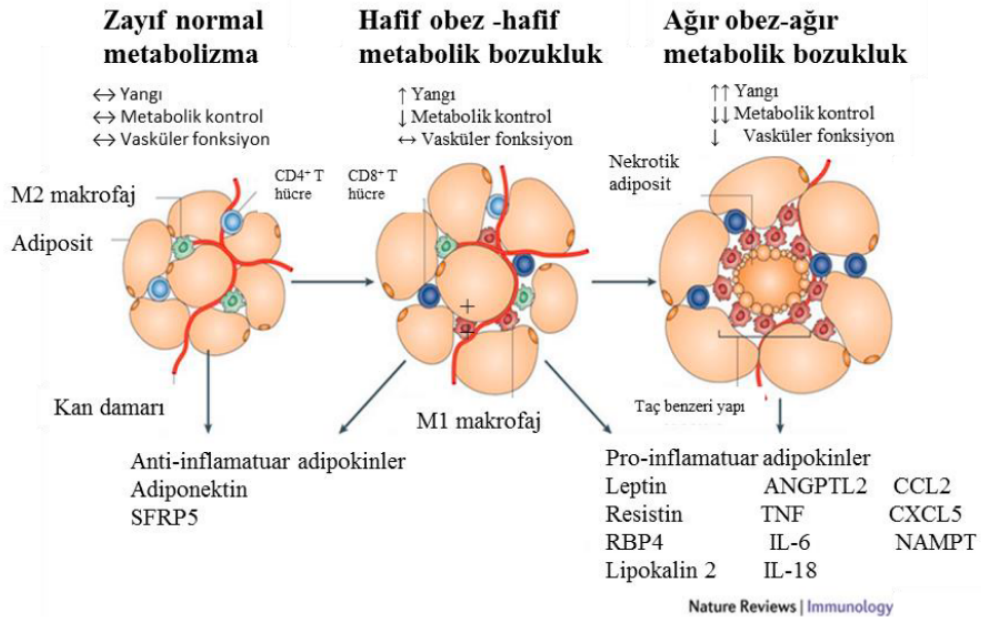
Özelleşmiş bir bağ dokusu türü olan adipoz doku uzun zamandır öncelikle yağ birikiminde rol oynayan pasif bir doku olarak kabul edilmektedir. Ancak son araştırmalar, yağ dokusunun sadece triaçilgliserol (TAG) depolama ve serbest yağ asitleri salınım yeri

olarak değil, aynı zamanda önemli miktarda hormon, sitokin ve enzim sentezleyen ve salgılayan aktif bir endokrin organ olarak da işlev gördüğünü ortaya koymuştur. Adipoz dokunun metabolik işlevleri lipid ve karbonhidratların mevcudiyetindeki diyet kaynaklı değişikliklerden önemli bir şekilde etkilenir. Bu nedenle yağ dokusu tüm vücut enerji dengesinin glukoz homeostazının ve hormonal sinyal yollarının düzenlenmesinde kritik bir rol oynar. Bu perspektif yağ dokusunun dinamik ve kompleks özelliklerine odaklanarak, sağlık ve hastalık durumlarındaki fizyolojik ve patolojik rollerinin daha fazla araştırılmasının önemini vurgulamaktadır (D'Anneo & Lauricella, 2022). Bu doku tipleri, anatomik olarak organizmanın çeşitli bölgelerine yayılmış olup genellikle organlar, eklemler, deri altı ve kemik iliği gibi bölgelerin çevresinde yer alan hücreleri yaygın olarak adipositler olarak adlandırılırlar. İnsanlarda iki ana tip yağ dokusu vardır: beyaz yağ dokusu (BYD) ve kahverengi yağ dokusu (KYD). Bu iki yağ dokusu türü morfolojileri ve enerji homeostazını düzenlemedeki işlevleri bakımından farklılık gösterir ve ayrıca vücudun farklı bölgelerinde bulunur. BYD daha bol bulunan yağ dokusu türüdür ve öncelikle enerji depolanmasında rol oynarken KYD termogenez ve enerji harcamasında rol oynar. Bu farklı yağ dokusu tiplerinin farklı fizyolojik rolleri vardır ve metabolik bozuklukların gelişimine farklı şekillerde katkıda bulunabilirler. Vücuttaki yağ dokusu dağılımının ve işlevinin heterojenliğini anlamak obezitenin ve ilgili metabolik bozuklukların önlenmesi ve tedavisi için etkili stratejiler geliştirmek açısından kritik önem taşımaktadır (Guerreiro vd., 2022).

İnsandaki en büyük yağ deposu olan BYD öncelikle enerji alımı sırasında TAG için bir depolama alanı olarak işlev görürken enerji harcaması enerji alımını aştığında serbest yağ asitlerini serbest bırakır. BYD adipositleri büyük (30-70 μm çapında) ve yuvarlak hücrelerdir. KYD insan vücudunda daha düşük miktarlarda bulunur ancak sıcaklık ve diyetdeki değişikliklere yanıt olarak ısı üretimi yoluyla adaptif termogenezde kritik bir rol oynar. KYD küçük memelilerde ve yenidoğanlarda bol miktarda bulunur ve daha soğuk ortamlarda hayatta kalmayı sağlar. KYD adipositleri daha küçük (çapı 20-40 μm) ve poligonaldır. Daha önce yetişkinlerde bulunmadığı düşünülse de artık metabolik olarak aktif KYD'nin yetişkin bireylerde de bulunduğu ve enerji dengesi üzerinde önemli bir etkiye sahip olabileceği anlaşılmıştır (Mermer & Tek, 2017; Nelson & Cox, 2008).

Yağ dokusundan salgılanan faktörlerin tüm vücut glikoz homeostazında rol oynadığı bilinmektedir. Bu bağlantının mevcut önerilen düzenleyicileri arasında hem adipoz depo kaynaklı hormonlar hem de sitokinler bulunmaktadır. Adipositlerden salgılanan faktörler adipokinler otokrin, parakrin ve endokrin mekanizmalarla çok sayıda biyolojik süreci

düzenleyen sinyal molekülleridir. Adipokinler iştah ve tokluk arasındaki denge, vücut yağ depolarının ve enerji harcamasının düzenlenmesi, glikoz toleransı, insülin salınımı ve duyarlılığı, hücre büyümesi, inflamasyon, anjiyogenez ve üreme için gereklidir. Yağ deposundan salınan sitokinler de metabolizmayı etkiler ancak adipokinlerden biraz farklıdır. İlk olarak sitokinler doğrudan adipoz dokudan salgılanabilir ancak adipoz deponun stromal vasküler hücrelerindeki preadipositler, fibroblast ve immün hücreler (makrofajlar, dendritik hücreler ve T hücreleri) gibi diğer hücre popülasyonlarından da salınır. İkincisi, sitokinler hücre sinyalizasyonunda rol oynar ancak öncelikli olarak bağışıklık düzenlemesinde rol oynar. Adiposit kaynaklı bu hormonlar ve sitokinler, yani adipokinler, leptin, adiponektin, resistin, visfatin, tümör nekrozis faktör- α (TNF α), interlökin-6 (IL-6) ve retinol bağlayıcı protein 4'ü (RBP4) içerir. Adipokinlerin değişimi ve işlev bozukluğu tip 2 diyabet ve kanser gibi obeziteyle ilişkili çeşitli metabolik hastalıkların gelişimi ve ilerlemesiyle yakından bağlantılıdır (Şekil 1).



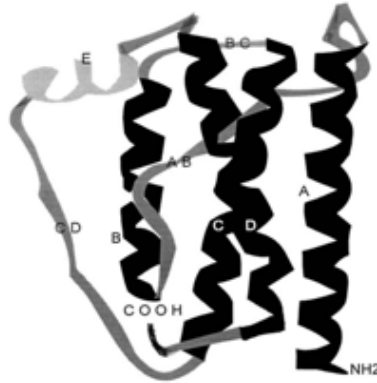
Şekil 1. Üç yapısal ve fonksiyonel adipoz doku (Demirci & Gün, 2017; Ouchi vd., 2011)

1.3. Leptin

Leptin 1994 yılında Friedman ve ekibi tarafından ob/ob farelerinde obezitenin temelinde yatan mutant (ob) genin keşfi ile ortaya çıkan 16-kD'lik bir protein olarak tanımlandı. Leptin adını Yunanca'da "ince" anlamına gelen "leptos" kelimesinden alır. Sağlıklı bireylerde plazma leptin seviyeleri genellikle 3-5 ng/ml arasında olup obez bireylerde bildirilen konsantrasyonlar 8-90 ng/ml aralığındadır (Anubhuti & Arora, 2008).

Leptin dört α sarmallı bir proteindir (A-B-C-D) ve diğer sitokinlere benzer bir yapı ve etki mekanizmasına sahiptir. Leptinin A ve B helikslerinin yanı sıra C ve D helikslerini birbirine bağlayan iki uzun yapıya sahiptir (Şekil 2). Leptin, C ve D helikslerindeki iki sisteini birbirine bağlayan bir disülfid bağlantısı içerir ve bu bağlantı leptinin yapısal bütünlüğü ve stabilitesi için kritiktir (Socol vd., 2022).

Leptin enerji tüketiminde ve enerji tüketiminin düzenlenmesinde kilit rol oynayan önemli bir adipokindir. Vücutta yaptığı işe göre obezite hormonu, açlık hormonu ve yağ hormonu gibi birçok isimle anılmıştır. Leptin hormonu vücut ağırlığının düzenlenmesinden sorumlu yağ hücreleri tarafından üretilen ve salgılanan, iştahı azaltmak için hipotalamusa etki eden ayrıca yağ dokusunda depolanan yağları yakmak için çalışan bir peptid hormonu olarak bilinmektedir.



Şekil 2. Leptinin sarmal döngü yapısı (Anubhuti & Arora, 2008)

Leptinin temel işlevleri arasında üreme sistemi, tiroit bezi, böbreküstü bezinin fonksiyonlarının düzenlenmesi, büyüme hormonlarının üretiminin kontrolü ve vücut ağırlığının düzenlenmesi yer alır. Bu nedenle leptin hormonunun doğru salgılanması ve düzenli üretimi vücudun sağlıklı işleyişini sağlamak için hayati öneme sahiptir (Booth vd., 2016). Leptin beyaz yağ dokusunda üretilir ve KYD, fetal dokuda, plasentada, midede,

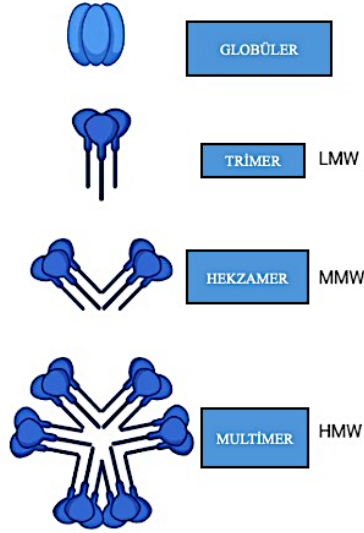
kemik iliğinde, dişlerde ve beyinde çok az miktarda bulunur. Leptin bir hormon olmasının yanı sıra bir sitokin olarak da işlev görür ve sitokin olarak inflamatuvar yanıtı artırır. Bundan dolayı obezitede leptin seviyelerindeki artış kardiyovasküler hastalık, tip 2 diyabet ve dejeneratif hastalıklar için bir risk faktörü olan düşük dereceli inflamasyonun ortaya çıkmasına katkıda bulunur (Guerreiro vd., 2022). Leptin insülin ve kortizol tarafından yükseltilir ve katekolaminler tarafından düşürülür. Bu faktörlere ek olarak, tümör nekroz faktörü- α (TNF α) da leptin salgılanmasını artırmak için parakrin bir düzenleyici olarak görev yapar. Leptin ayrıca glikoz ve yağ asitleri tarafından kendi ekspresyonunu otoregüle eder ve leptin ekspresyonunu da etkiler (Fried vd., 2000).

1.4. Adiponektin

Adiponektin, adipoz doku tarafından salgılanan, inflamasyona karşı koruyucu etkiler gösteren ve insülin duyarlılığını artırarak endokrin sistemi olumlu yönde modüle edebilen dolaşımdaki bir hormondur. Adiponektin hem laboratuvar ortamında (*in vitro*) hem de canlı organizmalarda (*in vivo*) ayrıntılı bir şekilde incelenmiş ve klinik çalışmalarda yaygın olarak biyobelirteç olarak kabul görmüştür. Adiponektin pozitif metabolik etkilere, insülin duyarlılığına, diyabet ve ateroskleroza karşı koruyucu rol oynamaktadır. Ayrıca, bu sitokin yağ asitleri katabolizmasını artırır ve kan şekerini aktif olarak düzenler. Adiponektin iskelet kasında yağ asitleri oksidasyonunu uyarır ve ardından trigliserit birikimini azaltır. Adiponektin farklı dokularda bulunan ve farklı işlevlere sahip olan AdipoR1 ve AdipoR2 adlı reseptörler aracılığıyla etki gösterir (Wang & Scherer, 2016; Whitehead vd., 2006). Diğer adipokinlerin aksine, muhtemelen düşük fiziksel aktivite ve hareketsiz/sağlıksız yaşam tarzları nedeniyle obez bireylerde konsantrasyonunun azaldığı bulunmuştur (Martin vd., 2005).

Adiponektin moleküler açıdan bakıldığında düşük molekül ağırlıklı (DMA), orta molekül ağırlıklı (OMA) ve yüksek molekül ağırlıklı (YMA) formda bulunabilir. Her bir form spesifik aktivitelere sahiptir. Örneğin, YMA glikoz alımı ve merkezi obezite ile ilişkilidir. YMA seviyeleri de vücut ağırlığının azalmasından sonra artar ve bununla korelasyon gösterir. Adiponektinin temel birimi trimer olarak adlandırılır ve yaklaşık olarak 90 kilodalton ağırlığındadır. Bu temel birim, bir araya gelerek daha büyük yapılar oluşturabilir. Bununla birlikte trimerlerin bir araya gelmesiyle hekzamer adı verilen bir yapı oluşturulur. Hekzamer yaklaşık olarak 180 kilodalton ağırlığındadır. Daha da büyük ve ağır

yapılar da mevcuttur. Bu yapılar 400 kilodalton'dan daha ağır olan YMA formlardır. YMA formlar daha fazla trimerin bir araya gelmesiyle oluşur ve vücutta bulunan en büyük adiponektin yapılarıdır (Şekil 3).



Şekil 3. Farklı moleküler ağırlığa sahip üç yapısal adiponektin tipi (Khoramipour vd., 2021)

Adiponektin vücutta AdipoR1 ve AdipoR2 adlı iki ana reseptöre sahiptir. Bu reseptörler, hücre yüzeyinde bulunan yedi transmembran alanına sahip proteinlerdir. AdipoR1 globüler adiponektin ile yüksek oranda etkileşirken iskelet kasındaki tam uzunluktaki adiponektin ile daha düşük oranda etkileşir. AdipoR2 ise karaciğerde hem globüler hem de tam uzunluktaki yüksek moleküler ağırlıklı adiponektin formları ile orta derecede etkileşir. Adiponektin, bu reseptörlere bağlanarak vücudun enerji dengesini, inflamatuvar tepkileri, insülin hassasiyetini ve yağ yakımını kontrol eder. Kan insülin seviyeleri, AdipoR'lerin ekspresyonunu düzenleyebilir (Khoramipour vd., 2021).

1.5. Tümör Nekrozis Faktör- α

TNF α makrofajlar, monositler, T hücreleri ve adipositler gibi çeşitli hücreler tarafından üretilen pro-inflamatuvar sitokin türüdür. TNF α 1975 yılında keşfedilmiştir ve 50'den fazla transmembran proteini içeren geniş bir süper aileye aittir. TNF α 'nın her bir monomeri yaklaşık 233 amino asitten oluşan homotrimer yapıya sahiptir. Enfeksiyonlar,

yaralanmalar ve inflamatuvar sinyaller TNF α üretimini tetikleyen ana faktörler arasında yer alır. Bu sitokin başlangıçta transmembran öncü formunda sentezlenir (mTNF α) ve daha sonra çözünür forma dönüşebilir, bu da sistemik etkilere izin verir ve hedef hücrelere sinyal gönderme kapasitesine sahip sTNF α 'yı oluşturur. TNF α tüm hücrelerde bulunan TNFR1 ve çoğunlukla bağışıklık hücrelerinde bulunan TNFR2 olmak üzere iki reseptöre bağlanarak sinyal verir. mTNF α esas olarak monositler/makrofajlar üzerinde ifade edilir ve burada diğer hücre yüzeyi reseptörleri ile etkileşime girerek hücre-hücre temasını tetikler (Dömling & Li, 2022).

TNF α inflamasyonda merkezi bir rol oynar ve romatoid artrit, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, bulaşıcı hastalıklar, obezite ve insülin direnci gibi çeşitli patolojik durumlarla ilişkilidir. Özellikle obezite ve insülin direnci gibi durumlarda yüksek TNF α seviyeleri gözlenir ve burada kronik düşük dereceli inflamatuvar durumun gelişmesine ve insülin sinyalinin bozulmasına katkıda bulunur (Sethi & Hotamisligil, 2021). In vitro çalışmalar obezite koşullarında yükselen TNF α 'nın obezitede azalan adiponektin üretiminden kısmen sorumlu olabileceğini göstermektedir (Whitehead vd., 2006). Bu bağlamda TNF α 'nın moleküler yapısı ve üretimi, sağlık ve hastalık mekanizmalarının anlaşılması, bu sitokinle ilgili terapötik müdahalelerin geliştirilmesi açısından önem arz etmektedir. Anti-TNF α ilaçları monoklonal antikorlar gibi geliştirilmiş ve belirli inflamatuvar durumların tedavisinde kullanılmıştır. Sonuç olarak hastalar için rahatlama sağlamış ve yaşam kalitesini artırmıştır (Dömling & Li, 2022).

1.6. İnterleukin-6

IL-6 dört helikslili bir sitokin olup 184 amino asitten oluşan protein yapısına sahiptir. Bu protein fibroblastlar, monositler, makrofajlar, T hücreleri ve endotel hücreleri gibi çeşitli hücre tipleri tarafından sentezlenir. IL-6'nın temel görevleri arasında inflamasyon süreçlerini düzenlemek, akut faz yanıtını başlatmak ve immün yanıtta katkıda bulunmak yer alır. İnflamasyon koşullar sırasında özellikle TLR-4'ün lipopolisakkarit tarafından uyarılması veya hücrelerin interleukin-1 veya TNF α tarafından uyarılması gibi durumlarda indüklenir (Schmidt-Arras & Rose-John, 2016).

IL-6'nın metabolizma, hematopoezi ve enerji dengesi üzerinde etkileri önemlidir. Bu sitokin normal bağışıklık ve iltihap süreçlerinde kritik bir rol oynamasının yanı sıra, kronik inflamasyon, otoimmün hastalıklar, kanser ve kardiyovasküler hastalıklar gibi bir dizi

patolojik durumla da yakından ilişkilidir. Adipoz dokularda pro-inflamatuar makrofajların birikimi, obezitenin belirgin özelliklerinden biridir ve bu durum kronik inflammatuar hastalık olarak belirgin şekilde sitokin salınımına neden olur (Schmidt-Arras & Rose-John, 2016; Unver & McAllister, 2018). IL-6 obezite ile ilişkilendirilen pleiotropik bir inflammatuar sitokin olarak kabul edilir ve glikoz, protein ve lipid metabolizmasını etkileyen metabolik hormon olarak tanımlanmaktadır. IL-6'nın obezite derecesiyle birlikte dolaşımında arttığı gözlemlenmiştir ve insülin duyarlılığını bozmuştur (Mauer vd., 2014).

1.7. Uncoupling protein-1

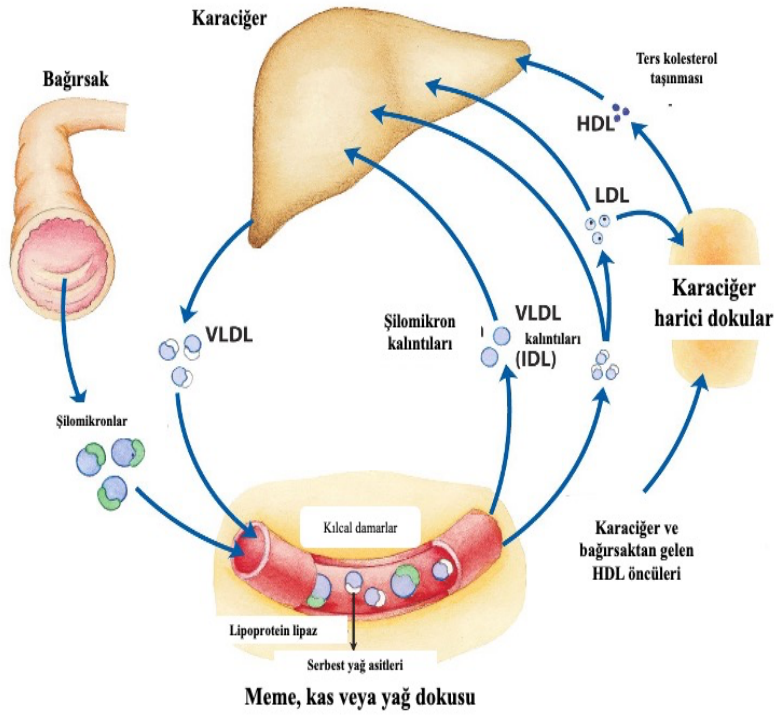
Uncoupling protein-1 (UCP-1) kahverengi adipositlerde bulunan ve adaptif termogenez ile ısı şeklinde enerji dağılımından sorumlu 32 kDa'lık özgün mitokondriyal bir proteindir. Yaklaşık 40'a yakın mitokondriyal metabolit taşıyıcısı vardır. UCP-1, protonları kahverengi adiposit mitokondrilerinin iç zarından geçirebilen tek üyedir. Bu işlemle UCP-1 solunumu ATP sentezinden ayırır ve bu nedenle ısı şeklinde enerji dağılımına neden olurken, aynı zamanda yüksek düzeyde yağ asidi oksidasyonunu da uyarır (Ricquier, 2011). UCP-1 KYD'nin belirleyici proteini olarak öne çıkar ve iç mitokondriyal membranda bulunarak enerji harcamasına önemli katkılarda bulunmaktadır. Özellikle soğuk hava koşullarında veya yüksek enerji harcaması gerektiren durumlarda vücut ısını korumak için KYD çok önemlidir. UCP-1 bu süreçte anahtar bir rol oynar ve metabolizmanın enerji harcamasını artırarak vücut ısını yükseltir (Mermer & Tek, 2017). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda UCP-1'in sadece KYD' de değil, aynı zamanda BYD, insan iskelet kasında, insan boyun düz kas tabakalarında, memeli adacık hücrelerinde, sıçan ve fare timositlerinde de bulunduğu ifade edilmektedir (Jia vd., 2010). Sonuç olarak, UCP-1'in vücutta farklı dokularda bulunması, sadece adaptif termogenezde değil, aynı zamanda enerji dengesi ve metabolizma üzerinde daha geniş bir etkiye sahip olabileceğini desteklemektedir.

1.8. Hiperlipidemi

Hiperlipidemi, insan vücudundaki lipid metabolizması bozukluğuna bağlı olarak ortaya çıkan ve serum lipid konsantrasyonunun normal seviyelerin üzerine çıkmasına neden olan, insanlarda sık görülen patolojik durumlardan biridir. Başta koroner kalp hastalığı olmak üzere kardiyovasküler hastalıklar için önemli bir risk faktörüdür. Kalıtım, beslenme türü, ilaç kullanımı ve diğer etkenlerin etkisiyle hiperlipidemi yaygınlığı belirgin bir şekilde

artmış ve günümüzde bireyler arasında sıkça rastlanan patolojik durumlardan biri haline gelmiştir (Yılmaz, 2018).

Genel olarak hiperlipidemi toplam kolesterolün, trigliseritin ve LDL'nin yüksek değerlerde olmasının yanı sıra dolaşımdaki HDL'nin azalması olarak tanımlanmaktadır. Bu durum tedavi için yaşam tarzı değişikliklerinin önemli olduğunu vurgular. Bu değişiklikler diyet alışkanlıklarının modifiye edilmesi, kilo kontrolü ve artan fiziksel aktiviteyi içermektedir. Kolesterol memeli hücre zarlarının önemli bir yapı taşıdır ve steroid hormonların ve safra asitlerinin öncüsüdür. Tüm hayvan hücrelerinde bulunurken bitki yağlarında bulunmaz. Trigliseritler ise adipositlerde en yoğun olarak bulunan lipit türüdür ve bitki ile hayvan hücrelerindeki temel depo yağlarıdır. Lipoproteinler plazmada oluşan protein-lipid kompleksleridir ve plazmada taşınma şekilleridir. Yapılarında TAG, kolesterol ve fosfolipidler proteinler ile birlikte bulunmaktadır. Apolipoproteinler ise kolesterol, kolesterol esteri, fosfolipitler ve TAG'lerin farklı oranlarda birleşmesinden oluşur. İnsan plazmasında en az on farklı çeşit apolipoprotein içeren lipoproteinler bulunmaktadır. Lipoproteinler dört ana gruba ayrılmaktadır. Şilomikronlar diyet kaynaklı lipidlerin taşınmasını sağlarlar. Yoğunlukları düşük olup yüksek oranda TAG'leri bulundururlar. VLDL şilomikronlardan daha az trigliserit içeriği olan çok düşük yoğunluktaki lipoproteindir. VLDL'den TAG kaybının gerçekleşmesi sonucu düşük yoğunluklu LDL oluşur. LDL'ler kolesterol ve kolesterol esterleri açısından zengin olup karaciğer dışındaki dokulara kolesterol taşımaktadır. HDL kolesterol taşınmasından sorumlu olup yüksek yoğunluklu lipoproteindir. Ters kolesterol taşınmasını gerçekleştirerek hücrelerdeki kolesterolü depolar ve onu karaciğere taşır (Şekil 4) (Nelson & Cox, 2008).



Şekil 4. Lipoproteinler ve lipit taşınması (Nelson & Cox, 2008)

Hiperlipidemi lipit türüne göre hiperkolesterolemi ve hipertrigliseridemi olarak iki ana kategoride sınıflandırılmaktadır. Hiperkolesterolemi, kan dolaşımında yüksek kolesterol seviyeleri ile karakterizedir. Buna karşılık, hipertrigliseridemi kandaki trigliserit seviyelerinin yükselmesi ile tanımlanır (Verma, 2016).

Hiperlipidemiye neden olan faktörler temelinde beş farklı birimde sınıflandırılabilir. Tip-1, lipoprotein lipaz veya apo C-II eksikliğine bağlı olarak şilomikron ve trigliseritlerde ciddi artışa neden olur. Tip-2, LDL seviyelerinin genetik faktörlere dayanan bir lipid metabolizma bozukluğunu temsil eder. Bu tip-2'de sorumlu olduğu genetik durumlar arasında ailesel hiperkolesterolemi, poligenik hiperkolesterolemi, ailesel kombine hiperlipidemi ve apolipoprotein B 100'de genetik bir kusur bulunmaktadır. Ailesel hiperkolesterolemi, genellikle LDL reseptörlerindeki kusurlar nedeniyle kanda LDL'nin birikmesine ve uzun süre kalmasına yol açar, bu da bireylerin erken yaşta koroner arter hastalığına yatkınlığını artırabilir. Poligenik hiperkolesterolemi, birden çok genin küçük değişikliklerinin LDL kolesterol düzeylerini etkilediği bir durumdur ve erken koroner arter hastalığı riskini artırabilir. Ailesel kombine hiperlipidemi, hem LDL hem de VLDL seviyelerinin yüksek olduğu bir durumu ifade eder. Apolipoprotein B 100'de meydana gelen genetik kusurlar LDL ve VLDL'nin normal ve düzenli metabolizasyonunda aksaklıklara

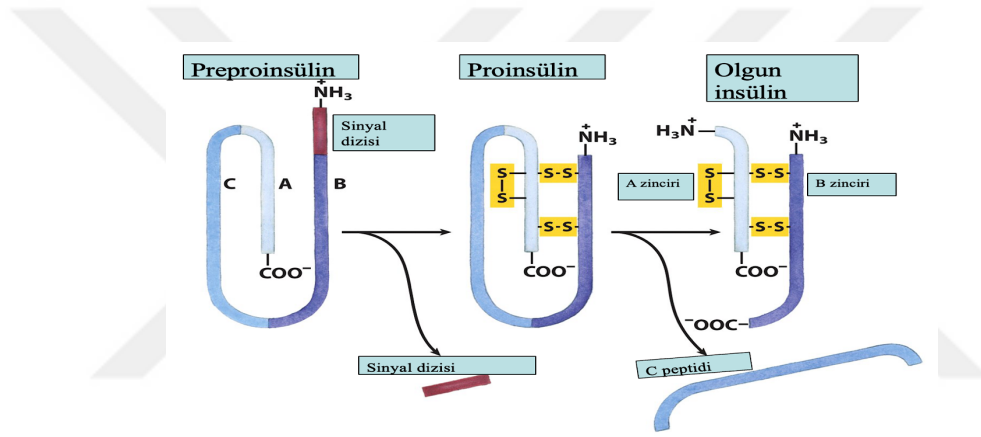
neden olabilir. Bu durum kolesterol seviyelerinin yükselmesine ve dolayısıyla erken koroner arter hastalığı riskinin artmasına yol açabilir. Tip-3, genetik olarak VLDL'nin kalıntı olarak birikmesi sonucunda ortaya çıkmaktadır ve ailesel disbetalipoproteinemi da olarak bilinmektedir. Metabolizmanın plazmada bulunan trigliserit içeren VLDL kalıntı partiküllerini etkili bir şekilde temizleyememesine bağlı olarak gelişmektedir. Genellikle apolipoprotein E'deki genetik kusurlar sonucunda ortaya çıkmaktadır. Sonuç olarak VLDL kalıntı partiküllerinin normalden daha uzun süre dolaşımında kalması ve birikmesi sonucu kanda trigliserit içeriğinin yüksek olmasıyla beraber kolesterol seviyeleri de artar. Tip-4, kandaki trigliserit seviyelerindeki yükseklikle karakterize edilmekte ve bu değer genellikle 250-500 mg/dl arasındadır. Diyabet, böbrek sorunları ve bazı ilaçlar gibi çeşitli hastalıkların etkisi altında ortaya çıkabilir. Hastalıkların yanı sıra yaşam tarzı faktörleri, özellikle beslenme alışkanlıkları, obezite ve fiziksel aktivite düzeyi de Tip 4 hiperlipoproteinemi gelişiminde rol oynayabilir. Tip-5, yüksek şilomikron ve VLDL seviyeleri ile ifade edilmektedir. Tip-5 genellikle genetik faktörlerle beraber diyabet, obezite veya aşırı alkol tüketimi gibi çeşitli faktörlerin birleşimi sonucunda ortaya çıkabilir. Sonuç olarak şilomikronların ve VLDL'nin normalden daha yüksek seviyelerde dolaşımında bulunması kandaki trigliserit ve diğer yağların artmasına neden olur (Jain vd., 2007). LDL kolesterol seviyelerinin 130-160 mg/dl ve toplam kolesterolün 200-239 mg/dl arasında olması hiperlipidemi açısından sınırdaki yüksek değerler olarak tanımlanmaktadır. Genetik nedenlerden kaynaklanan hiperlipidemide çok yüksek kolesterol seviyeleri (>300 mg/dl) ve trigliserit (>500 mg/dl) seviyeleri kabul edilmektedir. Türkiye Kronik Hastalıklar ve Risk Faktörleri Sıklığı Çalışması'nda yüksek LDL kolesterol sıklığı %12,5 olup erkeklerde % 11, kadınlarda % 14'tür. Yaşın ilerlemesi durumu dikkate alındığında hem kadınlarda hem de erkeklerde hiperlipidemi görülme sıklığı artmaktadır. Kentsel bölgelerde kırsala göre hiperlipidemi oranı daha yüksektir (Irmak vd., 2021; Yılmaz, 2018)

1.9. İnsülin Direnci

İnsülin 51 aminoasitten meydana gelen pankreasın langerhans adacıklarındaki β hücreleri tarafından sentezlenen karaciğer, yağ ve iskelet kası hücrelerinde glukoz alımını düzenleyen bir peptid hormonudur. İnsülin glukoz homeostazının yanı sıra glikojen sentezi, lipid metabolizması, DNA sentezi, gen transkripsiyonu, amino asit taşınması, protein sentezi ve yıkımının düzenlenmesi gibi çeşitli hücresel süreçleri de destekler. Normal şartlar altında

insülin, karbohidrat ve proteinlerin lipid olarak depolandığı yağ dokusu ve iskelet kası gibi önemli depolama ve tüketim bölgelerinde karbohidrat alımını teşvik eder. Ancak aşırı beslenme ve hareketsiz modern yaşam tarzları bu dengeyi bozabilir. Bu durum, metabolik sendrom, obezite, tip 2 diabetes mellitus (T2DM) ve kardiyovasküler hastalıklar gibi ciddi tıbbi sorunlara neden olabilir (Lee vd., 2022).

İnsülin pankreas tarafından sentezlenen A ve B polipeptit zincirlerinden oluşan bir preproinsülin adı verilen inaktif bir öncü olarak üretilir. Bu inaktif öncül proteolitik parçalanma yoluyla proinsülin haline gelir. Kan şekerinin yükselmesi durumunda, özgül proteazlar aktifleşir ve proinsülindeki iki peptit bağı kırarak aktif insülin oluşur (Şekil 5) (Nelson & Cox, 2008).



Şekil 5. İnsülin (Nelson & Cox, 2008)

İnsülin hedef hücrelerin plazma membranındaki insülin reseptörünü (INSR) bağlayarak başta insülin reseptör substratı (IRS), PI3-kinaz (PI3K) ve AKT izoformları olmak üzere çeşitli proteinlerinin fosforilasyonuna neden olur. Bu süreç insülinin hedef dokularında sinyal yolunu oluşturur. Aktivasyonun başlaması ile birlikte insülin sinyalinin akış hedeflerinde çeşitlenme gösterir ve insüline yanıt veren hedef dokularda bu durum farklı distal sinyallemelemlere yol açar (M. Li vd., 2022).

İnsülin direnci fizyolojik olarak dokuların normal insülin seviyelerine yanıt verememesi olarak tanımlanır ve bu nedenle insülinin normal işlevlerini sürdürmek için normalden daha yüksek insülin seviyeleri gerekir. Yüksek insülin seviyelerinde hiperglisemi ve hiperinsülinemi eş zamanlı olarak ortaya çıkar ve bu durum insülin direncinin belirgin bir özelliğidir. Karaciğer, kas ve yağ dokusundaki insülinin etkilerine karşı direnç gelişir, özellikle karaciğerde glukoz üretimi artar. Aynı zamanda, kas ve yağ dokusuna insülin

aracılığıyla yapılan glukoz alımında azalma görülür. Bu durum, insülin direncinin temel belirtilerinden biridir (Lee vd., 2022). Obez bireylerde insülin direncinin oluşması ve insülin düzeylerinin yüksekliği karbohidrat metabolizması düzensizliğinden önce oluşmaktadır. Bundan dolayı obezite tedavisinde bu durum göz önünde bulundurarak tedavi sürecinin planlanması gerekmektedir (Arslan, 2022). İnsülin direncinin potansiyel biyo-belirteçleri olarak adiponektin, retinol bağlayıcı protein-4 (RBP4), kemerin, adiposit yağ asidi bağlayıcı protein (A-FABP), fetuin A, myostatin, irisin gösterilebilir (Park vd., 2015).

İnsülin direncinin moleküler mekanizmaları, genellikle preresseptör, reseptör ve post-reseptör düzeylerinde ortaya çıkan çeşitli bozukluklardan kaynaklanmaktadır. Preresseptör bozukluklar arasında insülin hormonunda moleküler düzeyde polimorfizm ve mutasyonlar ile insülin hormonuna karşı oluşan antikorlar bulunmaktadır. Reseptör düzeyinde ise insülin hormonunda reseptör düzeyinde oluşan mutasyonlar ve reseptörlere karşı oluşan antikorlar yer almaktadır. Postreseptör bozukluklarda ise sinyal iletim sisteminde defektler, insülin reseptör substrat (IRS) fosforilasyon ve defosforilasyon bozuklukları, lipokin ve adipokin artışı, proinflamatuvar sitokin artışı, NF-kB aktivasyonu, mitokondrial hasarlar ve özellikle GLUT4 mutasyonları gibi faktörler etkili olabilmektedir. Bu mekanizmaların anlaşılması, insülin direncinin daha etkili tanı ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine yönelik önemli bir adımdır (Akyürek, 2022).

İnsülin direncinin değerlendirilmesinde genellikle hiperinsülinemik öglisemik klemp testi gibi klinik incelemeler kullanılır ve bu testler altın standart veya modifiye edilmiş insülin baskılama testi olarak kabul edilir. Ancak bu testlerin karmaşık yapısı ve hipoglisemi riski nedeniyle klinik ortamda rutin kullanımları sınırlıdır. Yaygın olarak tercih edilen alternatif test homeostatik model değerlendirmesi (HOMA-IR) olarak bilinir ve daha yakın zamanda kantitatif insülin duyarlılığı kontrol indeksi (QUICKI) geliştirilmiştir. Her iki yöntem de insülin direncini değerlendirmek için açlık insülin ve glukoz konsantrasyonlarını kullanır ve klemp çalışmalarının sonuçlarıyla makul bir korelasyon gösterir. Bu laboratuvar testleri aynı zamanda hızlı, kolay ve hastaya rahatsızlık vermeyen yöntemlerdir. Ancak, HOMA-IR ve QUICKI erken evre insülin direncini tespit edemez (Park vd., 2015). İnsülin direncini gösteren test yöntemlerinin pozitif ve negatif yönlerinin karşılaştırılması Şekil 6'de verilmiştir. HOMA-IR açlık insülini ($\mu\text{u/mL}$) ile açlık plazma glukozu (mg/dL) arasındaki oranı ifade eden $[\text{HOMA} = (\text{açlık insülini} \times \text{açlık plazma glukozu}) / 405]$ denklemi kullanılarak hesaplanır (Ulu & Yüksel, 2015). Normal bireyler için HOMA-IR değerinin

2,7'den küçük olması gereklidir. Eğer bir bireyin HOMA-IR değeri 2,7 veya daha yüksekse, insülin direncinin var olduğu düşünülmektedir (Arslan, 2022).

Metod	Yöntem	Pozitif yönleri	Negatif yönleri
HOMA-IR	$[\text{Glukoz (mg/dL)} \times \text{insülin (U/L)}] / 405$	Kolay ve ucuz	Diyabetiklerde yanıltıcı olabilir
Bazal insülin düzeyi	Açlıkta ölçülür	Kolay ve ucuz	Referans aralıkları değişken
Glukoz/insülin	Açlıkta ölçülür	Kolay ve ucuz	DM de güvenilir değil
QICKI	$1 / [\log \text{insülin} + \log \text{glukoz}] / 405$	Kolay ve ucuz	DM de duyarlılığı azalır
OGTT	75-100 mg glukoz yapılır	DM tanısı için tercih edilir	Kişisel değişkenlerden etkilenebilir
Hiper insülinemik öglisemik klempe	Eş zamanlı glukoz ve insülin infüzyonu	Doku glukoz kullanımını gösterir	Uygulaması profesyonellik gerektirir

Şekil 6. İnsülin direncini gösteren test yöntemleri (Akyürek, 2022)

1.10. Kafeterya Diyeti

1955 yılında beslenme uzmanı Olaf Mickelsen, kemirgenlerin beslenme alışkanlıklarını değiştirerek obez olabileceklerini öne sürdü. O dönemde genel bir inanişaya göre sağlıklı sıçanlar ve fareler (ve diğer hayvanlar) kendiliğinden obeziteye eğilim göstermezlerdi ve sadece ihtiyaç duydukları kadar yerlerdi. Ancak Mickelsen ve meslektaşları lüks diyeti olarak adlandırdıkları şeker, pamuk tohumu yağı ve shortening içeren yağlı bir diyet ile albino sıçanlarını dokuz aylık bir süre içinde normal boyutlarının iki katına çıkmasını sağladılar. 60 yıldan uzun bir süre sonra, kemirgenler için bu yüksek yağlı rejimin çeşitli varyasyonları yaygın olarak kullanılmaya devam etmektedir. Günümüz bilim insanları farelerde veya sıçanlarda diyetle bağlı obezite üzerinde çalışmak istediklerinde genellikle hayvanlara şeker ve bir miktar protein içeren, büyük miktarlarda yağ eklenmiş pelete sınırsız erişim sağlarlar. Ancak bu diyetlerin kullanımı, metabolik araştırmaları olumsuz yönde etkileyebilecek bazı sorunları beraberinde getirmiştir. Örneğin, yüksek yağlı diyetlerin (YYD) insan sağlığındaki rolüne dair tartışmalı beslenme teorilerini desteklediği ve bu diyetlerin genellikle iyi kontrol edilmediği ve tanımlanmadığı ifade edilmektedir. Bu durum araştırmacıların farklı zamanlarda farklı yağ formlarını kullanmaları

ve bu yağların hayvan fizyolojisi üzerinde farklı etkilere sahip olmalarıyla daha karmaşık hale gelmektedir. Bu bağlamda kemirgenler üzerinde yapılan bu tür YYD deneylerinin insanlardaki obezite ile daha az benzerlik gösterdiği ve metabolik araştırmalarda daha dikkatli bir yaklaşımın benimsenmesi gerektiği konusunda eleştirel bir bakış açısını vurgulamaktadır (Engber, 2018). Diğer bir ifadeyle, obeziteye neden olan deneysel diyetlerin çoğu, insan diyetinin karmaşıklığından ve çeşitliliğinden yoksun olup genellikle kemirgen diyetleri peletlenmiş ve kullanımı kolay hale getirilmiştir. Bu diyetlerin sınırlı çeşitliliği, kemirgenlerin bu tür diyetlerle beslendiklerinde neden genellikle belirgin veya kalıcı hiperfaji sergilemediklerini açıklayabilir. Bu gözlem farelerin standart düşük yağlı diyetten daha lezzetli bir YYD'ye geçtikten sonraki ilk günlerde büyük ölçüde aşırı yedikleri ancak daha sonra enerji alımlarını kontrol diyetiyle beslenen hayvanların seviyelerine yaklaşacak şekilde kademeli olarak azalttıkları şeklinde desteklenmektedir. Kemirgenlere çeşitli lezzetli ve yüksek enerjili "abur cubur" yiyeceklerden oluşan kafeterya diyeti (KAF) ile serbest erişim sağlayarak beslemek obez insanlarda gözlenen hedonik hiperfajiyi daha iyi taklit etmek için alternatif bir yaklaşımdır. Sonuç olarak kafeterya diyeti, YYD ile karşılaştırıldığında daha belirgin kilo alımını ve daha şiddetli diyabetik semptomları teşvik etmektedir (Kleinert vd., 2018).

Yapılan araştırmada, KAF ile beslenen farelerin YYD veya standart diyetle beslenen farelere göre daha ciddi karaciğer hasarı geliştirdiği tespit edilmiştir. Ayrıca, KAF diyeti ile beslenen farelerde renal interstisyel fibrozis, inflamasyon ve kalp hasarı geliştiği ifade edilmiştir (Zeeni vd., 2015). Bu çalışmada ise farelerde 12 hafta süren YYD ve KAF diyetlerinin metabolik etkilerini incelenmiştir. KAF diyeti, hiperfaji, adiposit hipertrofisi, hiperglisemi, daha erken glukoz intoleransı ve insülin direncini daha etkili bir şekilde ortaya çıkarırken, YYD diyeti lipid profili değişikliklerini daha etkili bir şekilde göstermiştir (Higa vd., 2014). Sonuç olarak KAF diyetinin YYD göre obezite ve ilişkili parametreler üzerinde daha fazla zararlı etkiye sahip olduğu iddia edilmiştir. Ayrıca, yapılan deney hayvanı çalışmalarında KAF diyetinin YYD'ye kıyasla daha belirgin metabolik değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir (Sampey vd., 2011).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar

Bu tez çalışması süresince laboratuvarımızda kullanılan cihazlar ve malzemeler üretici firmaları ile Tablo 1’de gösterildi.

Tablo 1. Kullanılan malzemeler ve cihazlar

Cihaz	Üretici Firma/Model
HPLC-PDA	Shimadzu Corporation LC 20AT- SPD M30A
UV-Vis spektrofotometre	Spectro UV-Vis Double Beam PC LaboMed Inc., Los Angeles, CA, USA
pH metre	Mettler Toledo, Schwerzenbach, İsviçre
Saf Su Cihazı	Direct-Q 3UV Water Purification System, Merck, USA
Vorteks karıştırıcı	Labnet VX100, MO BIO Laboratories, Inc., NJ, USA
Etüv	Nüve, EN 400, Ankara, Türkiye
Hassas Terazı	Presica LX 320 A, Dietikon, İsviçre
Refraktometre	Atago, İstanbul, Türkiye
Rotary evaporatör	IKA®-Werke, RV 05 Basic, Staufen, Almanya
Magnetik karıştırıcı	Heidolph MR HEI-Standard, Schwabach, Almanya
Filtre	Whatman Spartan 13/ 0,45 RC Dassel, Almanya
Vakum Pompası	Buchi Vacuum Pump V-700, Flawil, İsviçre
Yarı otomatik pipetler	Eppendorf Research® Plus Hamburg, Almanya
Kimyasal Maddeler	Üretici Firma
Klorojenik asit	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya
Protokatekuik asit	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya
Gallik asit	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya
Epikateşin	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya
<i>m</i> -OH benzoik asit	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya
Şiringik asit	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya
<i>p</i> -OH benzoik asit	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya
Kafeik asit	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya
Şiringik asit	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya
Resveratrol	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya
Ferulik asit	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya
Ellagik asit	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya
Myrisetin	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya
<i>p</i> -kumarik asit	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya
Rutin	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya
<i>m</i> -OH benzoik asit	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya

Tablo 1'in devamı

<i>t</i> -Sinnamik asit	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya
Ramnetin	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya
Kuersetin	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya
Krisin	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya
Luteolin	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya
Pinosembrin	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya
Hesperetin	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya
Apigenin	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya
Kafeik asit feniletil ester	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya
Daidzein	Cayman Chemical, Michigan, ABD
Etanol	Merck, Darmstadt, Almanya
Kurkumin	Alfa Aesar, Massachusetts, ABD
Asetik Asit	Merck, Darmstadt, Almanya
Al(NO ₃) ₃	Merck, Darmstadt, Almanya
NH ₄ CH ₃ COO	Carlo Erba Reagent, Fransa
Etil asetat	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya
Metanol-LC saflıkta	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya
Na ₂ CO ₃	Merck, Darmstadt, Almanya
Dietil eter	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya
Folin-Ciocalteu's phenol reaktifi	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya
Asetonitril-LC Saflıkta	Merck, Darmstadt, Almanya
DPPH	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya
TPTZ	Merck, Darmstadt, Almanya
HCl	Merck, Darmstadt, Almanya
Troloks	Applichem, Darmstadt, Almanya
FeCl ₃	Merck, Darmstadt, Almanya
CH ₃ CO ₂ Na.3H ₂ O	Merck, Darmstadt, Almanya
α -amilaz (A3176)	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya
α -glukosidaz (G0660)	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Almanya
Kullanılan Kitler	
IL-6 Fare ELISA kiti (E-EL-M0044)	Elabscience
TNF α Fare ELISA kiti (E-EL-M3063)	Elabscience
UCP-1 Fare ELISA kiti (E-EL-M0717)	Elabscience
Adiponektin Fare ELISA kiti (E-EL M0002)	Elabscience
İnsulin Fare ELISA kiti (E-EL-M1382)	Elabscience
Leptin Fare/Sıçan ELISA kiti (MOB00)	R&D System

2.2. Kullanılan Deney Hayvanı Temini ve Bakımı

Bu çalışmada, KTÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden 42 adet, 5-6 haftalık ve 16-18 gr ağırlığında erkek C57BL/6 ırkı fare kullanıldı. Fareler, 12 saat karanlık ve 12 saat aydınlık bir ortamda tutuldu ve ad libitum olarak beslendi. Tüm deneyler, Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 2021/3 protokol no'lu etik kurulu (Bkz. Hayvan Deneyleri Etik Kurul Onay Belgesi) başvurusunun onayıyla gerçekleştirildi. Fareler, hassas bir terazi (Venezia Electronic Compact Scale SF-400A, Çin) kullanılarak tartıldıktan sonra kabul edildi ve kafeslere (RAIR IsoSystem, Seaford, DE ABD) yerleştirildi.

2.3. Kullanılan Yem Deney Hayvanlarına Uygulanan Diyet Uygulaması

Standart diyet (STD) olarak kontrol grubuna Optima Besin Maddeleri (Bolu) şirketinin üretmiş olduğu fare yemi (parti no: 45069) kullanıldı. KAF olarak çalışma grubuna ise Arden Araştırma & Deney (Ankara) firmasının hazırlamış olduğu pelet yemler verildi. Tablo 2 ve

Tablo 3’de farelere verilen STD ve KAF’nın enerji ve makro besin ögesi içerikleri yer almaktadır. Planlanan çalışma süresince tüm gruplara yem ve su ad libitum olarak verildi.

Tablo 2. Standart diyet kompozisyonu

Analitik Bileşenler	%	İz elementler	mg/kg	Vitaminler	IU/Kg
Ham protein	24	3b202 İyot	1,3	3a672a Vitamin A	36000
Ham selüloz	3,2	3b302 Kobalt	0,15	E67 Vitamin D3	6500
Ham yağ	5,09	E4 Bakır	16		
Ham kül	8,2	3b502 Mangan	155		
Lizin	1,4	Çinko oksit	130		
Methionin	0,6	E8 Selenyum	0,35		
Kalsiyum	1,13				
Fosfor	0,86				
Sodyum	0,28				

*Değerler Optima yem paketi üzerindeki besin etiketinden oluşturulmuştur.

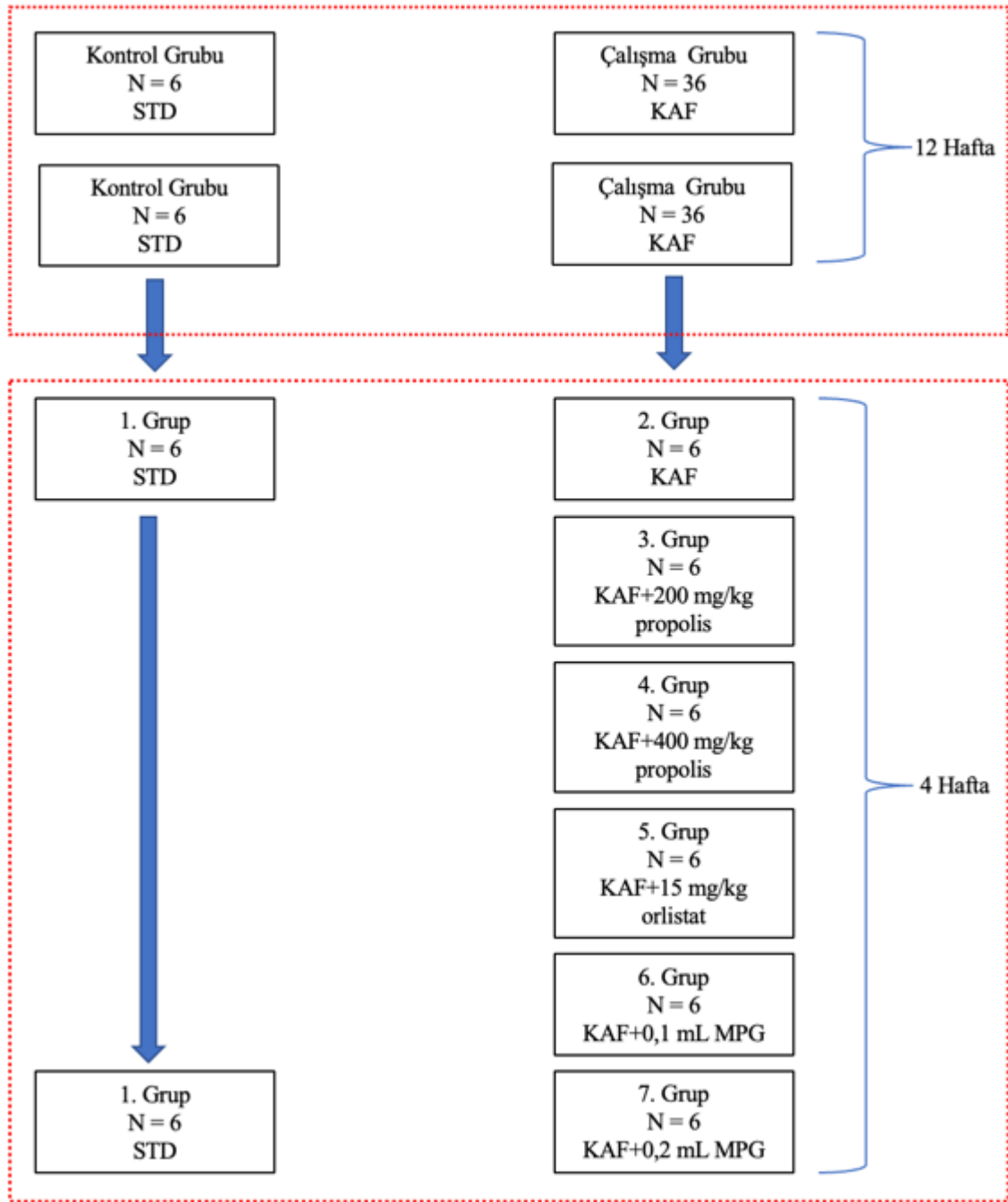
Tablo 3. Kafeterya diyet kompozisyonu

Kullanılan Gıdalar	Hazır	Kullanılan Miktarlar (g)	Toplam Karbonhidrat (g)	Toplam Protein (g)	Toplam yağ (g)	Toplam kalori (kkal)
Normal yem		1000	430,2	240	55	3000
Cips		1000	605	72	245	4910
Bisküvi Petibör		10000	7370	800	1200	44000
Gofret		1000	640	48	240	5000
Kakao krema		500	273	21,5	87,5	1975
dolgulu kek						
Meyve dolgulu kek		500	280	21	74,5	1890
Selüloz		500	0,00	0,00	0,00	0,00
Yağ		4500	0,00	0,00	4500	40500
Mısır nişastası		2000	2000	0,00	0,00	8000
Pekmez		1000	690	14	2	2830
Yağsız süt tozu		1000	800	200	0,00	4000
Peynir altı suyu		1000	950	50	0,00	4000
Toplam		24000	1438,20	1466,50	6404	120105
Enerji				5.004 kcal/g		

2.4. Deney Grupları

Fareler, kontrol ve çalışma grupları olarak rastgele iki gruba ayrıldı. Çalışma grubundaki fareler, KAF ile beslendi ve kontrol grubundaki fareler, STD ile beslendi. Farelerin vücut ağırlıkları, 0,1 g hassasiyetli bir terazi (Venezia Electronic Compact Scale SF-400A, Çin) 16 hafta boyunca 16.00-18.00 saatleri arasında haftalık olarak ölçüldü.

Çalışma grubu 12 hafta boyunca KAF ile beslendikten sonra farelerin ağırlık tartımı yapıldı. Başlangıç ağırlığına göre %8-20 ağırlık artışı sağlamış olan fareler obez kabul edildi (Gün, 2020; Thibault, 2013). Obez kabul edilen fareler rastgele 6 gruba ayrılmış ve 4 hafta boyunca su bazlı Anadolu propolis ekstraktı (SBAP), orlistat ve mono propilen glikol (MPG) farelere oral gavaj yoluyla verildi. Bunlar; KAF (N=6), 200 mg/kg/gün SBAP+KAF (N=6), 400 mg/kg/gün SBAP+KAF (N=6), 15 mg/kg/gün orlistat+KAF (N=6), 0,1 mL MPG+KAF (N=6) ve 0,2 mL MPG+KAF (N=6). Çalışma sürecinin tüm aşamaları Şekil 7' de verildi.



Şekil 7. Çalışma planı

1. Grup: Kontrol grubu (STD)
2. Grup: Kafeterya grubu (KAF)
3. Grup: KAF + düşük doz propolis grubu (KAF+DDP)
4. Grup: KAF + yüksek doz propolis grubu (KAF+YDP)
5. Grup: KAF + rlistat grubu
6. Grup: KAF + düşük doz propolis çözgen grubu (KAF+P1)
7. Grup: KAF + yüksek doz propolis çözgen grubu (KAF+P2)

2.5. Kan ve Doku Örneklerinin Alınması

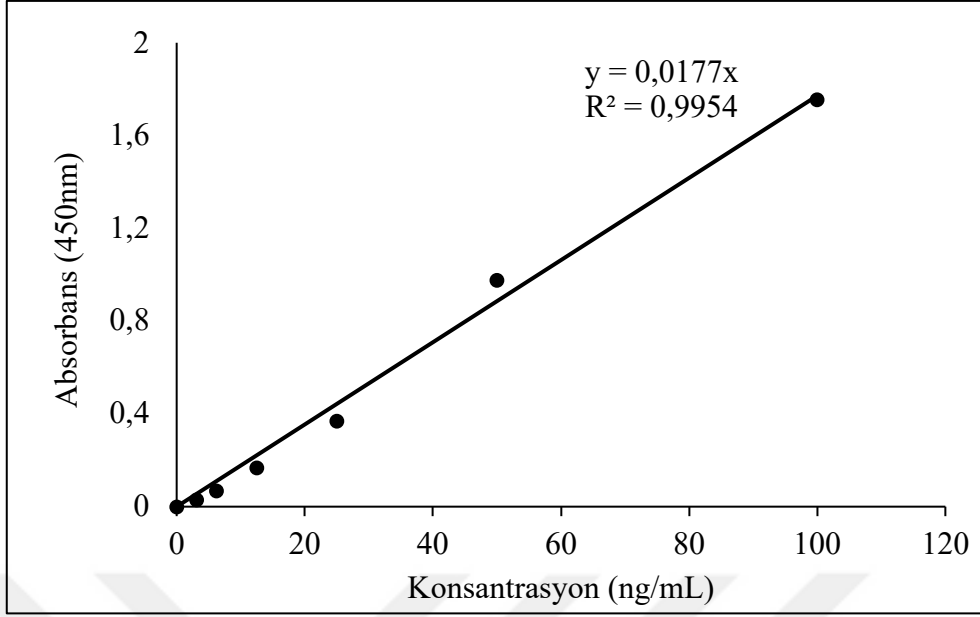
16 haftalık deney süresini tamamlayan fareler 12 saat boyunca aç bırakıldı. Akabinde son ağırlık tartımları yapıldıktan sonra dekapitasyon yöntemi ile kurban edildiler. Alınan kan örnekleri biyokimya tüplerine alınarak pıhtılaşmaları sağlandı. Santrifüj cihazında 1000 Xg'de işleme tabi tutularak serumları ayrıştırıldı. Elde edilen serumlar, biyokimyasal analizler için uygun olan kapaklı ve plastik eppendorf tüplere aktarıldı ve -80°C'deki derin dondurucuda saklandı. Farelerin epididimal yağ dokusu (EYD) ve karaciğer dokuları alınarak tartıldı. Histopatolojik incelemeler yapılmak için %10'luk formaldehite konuldu. Tartılan EYD değerleri ile % adiposite indeksi $((\text{EYD(g)}/\text{total vücut ağırlığı(g)}) \times 100)$ formülü ile hesaplandı.

2.6. Serum Biyokimya Parametrelerinin Ölçümü

Elde edilen serum numunelerinde pankreas fonksiyonlarını değerlendirmek için amilaz, karaciğer fonksiyonlarını değerlendirmek için aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT), genel metabolik durumu değerlendirmek için ise glukoz, trigliserid ve kolesterol seviyeleri Beckman Coulter Analyzer AU 5800 adlı otoanalizör ile KTÜ Farabi Hastanesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı'nda ölçüldü. ALT ve AST değerleri ise U/L, amilaz, trigliserit, kolesterol ve glukoz değerleri mg/dL olarak ifade edildi.

2.7. Serum İnsülin Seviyesinin Ölçümü

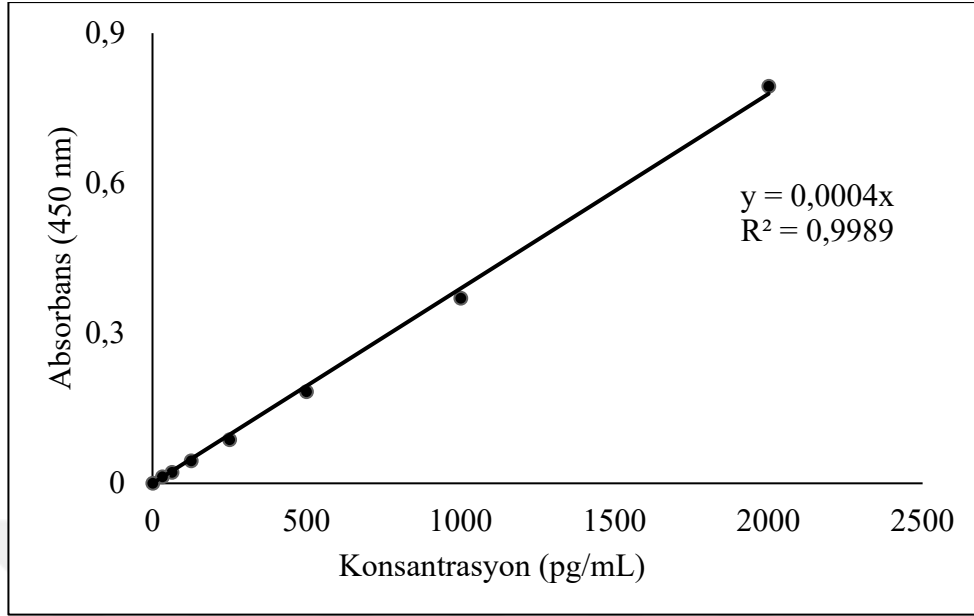
Serum insülin ölçümünde Elabscience (ABD) firmasının fareler için ürettiği E-EL-M1382 ürün kodlu insülin ELISA kiti kullanıldı. Serumda insülin ölçümü kit protokolüne uygun şekilde yapıldı. Numune konsantrasyonları Şekil 8'deki standart grafiğine göre pg/mL cinsinden hesaplandı. Ayrıca, farelerde insülin direncinin belirlenmesi amacıyla açlık glukoz ve insülin değerlerinden yola çıkılarak homeostatik model değerlendirme (HOMA) yöntemi uygulanmış ve HOMA-IR değeri hesaplanmıştır. Hesaplama, $\text{HOMA-IR} = [(\text{insülin } (\mu\text{U/mL}) \times \text{açlık glukoz (mmol/L)})/22.5]$ formülü kullanılarak gerçekleştirilmiştir (X. Li vd., 2019).



Şekil 8. İnsülin standart grafiği

2.8. Serum Leptin Seviyesinin Ölçümü

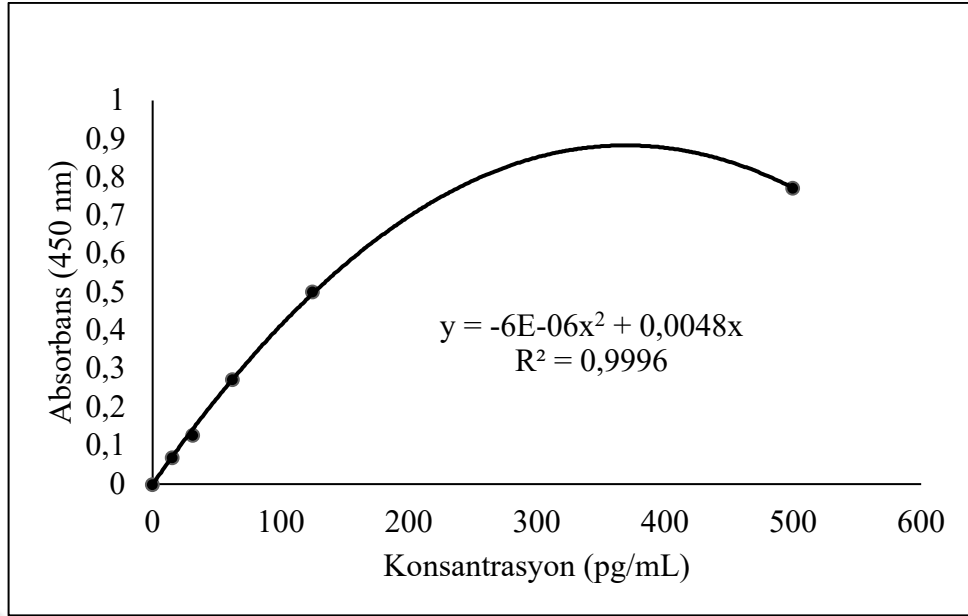
Serum leptin ölçümünde R&D System (Minnesota, ABD) firmasının fareler için ürettiği M0B00B ürün kodlu leptin ELISA kiti kullanıldı. Serumda leptin ölçümü kit protokolüne uygun şekilde yapıldı. Numune konsantrasyonları Şekil 9'daki standart grafiğine göre pg/mL cinsinden hesaplandı.



Şekil 9. Leptin standart grafiği

2.9. Serum Adiponektin Seviyesinin Ölçümü

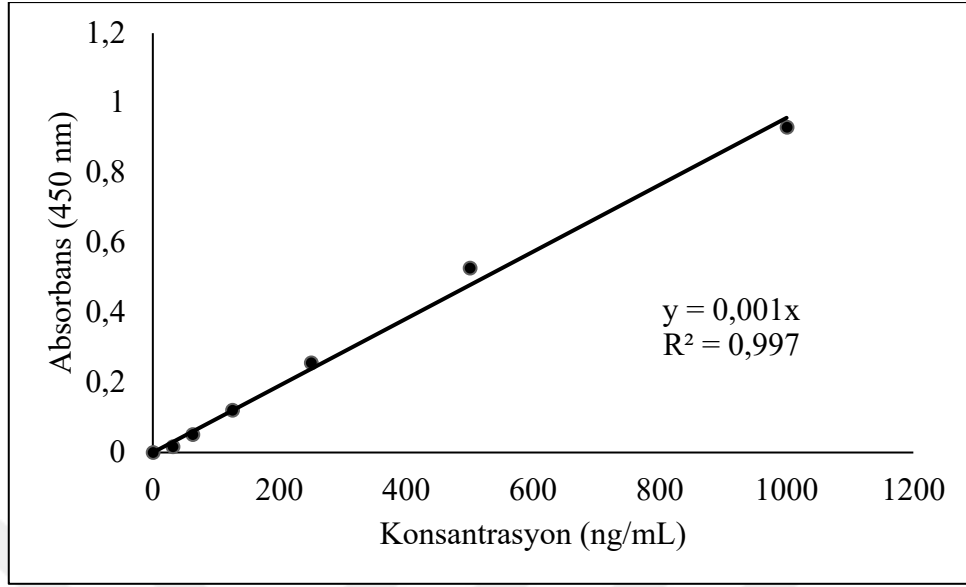
Serum adiponektin ölçümünde Elabscience (ABD) firmasının fareler için ürettiği E-EL-M0002 ürün kodlu adiponektin ELISA kiti kullanıldı. Serumda adiponektin ölçümü kit protokolüne uygun şekilde yapıldı. Numune konsantrasyonları Şekil 10'daki standart grafiğine göre pg/mL cinsinden hesaplandı.



Şekil 10. Adiponektin standart grafiği

2.10. Serum TNF α Seviyesinin Ölçümü

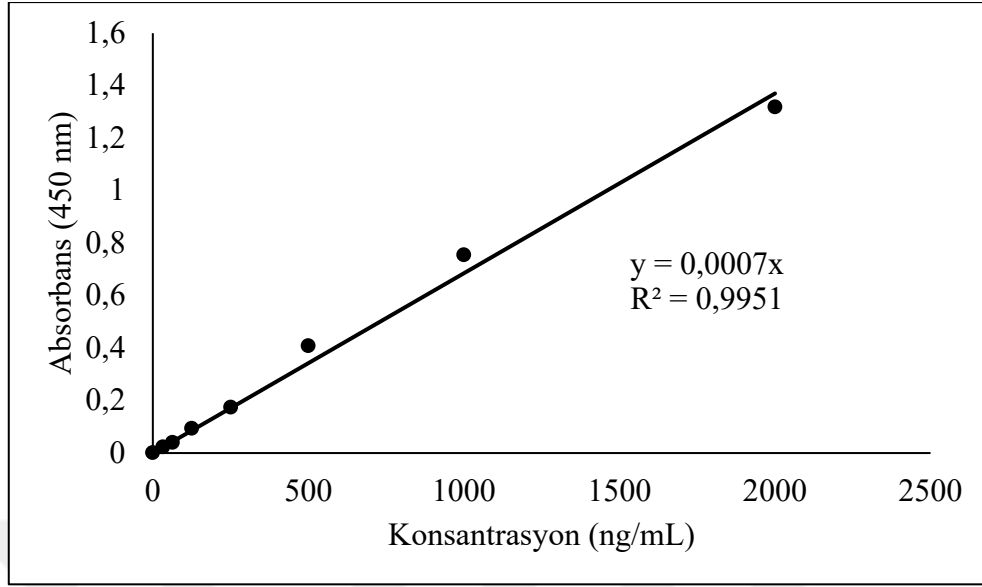
Serum TNF α ölçümünde Elabscience (ABD) firmasının fareler için ürettiği E-EL-M0049 ürün kodlu TNF α ELISA kiti kullanıldı. Serumda TNF α ölçümü kit protokolüne uygun şekilde yapıldı. Numune konsantrasyonları Şekil 11'deki standart grafiğine göre ng/mL cinsinden hesaplandı.



Şekil 11. TNF α standart grafiği

2.11. Serum IL-6 Seviyesinin Ölçümü

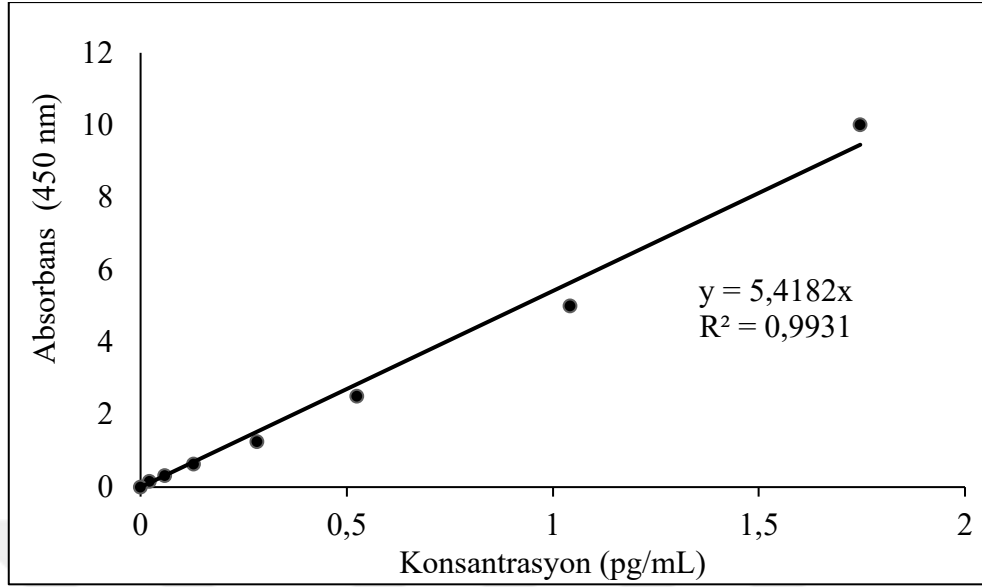
Serum IL-6 ölçümünde Elabscience (Minnesota, ABD) firmasının fareler için ürettiği E-EL-M0044 ürün kodlu IL-6 ELISA kiti kullanıldı. Serumda IL-6 ölçümü kit protokolüne uygun şekilde yapıldı. Numune konsantrasyonları Şekil 12'deki standart grafiğine göre ng/mL cinsinden hesaplandı.



Şekil 12. IL-6 standart grafiği

2.12. Serum UCP-1 Seviyesinin Ölçümü

Serum UCP-1 ölçümünde Elabscience (ABD) firmasının fareler için ürettiği E-EL-M0717 ürün kodlu UCP-1 ELISA kiti kullanıldı. Serumda UCP-1 ölçümü kit protokolüne uygun şekilde yapıldı. Numune konsantrasyonları Şekil 13'deki standart grafiğine göre pg/mL cinsinden hesaplandı.



Şekil 13. UCP-1 standart grafiği

2.13. Karaciğer ve Yağ Dokularının Histopatolojik Değerlendirilmesi

Alınan karaciğer ve EYD örnekleri %10'luk formaldehit çözeltisi içine konularak 48 saat fiks edildi. Örnekler parafin bloklara gömülerek mikrotom yardımıyla 4-5 µm kalınlığında kesitler elde edildi. Lam üzerinde Hematoksilen ve Eozin (H&E) boyasıyla boyandı. Olympus BX51 mikroskobu ile dokuların histoloji yapıları incelendi ve Olympus DP71 kamera ataçmanı ile fotoğraflanma işlemi gerçekleştirildi. EYD'de yağ hücreleri boyutu özellikleri değerlendirildi. 10X objektif kullanılarak her deney grubuna ait 10 görüntü alındı ve gruplar arası farkı araştırmak için kullanıldı.

2.14. Su Bazlı Anadolu Propolis Ekstrakt Örneğinin Temini

Çalışmada SBS Bilimsel Bio. Çözümler San. ve Tic. A.Ş.'nin ürettiği su bazlı Anadolu propolis ekstraktı kullanıldı.

2.15. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini

SBAP'ın toplam fenolik içeriğini belirlemek için Folin-Ciocalteu metodu kullanıldı (Slinkard & Singleton, 1977). Bu yöntemle göre fenolik bileşiklerin indirgenliği ve Folin-

Ciocalteu reaktifinin oksitleyici ajan olarak görev yaptığı bir redoks reaksiyonuna dayanmaktadır. İndirgenmiş reaktif tarafından oluşan mavi renk, analiz edilen numunedeki toplam fenolik içeriği belirlemek için spektrofotometrik olarak ölçülmektedir. Bu çalışmada, standart fenolik bileşik olan gallik asit kullanılarak bir standart eğri oluşturuldu. Farklı konsantrasyonlarda (1; 0,5; 0,25; 0,125; 0,062 mg/mL) gallik asit hazırlandı ve standart eğriyi oluşturmak için absorbansları 760 nm’de ölçüldü. Alınan absorbans değerleri fenolik madde miktarı ile doğru orantılıdır. Örnekteki fenolik madde miktarı, standart kalibrasyon grafiği kullanılarak hesaplandı ve sonuç, gram örnek başına miligram gallik asit eşdeğeri (mg GAE/mL) olarak rapor edildi.

Reaktif körünün hazırlanması ve ölçüm yapılması:

1. Bir test tüpünde 700 µL distile su ve 400 µL 0,2 N Folin reaktifi vorteksleyerek homojen hale getirildi ve 3 dakika bekletildi.
2. 400 µL %10 Na₂CO₃ çözeltisi test tüpüne eklendi ve tekrar vorteksleyerek homojen hale getirildi.
3. Karışım, 2 saat boyunca oda sıcaklığında inkübe edildi.
4. 2 saat sonra, oluşan kompleksin fotometrik ölçümü Thermo Scientific Evolution TM 201, UV-VIS Spektrofotometre (Madison, ABD) kullanılarak 760 nm’de ölçümü gerçekleştirildi.

Standart çözeltilerin hazırlanması ve ölçüm yapılması:

1. Bir test tüpünde 680 µL distile su, 20 µL gallik asit çözeltisi ve 400 µL 0,2 N Folin reaktifi vorteksleyerek homojen hale getirildi ve 3 dakika bekletildi.
2. 400 µL %10 Na₂CO₃ çözeltisi test tüpüne eklendi ve tekrar vorteksleyerek homojen hale getirildi.
3. Karışım, 2 saat boyunca oda sıcaklığında inkübe edildi.
4. 2 saat sonra, oluşan kompleksin fotometrik ölçümü Thermo Scientific Evolution TM 201, UV-VIS Spektrofotometre (Madison, ABD) kullanılarak 760 nm’de ölçümü gerçekleştirildi.

SBAP’ın hazırlanması ve ölçüm yapılması:

1. Bir test tüpünde 680 µL distile su, 20 µL SBAP ve 400 µL 0,2 N Folin reaktifi vorteksleyerek homojen hale getirildi ve 3 dakika bekletildi.
2. 400 µL %10 Na₂CO₃ çözeltisi test tüpüne eklendi ve tekrar vorteksleyerek homojen hale getirildi.
3. Karışım, 2 saat boyunca oda sıcaklığında inkübe edildi.

4. 2 saat sonra, oluşan kompleksin fotometrik ölçümü Thermo Scientific Evolution TM 201, UV-VIS Spektrofotometre (Madison, ABD) kullanılarak 760 nm'de ölçümü gerçekleştirildi.

2.16. Toplam Flavonoid Madde Miktarı Tayini

Toplam flavonoid madde miktarını ölçmek için Fukumoto ve Mazza'nın belirttiği yöntem kullanıldı (Fukumoto & Mazza, 2000). Bu yöntem, flavonoidlerin alüminyum (III) ile reaksiyona girerek oluşturduğu renkli nihai ürünün 415 nm dalga boyunda ölçülmesiyle toplam flavonoid madde miktarını belirler. Bu çalışmada standart olarak flavonoid olan kuersetin kullanılarak standart kalibrasyon grafiği elde edildi. Bunu yapmak için 1 mg/mL kuersetin stok çözeltisi hazırlandı ve bu çözeltiden farklı konsantrasyonlarda (1; 0.5; 0.25; 0.125; 0.062; 0.031 mg/mL) çalışma çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltilerin absorbans değerleri ölçüldü ve kuersetin konsantrasyonlarına karşılık gelen bir standart kalibrasyon grafiği oluşturuldu. Sonrasında, örnek içindeki toplam flavonoid miktarı standart kalibrasyon grafiğinden yararlanarak hesaplandı. Sonuçlar, örnek başına mg kuersetin eşdeğeri (mg KE/mL) olarak sunuldu. Bu yöntem sayesinde, örneklerdeki toplam flavonoid miktarı doğru bir şekilde tespit edilebildi.

Reaktif körünün hazırlanması ve ölçüm yapılması:

1. Bir test tüpü kullanarak, 2400 µL metanol, 50 µL %10 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ ve 50 µL 1 M $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$ eklendi
2. Karışımın homojen hale gelmesi için vorteks cihazı kullanılarak iyice karıştırıldı.
3. Hazırlanan karışım 40 dakika bekletildi.
4. 40 dakika sonra, oluşan kompleksin absorbans değeri, Thermo Scientific Evolution TM 201, UV-VIS Spektrofotometre (Madison, ABD) kullanılarak 415 nm dalga boyunda fotometrik olarak ölçüldü.

Renk körünün hazırlanması ve ölçüm yapılması:

1. Bir test tüpü kullanarak, 250 µL SBAP ve 2250 µL metanol eklendi.
2. Karışımın homojen hale gelmesi için vorteks cihazı kullanılarak iyice karıştırıldı.
3. Hazırlanan karışım 40 dakika bekletildi.
4. 40 dakika sonra, oluşan kompleksin absorbans değeri, Thermo Scientific Evolution TM 201, UV-VIS Spektrofotometre (Madison, ABD) kullanılarak 415 nm dalga boyunda fotometrik olarak ölçüldü.

Standart çözeltilerin hazırlanması ve ölçüm yapılması:

1. Bir test tüpü kullanarak, 250 µL kuersetin, 2150 µL metanol, 50 µL %10 Al(NO₃)₃ ve 50 µL 1 M NH₄CH₃COO eklendi.
2. Karışımın homojen hale gelmesi için vorteks cihazı kullanılarak iyice karıştırıldı.
3. Hazırlanan karışım 40 dakika bekletildi.
4. 40 dakika sonra, oluşan kompleksin absorbans değeri, Thermo Scientific Evolution TM 201, UV-VIS Spektrofotometre (Madison, ABD) kullanılarak 415 nm dalga boyunda fotometrik olarak ölçüldü.

SBAP'ın hazırlanması ve ölçüm yapılması:

1. Bir test tüpü kullanarak, 250 µL SBAP, 2150 µL metanol, 50 µL %10 Al(NO₃)₃ ve 50 µL 1 M NH₄CH₃COO eklendi.
2. Karışımın homojen hale gelmesi için vorteks cihazı kullanılarak iyice karıştırıldı.
3. Hazırlanan karışım 40 dakika bekletildi.
4. 40 dakika sonra, oluşan kompleksin absorbans değeri, Thermo Scientific Evolution TM 201, UV-VIS Spektrofotometre (Madison, ABD) kullanılarak 415 nm dalga boyunda fotometrik olarak ölçüldü.

2.17. Antioksidan Aktivite Testleri

2.17.1. Demir İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP)

Fe(III)-TPTZ (2,4,6-tris(2-pyridyl)-S-triazine) kompleksi antioksidanlar varlığında indirgenir. Bu indirgenme işlemi sonucunda oluşan Fe(II)-TPTZ kompleksi 593 nm dalga boyunda maksimum absorbansa sahiptir (Benzie & Strain, 1999). FRAP yöntemi olarak adlandırılan bu analiz, antioksidanların antioksidan güçlerini değerlendirmek için kullanılan basit ve yaygın bir yöntemdir. Deneysel işlemler için FRAP reaktifi taze olarak hazırlandı ve 10:1:1 oranında 300 mM pH 3.6 asetat tamponu, 10 mM TPTZ ve 20 mM FeCl₃ çözeltilerinin karıştırılmasıyla meydana geldi. Standart kalibrasyon grafiğini elde etmek için Troloks kullanıldı. 1000 µM stok çözeltisinden seri seyreltme işlemi yapılarak çalışma çözeltileri hazırlandı. Deneysel işlemler tamamlandıktan sonra, çözelti konsantrasyonlarına karşılık gelen absorbans değerleri çizilerek, örnekteki antioksidan gücü Troloks'a oranla hesaplandı.

Reaktif körünün hazırlanması ve ölçüm yapılması:

1. Bir test tüpü kullanarak, 50 µL metanol ve 1500 µL FRAP reaktifi eklendi.
2. Karışımın homojen hale gelmesi için vorteks cihazı kullanılarak iyice karıştırıldı.
3. Hazırlanan karışım 4 dakika bekletildi.
4. 4 dakika sonra, oluşan kompleksin fotometrik ölçümü 593 nm'de Thermo Scientific Evolution TM 201, UV-VIS Spektrofotometre (Madison, ABD) kullanılarak gerçekleştirildi.

Renk körünün hazırlanması ve ölçüm yapılması:

1. Bir test tüpü kullanarak, 50 µL SBAP ve 1500 µL metanol eklendi.
2. Karışımın homojen hale gelmesi için vorteks cihazı kullanılarak iyice karıştırıldı.
3. Hazırlanan karışım 4 dakika bekletildi.
4. 4 dakika sonra, oluşan kompleksin fotometrik ölçümü 593 nm'de Thermo Scientific Evolution TM 201, UV-VIS Spektrofotometre (Madison, ABD) kullanılarak gerçekleştirildi.

Standart çözeltilerin hazırlanması ve ölçüm yapılması:

1. Bir test tüpü kullanarak, 1500 µL FRAP reaktif ve 50 µL $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ standart çözeltisi eklendi.
2. Karışımın homojen hale gelmesi için vorteks cihazı kullanılarak iyice karıştırıldı.
3. Hazırlanan karışım 4 dakika bekletildi.
4. 4 dakika sonra, oluşan kompleksin fotometrik ölçümü 593 nm'de Thermo Scientific Evolution TM 201, UV-VIS Spektrofotometre (Madison, ABD) kullanılarak gerçekleştirildi.

SBAP'ın hazırlanması ve ölçüm yapılması:

1. Bir test tüpü kullanarak, 1500 µL FRAP reaktif ve 50 µL SBAP eklendi.
2. Karışımın homojen hale gelmesi için vorteks cihazı kullanılarak iyice karıştırıldı.
3. Hazırlanan karışım 4 dakika bekletildi.
4. 4 dakika sonra, oluşan kompleksin fotometrik ölçümü 593 nm'de Thermo Scientific Evolution TM 201, UV-VIS Spektrofotometre (Madison, ABD) kullanılarak gerçekleştirildi.

2.17.2. DPPH• Radikal Temizleme Aktivite Analizi

DPPH• (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) sentetik olarak üretilen bir radikaldır ve 517 nm dalga boyunda maksimum absorbans gösterir. Örnekteki bileşenlerin radikal temizleme aktivitesini belirlemek için DPPH•'ın 100 µM'lik metanolik çözeltisi hazırlandı. DPPH• radikal temizleme aktivitesinin ölçülmesi için, örnek çözeltileri, DPPH• radikalini sabit tutulan ortama seri seyreltme yöntemiyle eklenerek kullanıldı. Reaktif körü olarak örneklerin çözücülerini kullanıldı. Örneklerle radikal 1:1 oranında karıştırıldı ve 517 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak absorbans değerleri ölçüldü. Elde edilen değerlerden üstel bir grafik çizilerek örnekteki antioksidan maddenin radikal temizleme gücü hesaplandı. Sonuçlar SC₅₀ değeri olarak ifade edildi. SC₅₀ değeri radikal miktarını yarıya indiren numune konsantrasyonunu belirtir. Bu değeri belirlemek için farklı konsantrasyon seviyeleri kullanılır. Bu nedenle çalışmamızda altı farklı konsantrasyon seviyesinde ölçümler gerçekleştirildi. Her bir örnek çözeltisinin radikallerle etkileşimi sonucunda 517 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçüldü ve örnek konsantrasyonlarına karşı absorbans grafiği oluşturuldu. Grafikten elde edilen üstel denklem sayesinde, örneklerin SC₅₀ değerleri mg/mL olarak hesaplandı (Molyneux, 2004).

Reaktif körünün hazırlanması ve ölçüm yapılması:

1. Bir test tüpü kullanarak 750 µL metanol ve 750 µL DPPH• reaktifi eklendi.
2. Karışımın homojen hale gelmesi için vorteks cihazı kullanılarak iyice karıştırıldı.
3. Hazırlanan karışım 40 dakika bekletildi.
4. 40 dakika sonra, oluşan kompleksin fotometrik ölçümü 517 nm'de Thermo Scientific Evolution TM 201, UV-VIS Spektrofotometre (Madison, ABD) kullanılarak gerçekleştirildi.

Renk körünün hazırlanması ve ölçüm yapılması:

1. Bir test tüpü kullanarak 750 µL metanol ve 750 µL SBAP eklendi.
2. Karışımın homojen hale gelmesi için vorteks cihazı kullanılarak iyice karıştırıldı.
3. Hazırlanan karışım 40 dakika bekletildi.
4. 40 dakika sonra, oluşan kompleksin fotometrik ölçümü 517 nm'de Thermo Scientific Evolution TM 201, UV-VIS Spektrofotometre (Madison, ABD) kullanılarak gerçekleştirildi.

SBAP'ın hazırlanması ve ölçüm yapılması:

1. Bir test tüpü kullanarak 750 µL SBAP ve 750 µL DPPH• reaktifi eklendi.

2. Karışımın homojen hale gelmesi için vorteks cihazı kullanılarak iyice karıştırıldı.
3. Hazırlanan karışım 40 dakika bekletildi.
4. 40 dakika sonra, oluşan kompleksin fotometrik ölçümü 517 nm'de Thermo Scientific Evolution TM 201, UV-VIS Spektrofotometre (Madison, ABD) kullanılarak gerçekleştirildi.

2.18. RP-HPLC-PDA ile Fenolik Kompozisyon Analizi

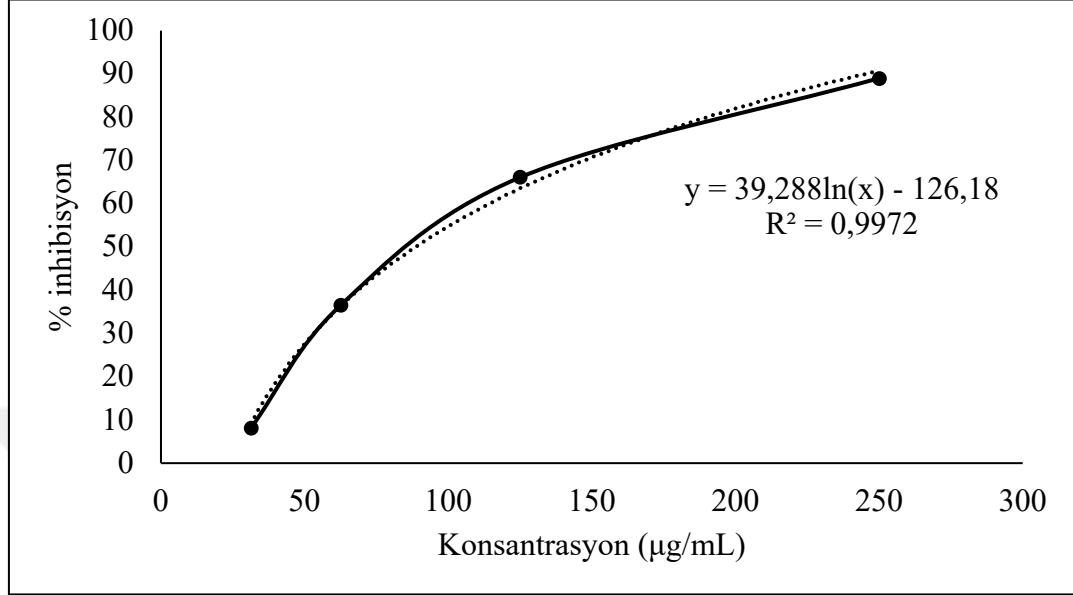
RP-HPLC-PDA'da fenolik kompozisyon analizi için sıvı-sıvı ekstraksiyonu yoluyla zenginleştirme yapılmıştır. Başlangıçta 15 mL'lik SBAP ekstraktı alındı ve çözücüsü 45°C'de döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. Kalan ekstrakt balonuna HCl ile pH 2 olacak şekilde ayarlanmış olan 10 mL su eklenerek ultrasonik banyoda çözüldü. Sıvı-sıvı ekstraksiyon işlemi için 5 mL dietileter ve ardından etilasetat kullanıldı. 45°C'de döner buharlaştırıcıda organik çözücüler uzaklaştırıldıktan sonra, balonda kalan kalıntı 2 mL metanol ile çözüldü, 0,45 µm filtreden (RC membran, 0,45 µm) geçirildi. 200-800 nm dalga boyu aralığında PDA dedektörlü HPLC (Shimadzu Corporation LC 20AT) sisteminde C18 (250 mm x 4.6 mm, 5µm; GL Sciences) kolonu kullanılarak fenolik kompozisyon belirlendi (Kara vd., 2022a).

Çalışmamız kapsamında *p*-OH benzoik asit, gallik asit, *m*-OH benzoik asit, protokatekuik asit, *p*-kumarik asit, pinosembrin, kurkumin, klorojenik asit, resveratrol, şiringik asit, ferulik asit, *t*-sinnamik asit, epikateşin, ramnetin, rutin, kafeik asit, myrisetin, kuersetin, apigenin, daidzein, hesperetin, luteolin, krisin, CAPE ve ellagik asit olmak üzere 25 fenolik standardı kullanıldı.

2.19. α-amilaz İnhibisyonu

α-amilaz inhibitör aktivitesi dinitrosalisilik asit (DNS) metoduna göre belirlendi. 30 µL örnek çözeltisi, 60 µL 1U/mL α-amilaz enzimiyle 37 °C'de 10 dakika ön inkübasyona bırakıldı. Sonrasında uygun miktarda fosfat tamponu (60 mM, pH 7,40) ve 50 µL substrat çözeltisi (%1'lik çözünebilir nişasta) ilave edilip 37 °C'de 10 dakika reaksiyon gerçekleştirildi. 700 µL DNS reaktifi ilave edilip kaynar su banyosunda 10 dakika kaynatıldıktan sonra 540 nm'de absorbanslar okundu. Aynı yöntemle fakat enzim içermeyecek şekilde kör reaksiyon çözeltileri de hazırlandı. α-amilazın %50'sini inhibe eden örnek konsantrasyonu IC50 değeri olarak verildi. Standart inhibitör olarak akarboz kullanıldı

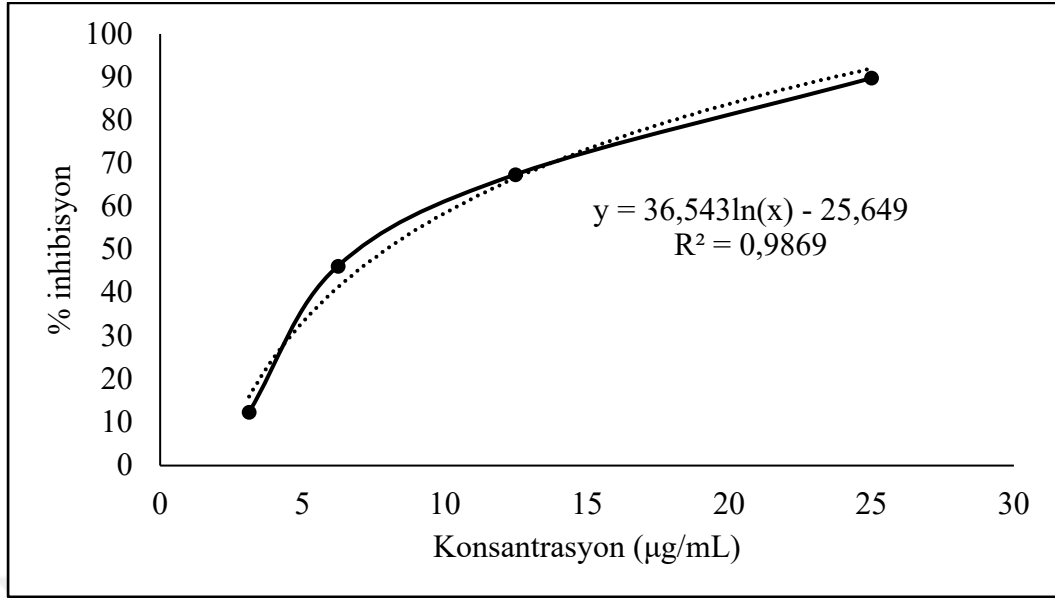
ve α -amilaz inhibisyon grafiği Şekil 14’de verilmiştir (Baltaş, 2021; El Adaouia Taleb vd., 2020; Miller, 2002).



Şekil 14. Akarboz α -amilaz inhibisyon grafiği

2.20. α -glukozidaz İnhibisyonu

α -glukozidaz inhibitör aktivitesinin belirlenmesi için 10 μL örnek çözeltisi 50 μL 1U/mL α -glukozidaz enzimiyle (α -glucosidase from *Saccharomyces cerevisiae*, Sigma) 37 $^{\circ}\text{C}$ 'de 10 dakika ön inkübasyona bırakıldı. Sonrasında 630 μL fosfat tamponu (60 mM, pH 7,40) ve 60 μL substrat çözeltisi (5 mM p-nitrofenil glukopiranozid, p-NPG) ilave edilip 37 $^{\circ}\text{C}$ 'de 10 dakika reaksiyon gerçekleştirildi. 750 μL 0,1 M Na_2CO_3 ilave edilerek reaksiyon durduruldu ve 400 nm'de absorbanslar okundu. Aynı yöntemle fakat enzim içermeyecek şekilde kör reaksiyon çözeltileri de hazırlandı. α -glukozidazın %50'sini inhibe eden örnek konsantrasyonu IC_{50} değeri olarak verildi. Standart inhibitör olarak akarboz kullanıldı ve α -glukozidaz inhibisyon grafiği Şekil 15’de verilmiştir (Baltaş, 2021; El Adaouia Taleb vd., 2020).



Şekil 15. Akarboz α-glukozidaz inhibisyon grafiği

2.21. Histoloji

Gruplardan alınan karaciğer ve yağ dokusu örnekleri, histolojik inceleme amacıyla %10'luk formaldehit çözeltisine yerleştirildi ve 48 saat boyunca fikse edildi. Daha sonra, örnekler parafin bloklara gömüldü ve ışık mikroskopik yöntemler için tam otomatik mikrotom (Leica RM 2255, Tokyo, Japonya) ile 4-5 µm kalınlığında kesitlere ayrıldı. Elde edilen kesitler, genel histolojik yapıyı değerlendirmek amacıyla Hematoksilen ve Eozin (H&E) boyası ile boyandı. İncelenen preparatlar için Olympus BX51 (Olympus, Tokyo, Japonya) mikroskobu kullanıldı. Bulgular, ışık mikroskobuna bağlı kamera ataçmanı (Olympus DP71; Olympus, Tokyo, Japonya) ile belgelenerek fotoğraflandı. Karaciğer dokusunun histopatolojik değerlendirmesinde vasküler konjesyon, hepatosit dejenerasyonu, sinüzoidal dilatasyon ve genişlemiş sinüzoidlerde konjesyon kantitatif olarak değerlendirildi. Yağ dokusunun değerlendirilmesinde ise yağ hücrelerinin boyutları ve aralarındaki histopatolojik özellikler üzerinde duruldu. Her deney grubuna ait yağ dokusu için 10 görüntü, 10X objektif kullanılarak fotoğraflandı (De Faveri vd., 2020; SARAL vd., 2016).

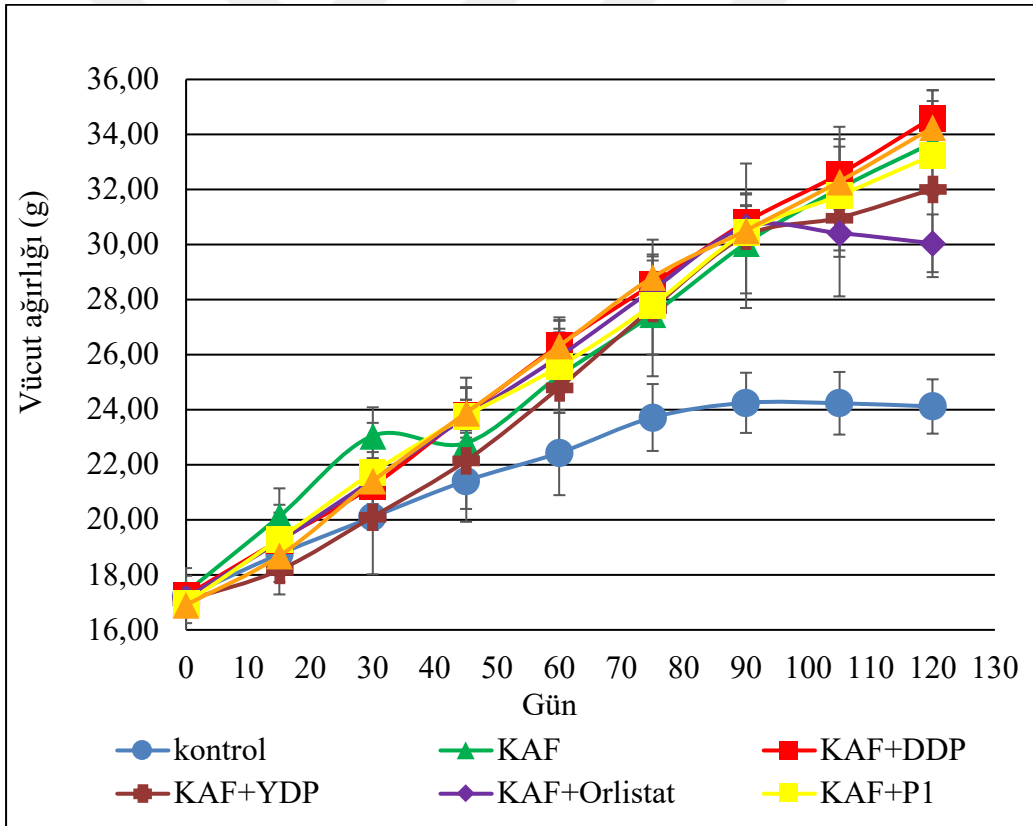
2.22. İstatistiksel Analizler

Çalışmada kullanılan verilerin istatistiksel analizi için SPSS (IBM SPSS Statistics 23) programı kullanıldı. "Çarpıklık ve Basıklık", "Shapiro-Wilk Testi", "Histogram" ve "Varyans" analizleri kullanılarak sayısal değerlerin normal dağılım uygunluğu analiz edildi. Sayısal verilerin istatistik analizlerinin sonuçları tablolarda ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verildi. Normal dağılım gösteren ve veri değişkenleri üzerinde gruplar arasındaki farkı belirlemek için Tek değişkenli ANOVA varyans analizi ve Duncan testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen ve veri değişkenleri üzerinde gruplar arasındaki farkı belirlemek için Kruskal-Wallis varyans analizi ve Mann-Whitney U testi kullanıldı. $p < 0.05$ düzeyindeki fark anlamlı olarak belirlendi

3. BULGULAR

3.1. SBAP Ekstrakt Örneğinin Vücut Ağırlığı, Epididimal Yağ Dokusu ve %Adiposite İndeksi Üzerine Etkisi

12. hafta sonunda KAF grubu ile kontrol grubu vücut ağırlıkları anlamlı derecede farklı bulundu ($p<0.05$) (Şekil 16). Deney sonunda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulundu ($p<0.05$) (Tablo 4). KAF grubu son vücut ağırlığı kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde arttı($p<0.05$). Kontrol grubunun son vücut ağırlığının en düşük değeri (24.12 ± 0.98 g) olduğu bulundu.



Şekil 16. 16 haftalık diyet süresince gruplardaki ağırlık değişimi (ortalama±standart sapma)

KAF, KAF+DDP, KAF+YDP ve KAF+Orlistat son vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında en düşük ağırlık değeri olan 30.05 ± 1.04 g ile KAF+Orlistat grubuna aittir ve istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). KAF, KAF+DDP ve KAF+YDP son

vücut ağırlıkları arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$). KAF+Orlistat grubun son vücut ağırlığı KAF+DDP grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldı ($p<0.05$) ama KAF+YDP grubuna göre anlamlı bir fark oluşmadı ($p>0.05$). KAF grubu ile KAF+DDP, KAF+YDP, KAF+P1 ve KAF+P2 grupları ağırlıkları arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$).

EYD ağırlığı en yüksek grubun KAF+DDP (1.67 ± 0.74 g) ve en düşük grubun kontrol (0.47 ± 0.08 g) olduğu bulundu ($p<0.05$). KAF grubunun EYD ağırlığı kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde arttı ($p<0.05$). KAF, KAF+DDP, KAF+YDP, KAF+P1 ve KAF+P2 gruplarının EYD ağırlıklarında istatistiksel olarak bir fark bulunmadı ($p>0.05$). KAF+Orlistat grubunun EYD ağırlığı KAF, KAF+YDP ve KAF+DDP gruplarına göre anlamlı bir şekilde azaldı ($p<0.05$).

KAF+DDP ile KAF+Orlistat karaciğer ağırlığı ile diğer grupların karaciğer ağırlığı arasında anlamlı bir fark bulundu ($p<0.05$). En yüksek karaciğer ağırlığına sahip olan (1.26 ± 0.08 g) KAF+YDP grubu bulundu.

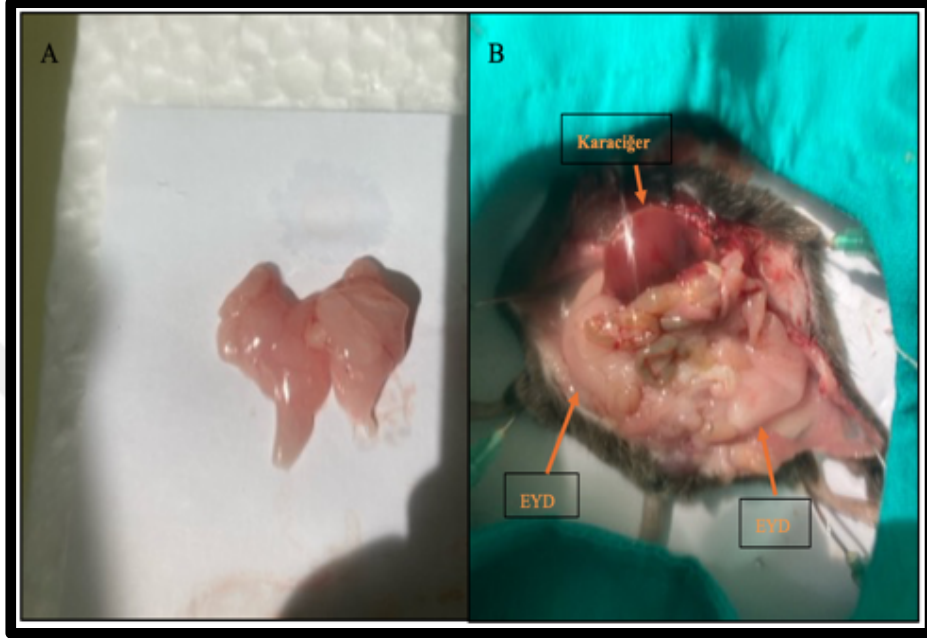
Kontrol grubu ve KAF+Orlistat grubunun % adiposite değeri KAF, KAF+DDP ve KAF+YDP grubuna göre anlamlı derecede azaldı ($p<0.05$). En yüksek % adiposite değeri (3.94 ± 0.54 g) KAF grubuna ve en düşük % adiposite değeri (1.93 ± 0.29 g) kontrol grubuna ait olduğu bulundu.

Tablo 4. Grupların vücut ağırlıkları, karaciğer ile EYD ve % Adiposite indeksi değerleri

	Kontrol	KAF	KAF+DDP	KAF+YDP	KAF+Orlistat	KAF+P1	KAF+P2
Başlangıç vücut ağırlığı (g)	17.22±14 ^a	17.36±0.69 ^a	17.25±0.57 ^a	17.07±0.46 ^a	17.17±0.39 ^a	16.97±0.31 ^a	16.91±0.20 ^a
Son vücut ağırlığı (g)	24.12±0.98 ^c	33.70±1.89 ^a	34.62±5.89 ^a	32.02±3.19 ^{ab}	30.05±1.04 ^b	33.25±0.60 ^{ab}	34.25±0.38 ^a
EYD ağırlığı (g)	0.47±0.08 ^b	1.33±0.24 ^a	1.67±0.74 ^a	1.20±0.44 ^a	0.70±0.26 ^b	1.22±0.11 ^a	1.28±0.11 ^a
Karaciğer ağırlığı (g)	1.21±0.09 ^a	1.26±0.16 ^a	1.18±0.32 ^b	1.26±0.08 ^a	1.00±0.08 ^b	1.25±0.13 ^a	1.23±0.16 ^a
%Adiposite indeksi	1.93±0.29 ^b	3.94±0.54 ^a	4.64±1.37 ^a	3.69±1.12 ^a	2.33±0.85 ^b	3.66±0.33 ^a	3.74±0.31 ^a

Değerler "ortalama±standart sapma" olarak gösterilmiştir. a, b, c harfleri istatistiksel olarak anlamlılığı belirtmektedir (p<0.05)

16 haftalık deney sonucunda 12 saat aç bırakılan fareler dekapitasyon ile sakrifiye edildi. Her bir farenin karaciğer ve EYD'si alınarak histopatolojik analizleri yapıldı (Şekil 17).



Şekil 17. KAF diyetiyle beslenen fareden çıkarılan EYD (A); KAF diyetiyle beslenen fare (B)

3.2. SBAP Ekstrakt Örneğinin Serum Biyokimya Parametreleri Üzerine Etkileri

Farelerden elde edilen serum örneklerinde belirlenen glukoz, insülin, kolesterol, trigliserit, leptin, adiponektin, IL-6, TNF α , UCP-1 ve amilaz, AST ve ALT değerleri Tablo 5'de verildi ve normal dağılım gösteren glukoz, AST, amilaz, trigliserit, IL-6, insülin, UCP-1 ve HOMA-IR parametrelerin istatistiksel olarak farkları belirtildi. Grupların normal dağılım göstermeyen ALT, kolesterol, leptin, adiponektin, ve TNF α parametrelerinin istatistiksel olarak karşılaştırılmaları Tablo 6'da verildi.

KAF grubuna ait AST, trigliserit, kolesterol ve leptin değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı şekilde arttı ($p < 0.05$) ve glukoz, amilaz, insülin, UCP-1, HOMA-IR, ALT ve adiponektin değerlerinde anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$).

KAF+DDP grubuna ait glukoz ve adiponektin değerleri KAF grubuna göre anlamlı bir şekilde arttı ($p<0.05$). ALT, AST, amilaz, trigliserit, kolesterol, insülin, IL-6, TNF α , HOMA-IR, UCP-1 ve leptin değerlerinde istatistiksel bir fark bulunmadı ($p>0.05$). KAF+YDP grubuna ait glukoz, AST ve adiponektin değerleri KAF grubuna göre anlamlı bir şekilde arttı bununla birlikte ALT ve trigliserit değerleri anlamlı bir şekilde azaldı ($p<0.05$). Fakat amilaz, IL-6, TNF α , insülin, UCP-1, HOMA-IR, kolesterol ve leptin değerleri arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmadı ($p>0.05$). KAF ile KAF+Orlistat gruplarına ait glukoz, AST, amilaz, kolesterol, leptin, adiponektin, TNF α , HOMA-IR, insülin ve UCP-1 değerleri arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmadı ($p>0.05$). KAF+Orlistat grubuna ait ALT ve trigliserit değeri KAF grubuna göre anlamlı bir şekilde düşük ıktı. Bununla birlikte IL-6 değeri daha düşük çıktı ($p<0.05$).

KAF+DDP, KAF+YDP ve KAF+Orlistat gruplarına ait glukoz, HOMA-IR, AST, ALT, kolesterol, trigliserit, insülin, leptin, adiponektin, TNF α ve IL-6 değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$). KAF+Orlistat grubuna ait insülin değeri KAF+DDP grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldı ($p<0.05$). KAF+DDP ve KAF+YDP gruplarının amilaz değerleri arasında istatistiksel bir fark yoktur ($p>0.05$). Bu üç grup arasında UCP-1 değeri için anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$) ama KAF+YDP grubu UCP-1 değeri KAF+DDP' ye göre arttı ($p<0.05$).

KAF+DDP ile KAF+P1 gruplarına ait UCP-1, glukoz, insülin, HOMA-IR, AST, trigliserit, kolesterol, leptin, adiponektin ve TNF α değerleri arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmadı ($p>0.05$). ALT ve amilaz değeri KAF+DDP grubunda KAF+P1 grubuna göre anlamlı bir şekilde yüksek çıktı ($p<0.05$). KAF+DDP grubunun IL-6 değeri KAF+P1'e göre anlamlı şekilde düşük çıktı ($p<0.05$). KAF+YDP ile KAF+P2 gruplarına ait glukoz, ALT, AST, amilaz, kolesterol, trigliserit, adiponektin, IL-6, TNF α , insülin ve UCP-1 değerleri arasında anlamlı bir farklılık yoktur ($p>0.05$). KAF+YDP grubuna ait leptin değeri KAF+P2 grubuna göre istatistiksel olarak yüksek ıktı. KAF+P2 grubuna ait HOMA-IR değeri KAF+YDP grubuna göre yüksek çıktı. ($p<0.05$).

Tablo 5. Serum biyokimya parametreleri

	Kontrol	KAF	KAF+DDP	KAF+YDP	KAF+Orlistat	KAF+P1	KAF+P2
Glukoz (mg/dL)	138±21.24 ^d	147±26.04 ^{cd}	184.61±27.11 ^{ab}	180.84±24.36 ^{ab}	171±29.36 ^{bc}	171.1±20.56 ^{bc}	204±26.65 ^a
ALT (U/L)	29.67±2.33	34.67±10.55	29.98±5.27	25.25±3.76	26.33±3.20	24.58±1.23	23.67±3.88
AST (U/L)	169.33±53.92 ^b	243.33±20.96 ^a	200.96±58.50 ^{ab}	174.26±45.61 ^b	197.33±45.64 ^{ab}	157.37±38.87 ^b	189±40.90 ^{ab}
Amilaz (U/L)	2295.7±629.55 ^b	2697.7±261.19 ^{ab}	3038.1±468.47 ^a	2663.6±219.20 ^{ab}	2345.9±238.05 ^b	2394.9±273.78 ^b	2624±168.52 ^{ab}
Kolesterol (mg/dL)	72.67±14.51	163.67±12.86	169.69±12.05	164.20±14.31	151.56±27.06	151.93±20.51	165.33±14.34
Trigliserit (mg/dL)	74.67±17.09 ^b	94.33±13.64 ^a	84.51±23.94 ^{ab}	71.92±17.57 ^b	69.78±13.65 ^b	72.21±8.10 ^b	74±11.59 ^b
Leptin (pg/mL)	1716.7±425.17	14762.73±7339.36	27548.53±2932.42	13770.85±4621.53	10591.1±5718.02	6677.2±4546.97	7242.41±3358.02
Adiponektin (pg/mL)	4997.07±2659.65	3395.37±1726.08	9553.74±2333.65	9971.41±2374.28	12700.60±16056.41	9498.89±5043.01	11740.28±4999.43
IL-6 (ng/mL)	2339.22±141.49 ^d	2884.37±381.44 ^c	2937.8±334.21 ^{bc}	3144.9±162.59 ^{abc}	3241.30±373.31 ^{ab}	3324.39±177.00 ^a	3111.62±193.37 ^{abc}
TNFα (ng/mL)	1612.19±85.45	1701.36±94.22	1858.12±271.26	1764.63±175.10	1849.01±24.43	1791±43.11	1803.94±41.85
İnsülin (pg/mL)	109.49±59.53 ^a	137.24±58.77 ^a	92.33±31.64 ^a	75.31±12.26 ^a	77.37±14.03 ^a	90.86±19.76 ^a	125.96±36.72 ^a
UCP-1 (pg/mL)	9.09±0.77 ^c	10.43±1.27 ^{bcd}	9.62±1.18 ^{cd}	11.33±1.39 ^{ab}	10.70±0.46 ^{abc}	10.83±1.16 ^{abc}	11.96±0.98 ^a
HOMA-IR	0.96±0.63 ^a	1.21±0.48 ^{ab}	1.08±0.53 ^{ab}	0.84±0.23 ^a	0.82±0.24 ^a	0.95±0.23 ^a	1.56±0.48 ^b

Değerler "ortalama±standart sapma" olarak gösterilmiştir. a, b, c ve d harfleri istatistiksel olarak anlamlılığı belirtmektedir (p<0.05).

Tablo 6. Grupların ALT, kolesterol, leptin, adiponektin, ve TNF α parametrelerinin istatistiksel karşılaştırılması (Kruskal- Wallis Test ve Mann-Whitney U test sonuçları)

Gruplar	ALT	Kolesterol	Leptin	Adiponektin	TNF α
Kontrol - KAF	0.36	0.004*	0.004*	0.262	0.037*
Kontrol - KAF+DDP	0.629	0.004*	0.055	0.016*	0.025*
Kontrol - KAF+YDP	0.05	0.004*	0.004*	0.010*	0.025*
Kontrol - KAF+Orlistat	0.07	0.004*	0.004*	0.631	0.004*
Kontrol - KAF+P1	0.006*	0.004*	0.004*	0.150	0.010*
Kontrol - KAF+P2	0.012*	0.004*	0.004*	0.037*	0.010*
KAF - KAF+DDP	0.747	0.470	0.749	0.004*	0.078
KAF - KAF+YDP	0.023*	0.872	0.936	0.006*	0.521
KAF - KAF+Orlistat	0.022*	0.630	0.522	0.262	0.054
KAF - KAF+P1	0.004*	0.423	0.025*	0.010*	0.055
KAF - KAF+P2	0.005*	0.808	0.025*	0.006*	0.055
KAF+DDP - KAF+YDP	0.147	0.630	0.631	0.522	0.148
KAF+DDP - KAF+Orlistat	0.107	0.200	0.423	0.423	0.335
KAF+DDP - KAF+P1	0.053*	0.078	0.200	0.522	0.423
KAF+DDP - KAF+P2	0.037*	0.688	0.150	0.631	0.336
KAF+YDP - KAF+Orlistat	0.511	0.572	0.337	0.522	0.100
KAF+YDP - KAF+P1	0.870	0.228	0.016*	0.575	0.172
KAF+YDP - KAF+P2	0.744	0.936	0.016*	0.522	0.199
KAF+Orlistat - KAF+P1	0.324	0.810	0.109	0.631	0.025*
KAF+Orlistat - KAF+P2	0.288	0.631	0.337	0.423	0.065
KAF+P1 - KAF+P2	1.00	0.37	0.749	0.337	0.631

* p<0.05 olarak anlamlılığı belirtmektedir.

3.3. SBAP Ekstrakt Örneğinin Histolojik Parametreler Üzerine Etkileri

Karaciğer dokularının ışık mikroskopik değerlendirmesinde skorlamalar Tablo 7’de verildi. Karaciğer kesitleri vasküler konjesyon, hepatosit dejenerasyonu, sinüzoidal dilatasyon ve genişlemiş sinüzoidlerde konjesyon gibi özellikler değerlendirildi. Tüm gruplara ait bulgular:

- 1- Normal/Normale yakın
- 2- Hafif
- 3- Orta,
- 4- Ağır
- 5- Çok ağır

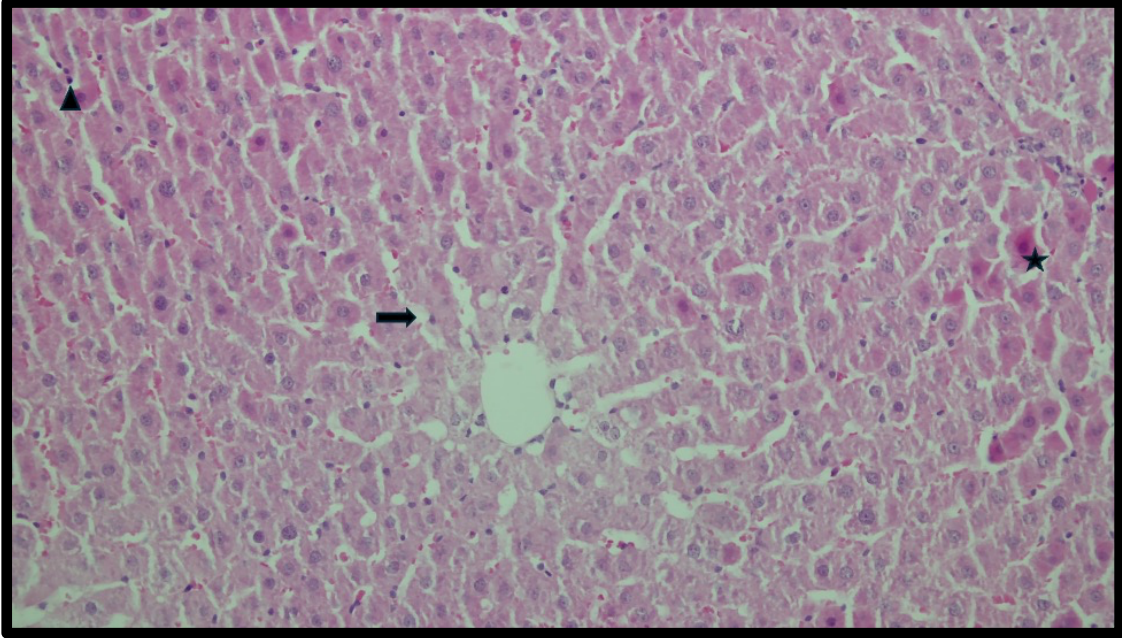
olarak skorlandı ve sınıflandırıldı.

Tablo 7. Karaciğer dokusuna ait morfolojik değişim skorları

	Kontrol	KAF	KAF+DDP	KAF+YDP	KAF+Orlistat	KAF+P1	KAF+P2
Lenfosit infiltrasyonu	1.00±0.00 ^c	4.33±0.51 ^a	2.33±0.51 ^b	2.16±0.40 ^b	2.33±0.51 ^b	2.33±0.51 ^b	2.33±0.51 ^b
Hipereozinofilik hücre	1.00±0.00 ^a	4.33±0.51 ^a	3.33±0.51 ^b	2.33±0.51 ^c	2.33±0.51 ^c	2.50±0.54 ^c	2.66±0.51 ^c
Lipit birikimi	1.16±0.40 ^d	5.00±0.00 ^a	3.33±0.51 ^b	2.16±0.40 ^c	2.50±0.54 ^c	2.50±0.54 ^c	2.33±0.81 ^c

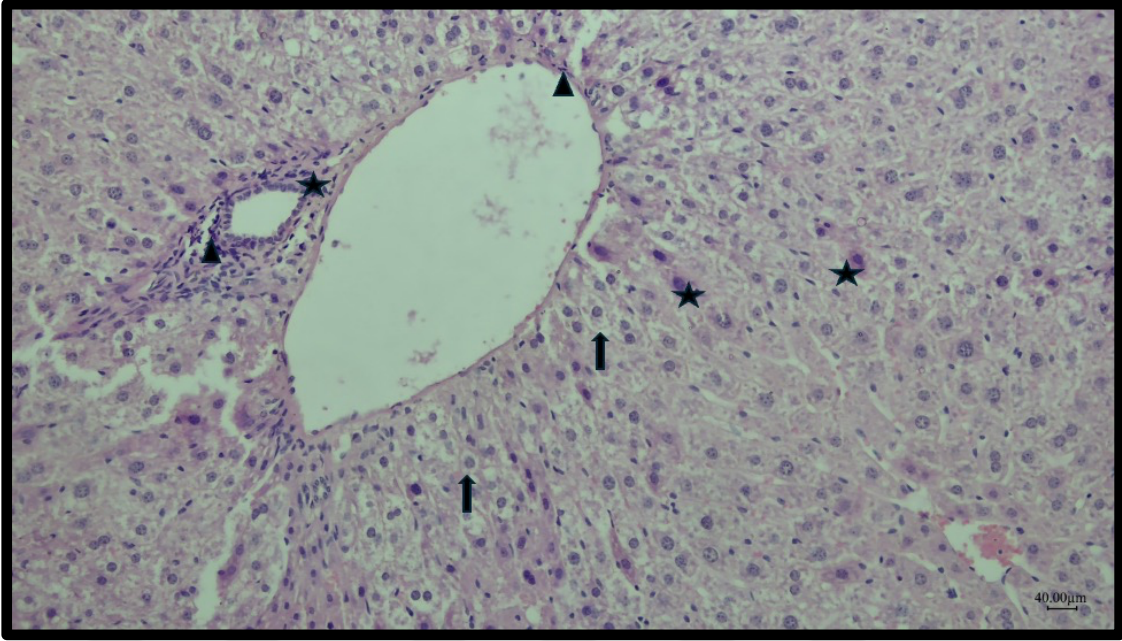
Değerler "ortalama±standart sapma" olarak gösterilmiştir. a, b, c ve d harfleri istatistiksel olarak anlamlılığı belirtmektedir (p<0.05)

Çalışmada elde edilen dokulardan seri kesitler alınarak incelenen hematoxilen & eozin boyalı preparatlar incelendiğinde; kontrol grubuna ait karaciğer dokusunda normal morfoloji gözlemlendi. Bununla birlikte yer yer lenfosit hücrelerinin varlığı, sinüzoidlerde yer yer genişlemeler ve az sayıda hipereozinofilik hücre gözlemlendi (Şekil 18).



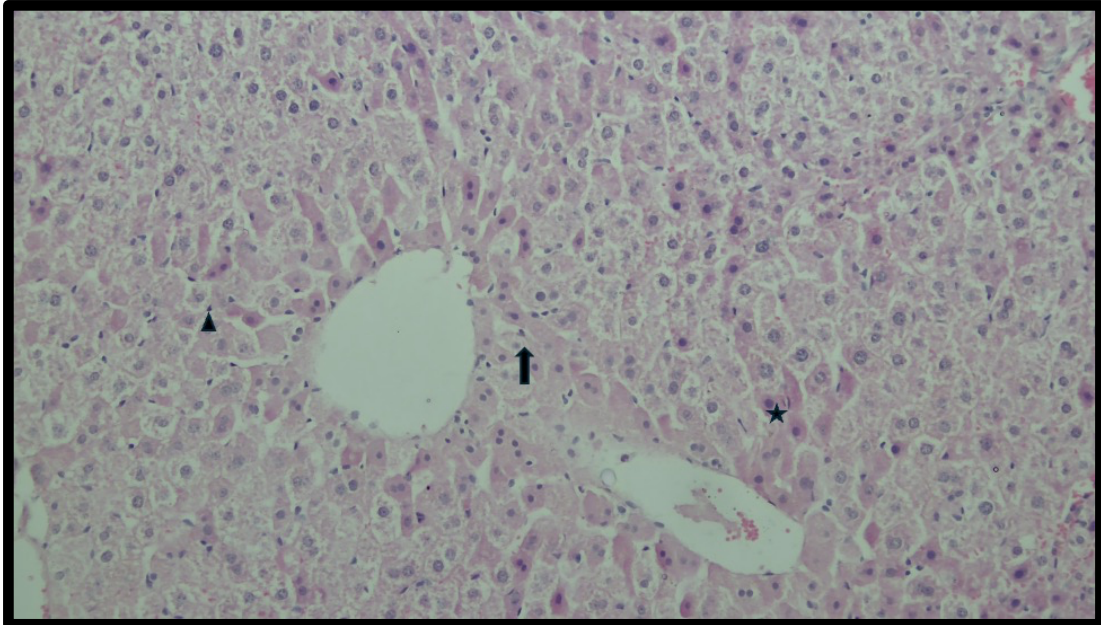
Şekil 18. Kontrol grubunun karaciğer dokusuna ait fotomikrograf. Sinüzoidal açılma (Ok), hipereozinofilik hücre (Yıldız), lenfosit infiltrasyon (Ok başı) (H&E X 200)

KAF grubuna ait dokulara bakıldığında ilk olarak hepatosit düzeninde bozukluk ve hepatositlerde yoğun mikroveziküler lipit vakuelleri dikkat çekmekteydi. Yine yoğun olarak sentral ven ve portal alanda daha çok olmak kaydıyla organ parankiminde diffüz halde, lenfosit infiltrasyonu gözlemlendi. Ek olarak bu gruba ait doku preparatlarında yine yaygın olarak hipereozinofilik hücre gözlemlendi (Şekil 19).



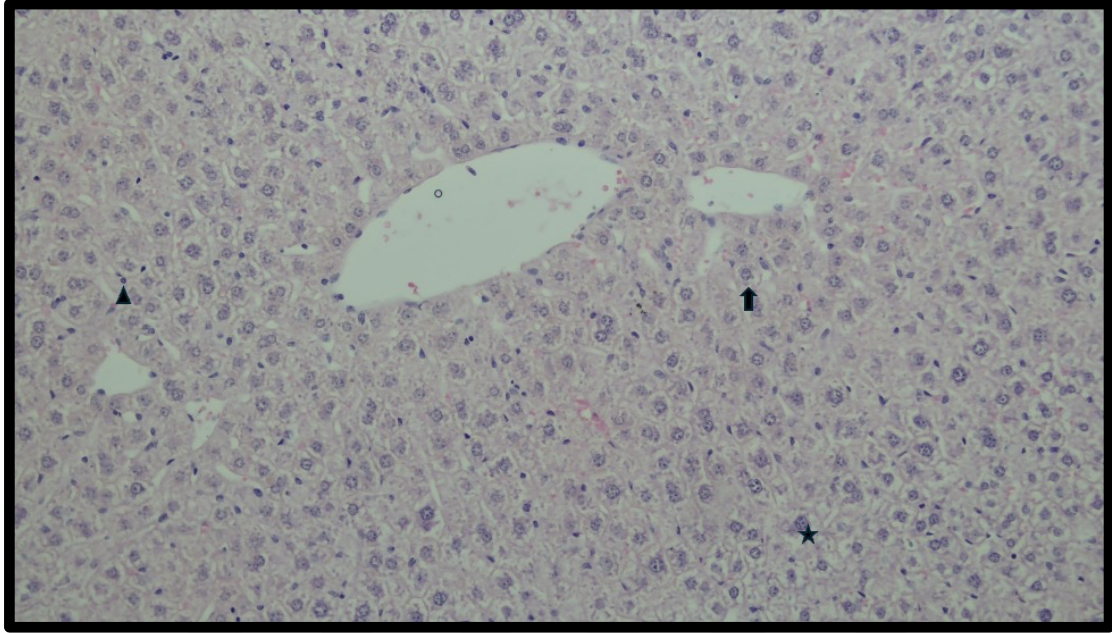
Şekil 19. KAF grubunun karaciğer dokusuna ait fotomikrograf. Lenfosit infiltrasyonu (Ok başı), hipereozinofilik hücre (Yıldız), mikroveziküler lipit vakuolleri (Ok) (H&E X 200)

KAF+DDP grubunda çok yoğun olmasa da lenfosit infiltrasyonu, hipereozinofilik hücre ve mikroveziküler lipit vakuolleri gözlemlendi (Şekil 20).



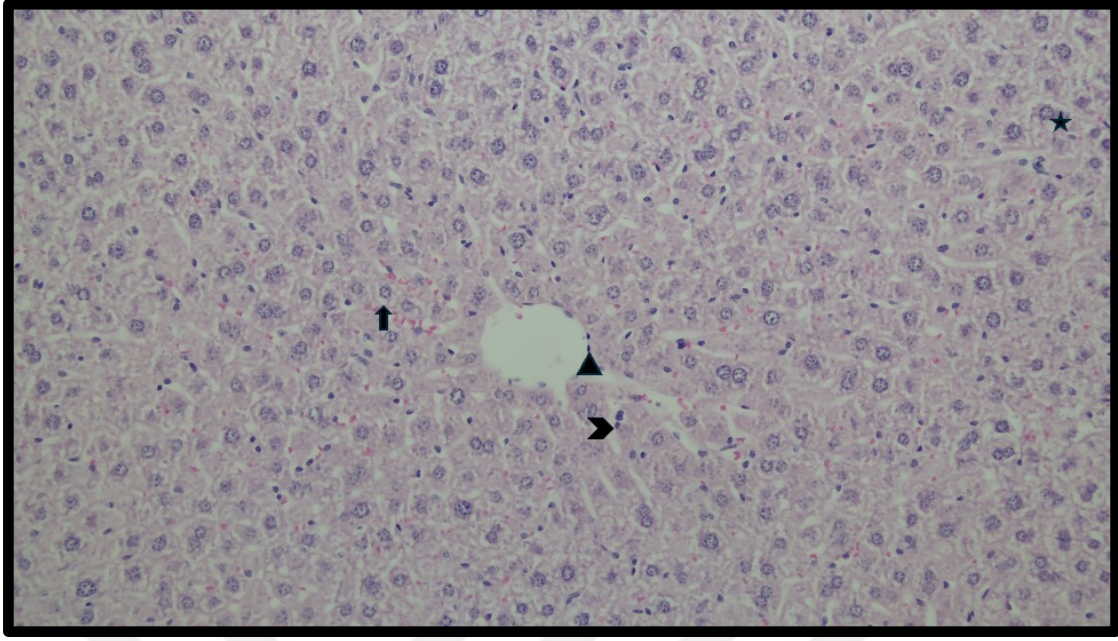
Şekil 20. KAF+DDP grubunun karaciğer dokusuna ait fotomikrograf. Lenfosit infiltrasyonu (Ok başı), hipereozinofilik hücre (Yıldız), mikroveziküler lipit vakuolleri (Ok) (H&E X 200)

KAF+YDP grubunda gözlemlenen bu patolojik durumlar diğer gruplara nazaran daha az gözlemlense de yer yer diffüz halde lenfosit infiltrasyonu, mikroveziküler lipit vakuolleri ve hipereozinofilik hücreler gözlemlendi (Şekil 21).



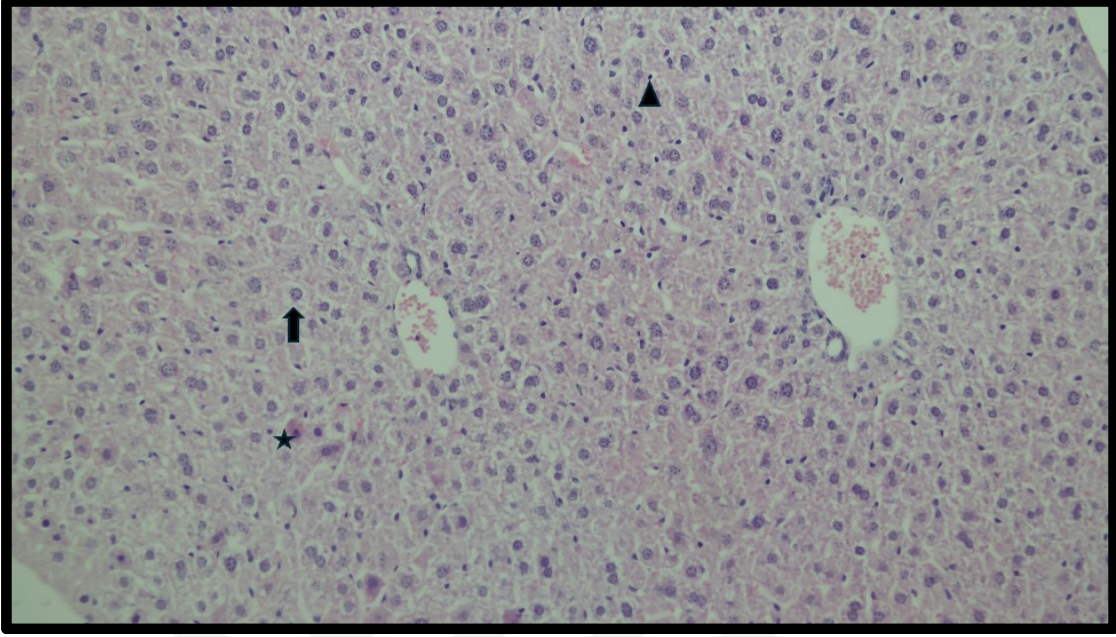
Şekil 21. KAF+YDP grubunun karaciğer dokusuna ait fotomikrograf. Mikroveziküler lipit vakuolleri (Ok), hipereozinofilik hücre (Yıldız), lenfosit infiltrasyonu (Ok başı) (H&E X 200)

KAF+Orlistat grubunda da seyrek görülen mikroveziküler lipit vakuolleri, lenfosit infiltrasyonu ve hipereozinofilik hücreler gözlemlendi. Bu grupta yine ek olarak sinüzoidlerde ciddi olmayan boyutlarda açılmalar gözlemlendi (Şekil 22).



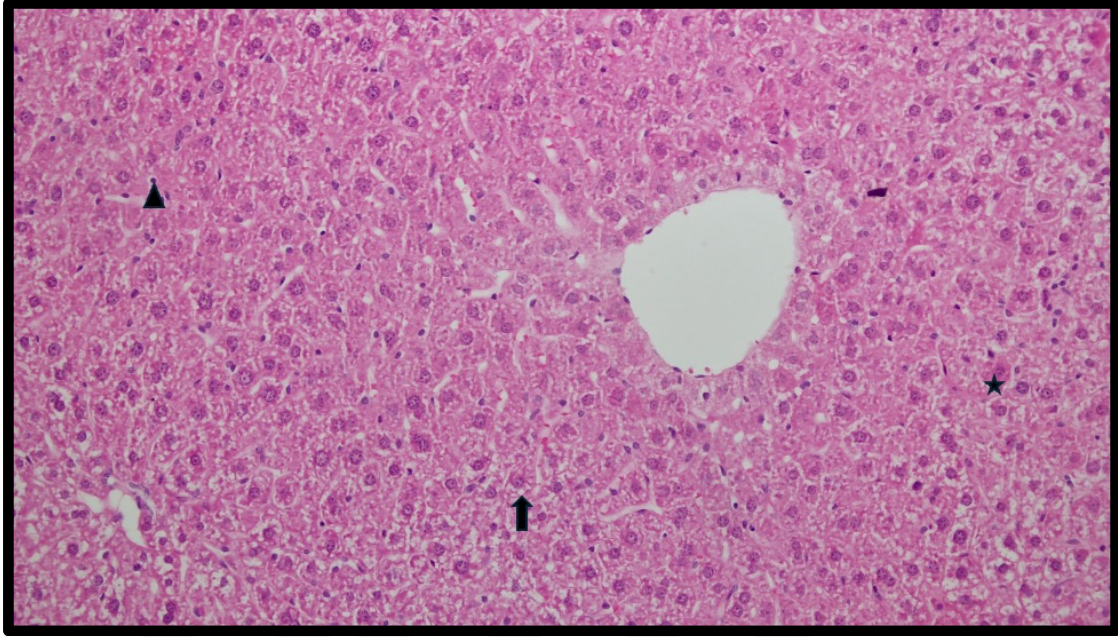
Şekil 22. KAF+Orlistat grubunun karaciğer dokusuna ait fotomikrograf. Lenfosit infiltrasyonu (Ok başı), mikroveziküler lipit vakuelleri (Ok), sinüzoidal açılma (Çentikli ok başı), hipereozinofilik hücre (Yıldız) (H&E X 200)

KAF+P1 grubuna ait dokularda mikroveziküler lipit vakuelleri nispeten diğer patolojik bulgulara nazaran daha fazla görüldü. Buna karşın az miktarda diffüz halde lenfosit infiltrasyonu ve hipereozinofilik hücreler gözlemlendi (Şekil 23).

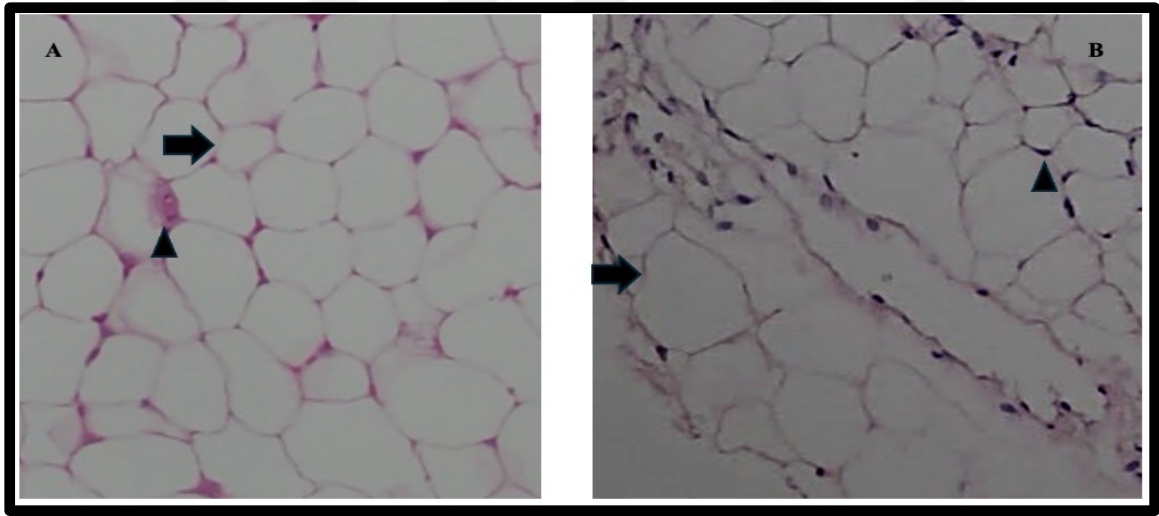


Şekil 23. KAF+P1 grubunun karaciğer dokusuna ait fotomikrograf. Lenfosit infiltrasyonu (Ok başı), mikroveziküler lipit vakuelleri (Ok), hipereozinofilik hücre (Yıldız) (H&E X 200)

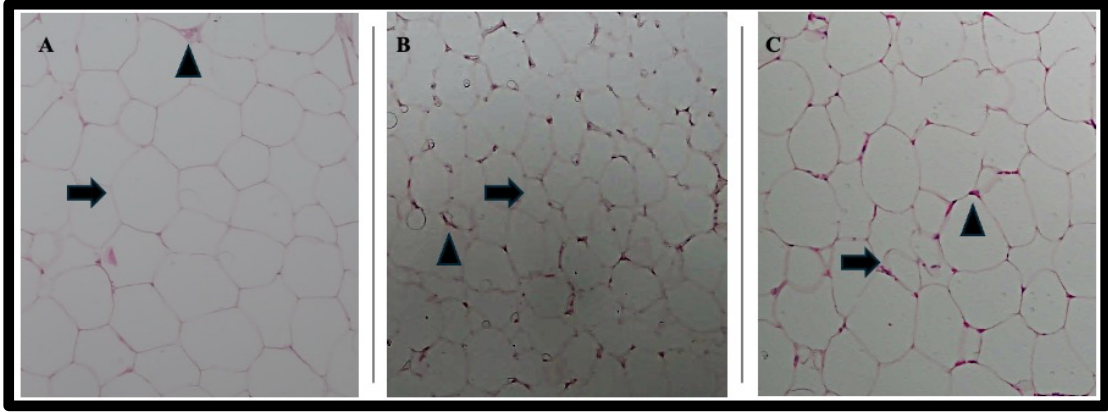
KAF+P2 grubuna ait dokularda ise KAF+P1 grubuna nazaran gözlemlenen histopatolojik bulgular daha yoğundu. Mikroveziküler lipit vakuelleri, diffüz halde lenfosit infiltrasyonu ve hipereozinofilik hücreler tespit edildi (Şekil 24).



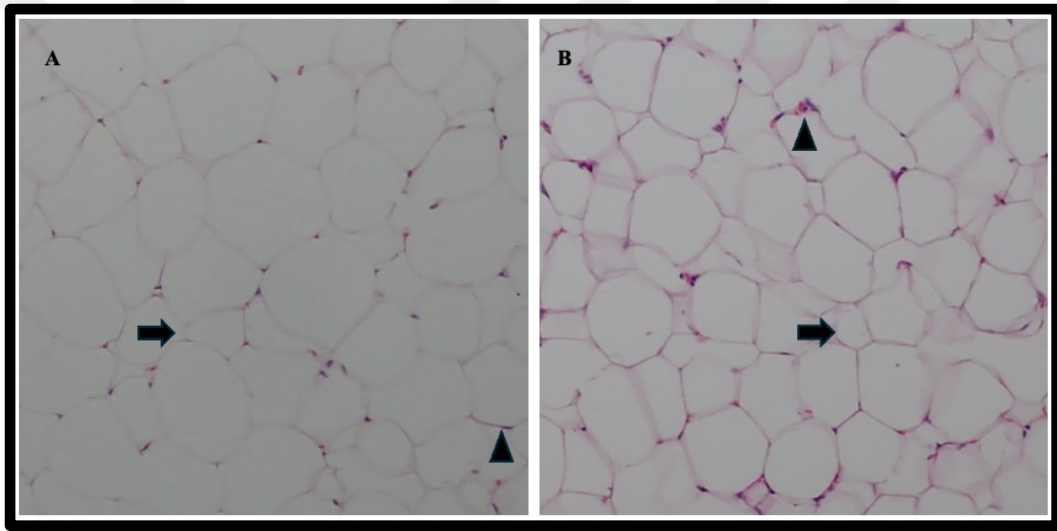
Şekil 24. KAF+P2 grubunun karaciğer dokusuna ait fotomikrograf. Lenfosit infiltrasyonu (Ok başı), mikroveziküler lipit vakuolleri (Ok), hipereozinofilik hücre (Yıldız) (H&E X 200)



Şekil 25. Kontrol grubunun (A) ve KAF grubu (B) ve yağ dokusuna ait fotomikrograf. Yağ hücresi (Ok), vasküler konjesyon (Ok başı) (H&E 200X)



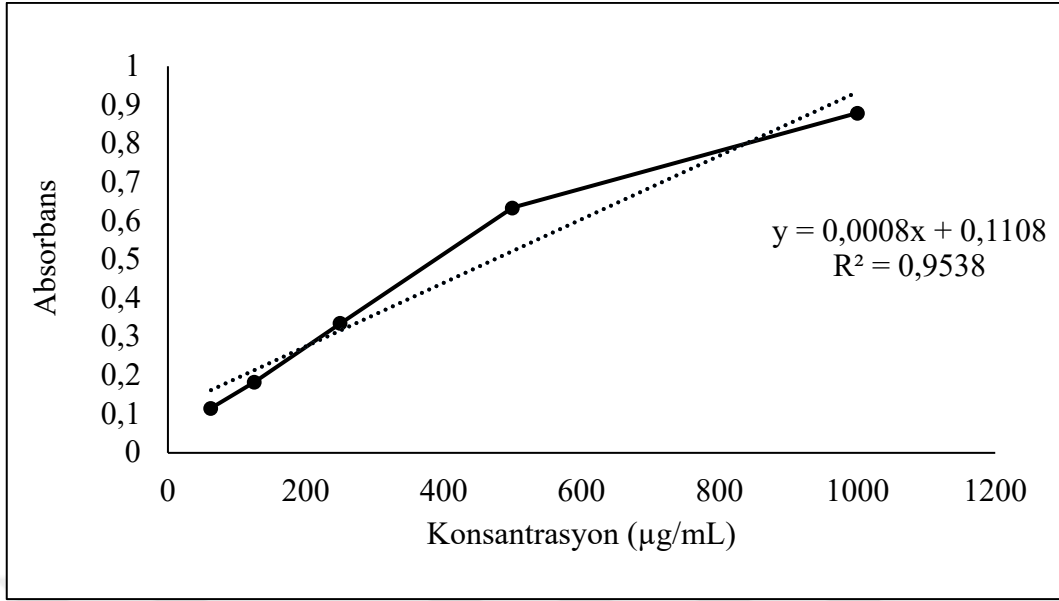
Şekil 26. KAF+DDP (A), KAF+YDP (B) ve KAF+Orlistat (C) grubunun yağ dokusuna ait fotomikrograf . Yağ hücresi (Ok), vasküler konjesyon (Ok başı) (H&E 200X).



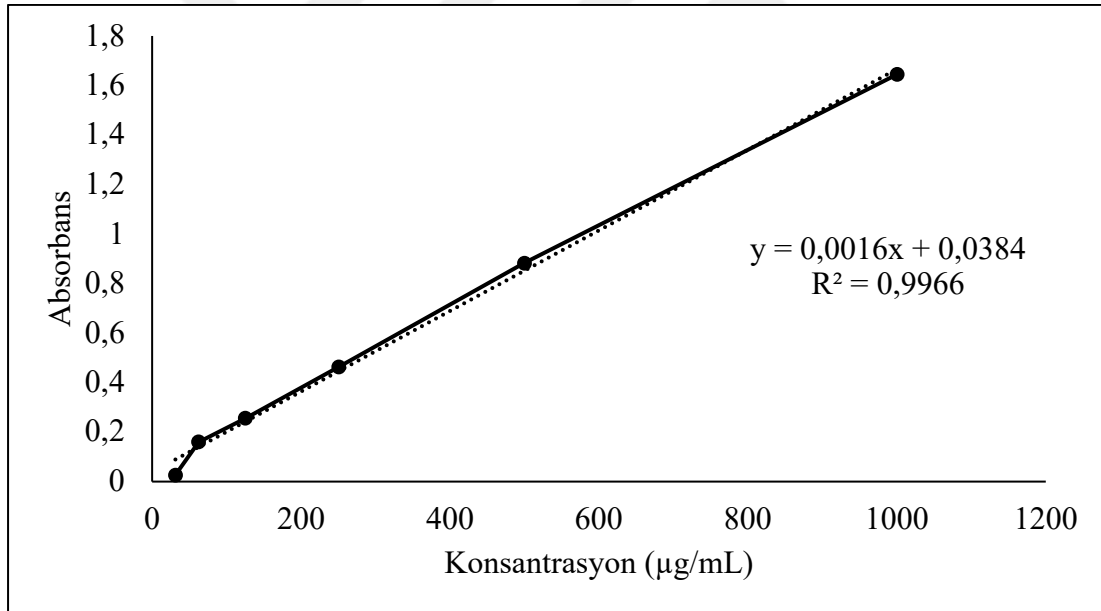
Şekil 27. KAF+P1 (A) ve KAF+P2 (B) grubunun yağ dokusuna ait fotomikrograf. Yağ hücresi (Ok), vasküler konjesyon (Ok başı) (H&E 200X)

3.4. SBAP Ekstrakt Örneğinin Antioksidan Özellikleri

Toplam fenolik madde miktarı tayininde referans madde olarak gallik asit kullanıldı ve gallik asit standart kalibrasyon grafiği Şekil 28’de verildi. Toplam flavonoid madde miktarını belirlemek için referans madde olarak kuersetin kullanıldı ve kuersetin standart grafiği Şekil 29’da verildi. Toplam fenolik madde miktarı 44.006 ± 3.26 mg GAE/mL bulundu. Toplam flavonoid madde miktarı 24.600 ± 0.53 mg KE/mL bulundu (Tablo 8)

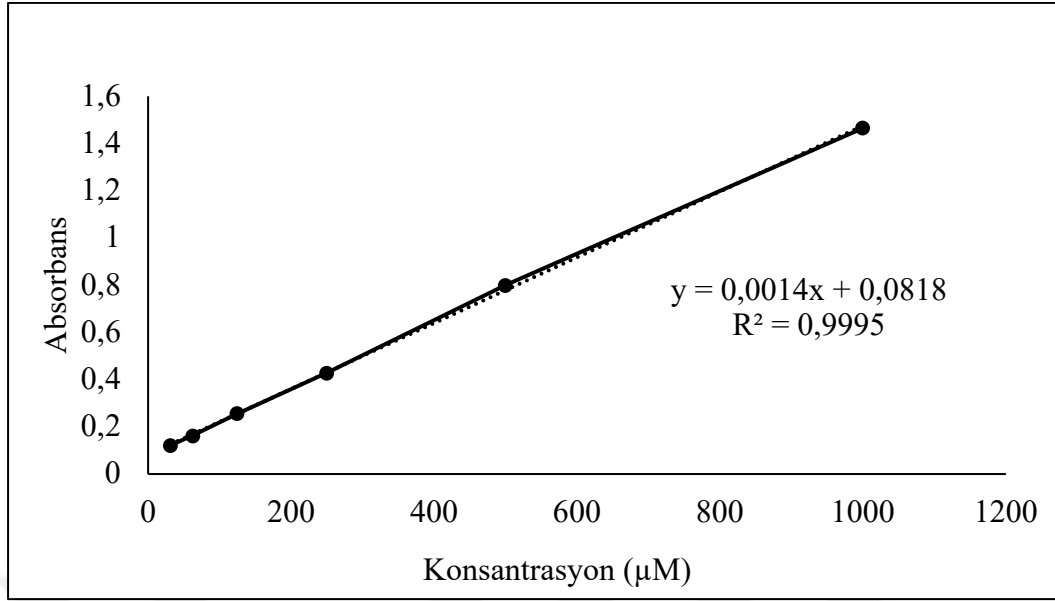


Şekil 28. Gallik asit standart grafiği



Şekil 29. Kuersetin standart grafiği

Demir indirgeme antioksidan gücü (FRAP) ve 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikalinin süpürme aktivitesi metotları SBAP ekstrakt örneğinin antioksidan aktivitesinin belirlenmesinde kullanıldı. FRAP analizi için farklı konsantrasyonlarda Troloks'un çözeltileri hazırlanarak çizilen standart eğri grafiği Şekil 30'da verildi. SBAP ekstrakt örneğinin FRAP ve DPPH değerleri Tablo 8'de verildi.



Şekil 30. Troloks standart grafiği

Tablo 8. SBAP ekstrakt örneği antioksidan değerleri

SBAP ekstrakt örneği	
Toplam fenolik madde (mg GAE/mL)	44.006±3.28
Toplam flavonoid madde (mg KE/mL)	24.600±0.53
FRAP (mM Troloks/mL)	1192.571±175.94
DPPH SC ₅₀ (mg/mL)	0.020±0.004

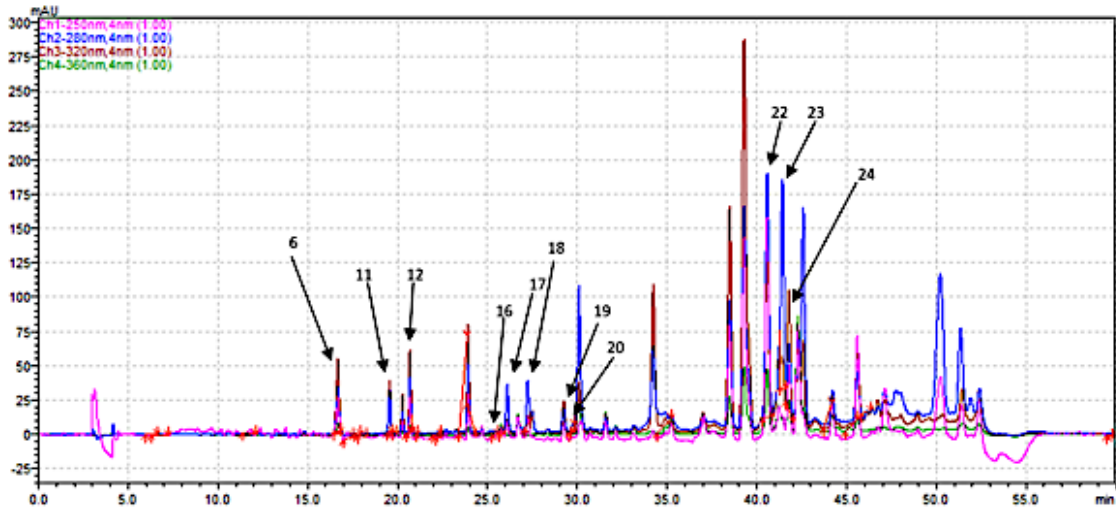
3.5. SBAP Ekstrakt Örneğinin RP-HPLC-PDA ile Fenolik Kompozisyon Analizi

SBAP ekstrakt örneğinde 25 adet fenolik standardı çalışılmış ve tespit edilen fenolik madde miktarları Tablo 9’da verildi. En yüksek değer krisine ait olup en düşük değer luteolin olarak belirlendi. Fenolik standart kromatogramı Şekil 31’de verildi.

Tablo 9. SBAP ekstrakt örneği fenolik kompozisyon miktarları

Standartlar	(µg fenolik /ml örnek)
Gallik Asit (1)	<LOD
Protokatekuik Asit (2)	<LOD
Klorojenik Asit (3)	<LOD
<i>p</i> -OH Benzoik Asit (4)	<LOD
Epikateşin (5)	<LOD
Kafeik Asit (6)	89.552
Şiringik Asit (7)	<LOD
<i>m</i> -OH Benzoik Asit (8)	<LOD
Rutin (9)	<LOD
Ellagik Asit (10)	<LOD
<i>p</i> -Kumarik Asit (11)	48.082
Ferulik Asit (12)	91.680
Mirisetin (13)	<LOD
Resveratrol (14)	<LOD
Daidzein (15)	<LOD
Luteolin (16)	1.074
Kuersetin (17)	11.444
<i>t</i> -Sinnamik Asit (18)	27.220
Apigenin (19)	3.028
Hesperetin (20)	4.050
Ramnetin (21)	<LOD
Krisin (22)	422.534
Pinosembrin (23)	278.582
CAPE (24)	241.550
Kurkumin (25)	<LOD

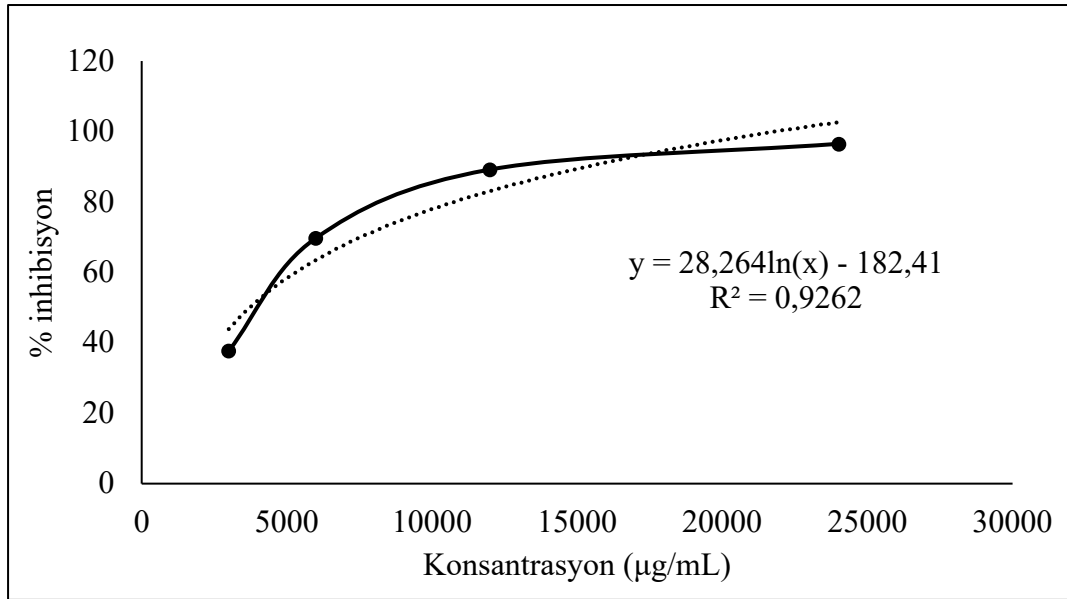
<LOD: Standart gözlenebilme limitinin altındadır.



Şekil 31. Fenolik standart kromatogramı (Kara vd., 2022a)

3.6. SBAP Ekstrakt Örneğinin α -amilaz ve α -glukozidaz İnhibisyonu

SBAP ekstrakt örneği α -amilaz inhibisyon aktifliğini belirlemek için Bölüm 2.19’da belirtildiği gibi atıf yapılan yöntemler modifiye edilerek uygulandı. Şekil 32’de sunulan % inhibisyon ile konsantrasyon grafiği üzerinden, % 50 inhibisyon elde edilen SBAP ekstrakt konsantrasyonları belirlendi ve IC₅₀ değerleri Tablo 11’de ayrıntılı olarak verildi.

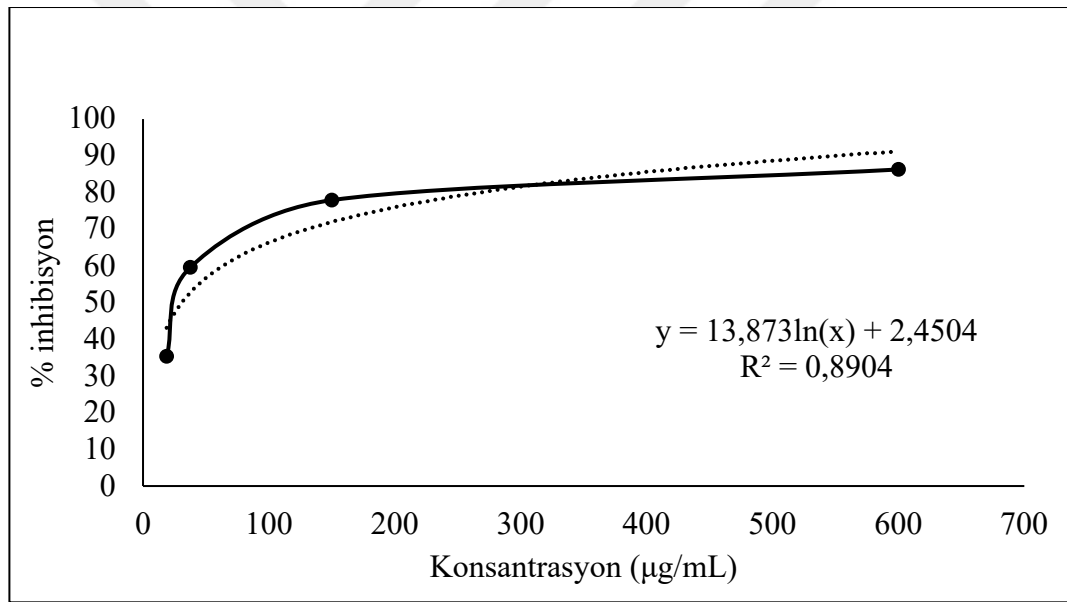


Şekil 32. SBAP α -amilaz enzimi inhibisyon grafiği

Tablo 10. SBAP ekstrakt örneğinin ve akarbozun α -amilaz inhibisyonu IC50 ($\mu\text{g/mL}$) değerleri

İnhibitör	IC50 ($\mu\text{g/mL}$)
SBAP	3725.02
Akarboz	88.61

SBAP ekstrakt örneği α -glukozidaz inhibisyonu aktivitesini belirlemek için Bölüm 2.20’de belirtildiği gibi atıf yapılan yöntemler modifiye edilerek uygulandı. Şekil 33’de sunulan % inhibisyon ile konsantrasyon grafiği üzerinden, % 50 inhibisyon elde edilen SBAP ekstrakt konsantrasyonları belirlendi ve IC50 değerleri Tablo 11’de ayrıntılı olarak verildi.



Şekil 33. SBAP α -glukozidaz enzimi inhibisyon grafiği

Tablo 11. SBAP ekstrakt örneğinin ve akarbozun α -glukozidaz inhibisyonu IC50 ($\mu\text{g/mL}$) değerleri

İnhibitör	IC50 ($\mu\text{g/mL}$)
SBAP	30.79
Akarboz	7.92

4. TARTIŞMA

Propolis, bal arıları tarafından ağaç tomurcukları ve kabuklarından toplanan kovanları savunmak ve istilacılara karşı korumak için kullanılan reçineli bir maddedir. Tarih boyunca M.Ö. 300 yılına kadar uzanan köklü bir kullanım geçmişine sahiptir ve günümüzde ev ilaçları ve kişisel sağlık ürünleri gibi geniş bir yelpazede kullanılmaktadır. Propolis antibakteriyel, antiviral, anti-inflamatuar, antikanser, antifungal ve antitümör özelliklere sahiptir. Bu özellikler propolisin sağlık takviyesi olarak popülerliğini artırmakta ve yiyeceklerde, içeceklerde ve geleneksel tıpta hastalıkları önlemek ve sağlığı iyileştirmek amacıyla kullanılmasına yol açmaktadır. Ancak propolisin kimyasal bileşimi coğrafi ve bitki kökenine bağlı olarak büyük ölçüde değişiklik gösterir. Bu nedenle farklı coğrafi konumlardan alınan propolis örneklerini karşılaştırırken bitki kökenlerini ve kimyasal bileşimdeki farklılıkları belirlemek önem arz etmektedir (Tsuda & Kumazawa, 2021).

Polifenoller, terpenoidler, steroidler ve amino asitler açısından zengin bir bileşime sahip olan propolis, coğrafi ve botanik farklılıklar sebebiyle 300'den fazla bileşik içermektedir. Anadolu'nun 11.000'den fazla altır taksona ev sahipliği yapması üretilen propolisin içeriği konusunda önemli bir çeşitliliği ortaya koymaktadır. Bal arıları, Anadolu'nun çeşitli bitki türlerinden, örneğin kestane, söğüt, ardıç, çam, meşe, elma, kavak, huş ağacı, ıhlamur, fındık ve orman gülü gibi bitkilerden propolis üretimini gerçekleştirmektedirler. Bu durum propolis bileşimindeki çeşitliliği ve Anadolu coğrafyasının zengin bitki örtüsünün katkısını vurgulamaktadır. Propolis türleri, botanik kökenlerine bağlı olarak tipik olarak sarı, kahverengimsi-kırmızı, kahverengi, sarımtırak, grimsi-kahverengi veya gri-siyah renktedir (Kolaylı vd., 2023).

Literatürde, Brezilya, Polonya, Çin, Mısır ve Venezuela gibi üretim bölgelerinin adını taşıyan çeşitli propolis türleri tanımlanmaktadır. Brezilya yeşil propolisinin karakteristik bileşiği olan artepilin C, fenolik bir bileşik olarak propolis özlerinin terapötik potansiyelini destekleyen önemli biyolojik aktivitelere sahiptir. Brezilya kırmızı propolisi ise yeşil propolisten farklı olarak, C30 izoflavonları retusapurpurinler A ve B içermektedir (Tsuda & Kumazawa, 2021). Bu izoflavonlar, yapılan çalışmalarda antioksidan, anti-inflamatuar ve antiproliferatif özelliklere sahip oldukları gösterilmiştir (Beserra vd., 2021; Righi vd., 2011). Anadolu bölgesi, kendine özgü iklim ve flora özelliklerine sahip yedi farklı coğrafi alandan oluşmaktadır. Özellikle Karadeniz, Marmara ve Ege bölgelerinde yoğun arıcılık faaliyetleri

gözlemlenmektedir. Anadolu propolisi, kafeik asit, *p*-kumarik asit, ferulik asit, kuersetin, *t*-sinnamik asit, krisin, pinokembrin ve CAPE gibi bileşikler içerir. Yapılan çalışmalar, pinosembrin, sinnamik asit ve CAPE moleküllerinin Anadolu propolisinin ana bileşenleri olabileceğini göstermektedir (El Adaouia Taleb vd., 2020; Kara vd., 2022b; Kolaylı vd., 2023; Tugba Degirmencioglu vd., 2019). Bu çalışmada kullanılan SBAP ekstrakt örneği fenolik kompozisyon açısından yüksek miktarda krisin, pinosembrin, CAPE, ferulik asit ve *p*-kumarik asit içermektedir (Tablo 9). Anadolu propolisi, ortalama %15 polifenol içeriğine sahiptir ve bu miktarın yaklaşık %3'ü flavonoidlerden oluşmaktadır. Fenolik maddeler, sekonder metabolit ürünleri olup, doğal ürünlerin antioksidan özellikleri ve çeşitli biyolojik karakterlerinden sorumlu bileşenlerdir. Propolisin toplam polifenol içeriği (TPC), kalitesini değerlendirmede kritik bir faktör olarak öne çıkmaktadır ve özellikle antioksidan özelliklerle pozitif bir korelasyon göstermektedir. SBAP ekstrakt örneğinin toplam fenol içeriği (44.006 ± 3.28 mg GAE/mL) ve toplam flavonoid içeriği (24.600 ± 0.53 mg KE/mL), diğer etanolik propolis örneklerine göre düşük bulunmuştur (Tablo 8). Bu durum, etil alkolün polaritesinin ekstraksiyon sürecinde uygun bir aralıktaki olması ve daha fazla biyoaktif bileşiklerin ekstrakte edilmesini sağlamasından kaynaklanabilir. (Kurek-Górecka vd., 2022; Yıldız, 2020). Ancak, yapılan başka bir çalışma SBAP ekstraktının etanolik ve sulu propolis ekstrakt örneklerine göre toplam fenolik içeriği ve antioksidan özellikleri bakımından yüksek çıktığını rapor etmiştir (Turkut vd., 2019). Farklı sonuçlar propolis örneklerinin kimyasal içeriğinin bitki kaynaklarından, coğrafi bölgelerden ve kullanılan ekstraksiyon yöntemlerinden etkilendiğini vurgulamaktadır.

Propolisin T2DM ile ilişkilendirilen temel faktörlere etki etme kapasitesini gösteren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (Kitamura, 2019). T2DM'nin önlenmesinde kritik bir rol oynayan yemek sonrası kan glikoz seviyelerini stabilize eden α -glukozidaz ve α -amilaz gibi enzimlerin inhibisyonu propolisin potansiyel terapötik etkileri arasında önemli bir yer tutmaktadır. Fas propolisinin in vitro olarak α -glukozidaz ve α -amilaz enzimlerini inhibe etme özelliği bu propolisin diyabetle mücadeledeki potansiyelini ortaya koymaktadır (Laaroussi vd., 2021). Aynı şekilde etanolik Anadolu propolisinin de α -glukozidaz ve α -amilaz enzimlerini inhibe etme yeteneği bu propolisin T2DM ile mücadelede potansiyel bir terapötik strateji olarak düşünülmesini desteklemektedir (El Adaouia Taleb vd., 2020). Bu bağlamda, yapılan çalışmada SBAP ekstrakt örneğinin de α -glukozidaz ve α -amilaz enzimlerini inhibitör etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 10 ve Tablo 11). Bu enzimlerin inhibisyonu propolisin içerdiği biyoaktif bileşenlerin özellikle fenolik

bileşenlerin ve flavonoidlerin T2DM ilişkili metabolik süreçleri hedefleme potansiyelini yansıtabilir. Propolis bu enzimleri inhibe etme yeteneği sindirilen karbonhidratların emilimini kontrol altında tutarak glikoz metabolizmasını düzenleme mekanizmalarına da katkıda bulunabilir.

Obezite, T2DM, hipertansiyon ve koroner kalp hastalığı gibi metabolik bozukluklara yönelik bir dizi risk faktörü ile ilişkilendirilen karmaşık bir durumdur. Obezitenin temelinde enerji alımı ile harcaması arasındaki dengesizlik sonucunda yağ dokusunun aşırı büyümesi ve genişlemesi yatmaktadır. Bu durum beslenme alışkanlıkları, fiziksel aktivite düzeyi, genetik yatkınlık ve metabolik faktörlerin etkileşimleri ile karmaşık bir şekilde ilişkilidir. Obezitenin patogenezi, özellikle adipositlerin aşırı lipid depolama kapasitesi ve sistemik düzeyde inflamasyon gibi biyolojik mekanizmalar aracılığıyla anlaşılmaktadır. Enerji dengesizliği, uzun süreli kilo artışına neden olabilir ve bu durum, vücutta insülin direnci, lipid metabolizması bozuklukları ve proinflamatuvar sitokinlerin artışı gibi metabolik değişiklikleri beraberinde getirerek T2DM riskini artırabilir. Ayrıca, obezite sıklıkla hipertansiyon ve koroner kalp hastalığı gibi kardiyovasküler sorunlarla da ilişkilidir (Cardinault vd., 2020; Sakai vd., 2017). Obezite araştırmaları için yaygın olarak tercih edilen modellerden biri, diyetle indüklenen obezite (DIO) modelidir. Bu model, çeşitli obezite indükleyici diyetleri kullanarak insan benzeri modeller sağlamayı amaçlayan bir yaklaşımı benimsemektedir. Obeziteyi indüklemek için kullanılan diyetler arasında YYD ve KAF gibi çeşitli seçenekler bulunmaktadır. YYD'lerde farklı yağ kaynaklarının farklı oranlarda kullanılmasıyla ilgili bir standart yoktur. Bu durum gözlemlenen fenotiplerin yanı sıra fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerin çalışmalar arasında farklılık göstermesine ve karşılaştırmayı zorlaştırmasına neden olabilir. Buna karşılık, KAF diyetleri tuz, şeker ve yağ içeren çeşitli enerji yoğun gıdalardan oluşan bir diyetle obeziteyi tetiklemede daha etkili olabilir. KAF'lar, batı tarzı diyetini daha yakından taklit ettiği için önemli bir avantaj sunar. Ayrıca yüksek oranda işlenmiş gıdalar genellikle yeterli protein, mineral ve vitamin içeriğinden daha az içerdikleri için bu tür gıdalarla beslenen hayvanlar beslenme yetersizlikleri yaşayabilir (Bortolin vd., 2018; Yazici, 2023). Bu olumsuz durumu ortadan önlemek amacıyla bu çalışmada kullanılan KAF diyetine belli oranlarda standart yem eklenmiştir (

Tablo 3).

Bu bağlamda, yapılan bu çalışmada 16 haftalık bir süre boyunca toplamda 42 adet C57BL/6 ırkına ait fare ile 7 farklı grup (n=6) oluşturulmuş ve 12 hafta sonunda çalışma

grubundaki fareler obez kabul edilmiştir (Şekil 6). Toplam 16 haftalık sürecin ardından, fareler dekapite edilerek kan örnekleri alınmıştır. Çalışma süresince her bir grup için 15 günde bir tartım işlemi gerçekleştirilmiştir. C57BL/6 türü fareler, inbred fareler arasında özellikle diyetle indüklenen obezite modellerinde tercih edilen bir soydur. Bu fare türü, kısa süre içinde adipozite geliştirebilme özelliği nedeniyle çeşitli çalışmalarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Sackmann-Sala vd., 2012; Sahin vd., 2022). Bu bağlamda 16 haftalık süreçte elde edilen veriler C57BL/6 farelerinin obezite modellemelerindeki etkinliğini değerlendirmek için önemli bir temel oluşturmaktadır.

Bu araştırmada, KAF grubunun vücut ağırlığının kontrol grubuna kıyasla yaklaşık %40 arttığı tespit edilmiştir (Tablo 4). Vücut ağırlığına ek olarak, metabolik değişikliklerin bir göstergesi de yağ dokusunun bölgesel dağılımıdır. Bu dağılım obezite, glukoz metabolizması ve lipid metabolizması arasındaki ilişkiyi anlamak açısından önemlidir. BYD genellikle visseral ve subkutan olarak sınıflandırılır. Farelerde, visseral yağ dokuları, epikardiyal, perigonadal, mezenterik, perirenal ve retroperitoneal gibi fonksiyonel olarak farklılık gösteren yağ dokularını içerir. Karnın alt kısmında bulunan ve epididimise bağlı olan karın yağı ise epididimal yağ olarak kabul edilmiştir. Yağ dokusu kütlesini artırmak için adipositler hem hipertrofi (boyut artışı) hem de hiperplazi (sayı artışı) geçirebilir. Özellikle geniş lipid yüküne sahip adipositler, hipertrofik dokuda çeşitli sinyal moleküllerini salgılayarak metabolik disfonksiyonu tetiklemektedir. Bu nedenle, adipositlerin histolojik gözlemi, obezite ile ilişkili hastalıkların patolojik evrelemesini değerlendirmek için kullanılan yaklaşımlardan biridir (Catta-Preta vd., 2012; Kitamura, 2019). Bu çalışmada, KAF grubuna ait epididimal yağ dokusunun kontrol grubuna kıyasla yaklaşık %182 arttığı gözlemlenmiştir. Bununla birlikte EYD'nin histolojik değerlendirilmesinde bu artışın KAF grubundaki farelerde adiposit hipertrofisine yol açtığı gözlenmiştir. Bu durum, genel yağ dokusu kütlesindeki artışın, özellikle adipositlerin boyutlarında meydana gelen büyümenin bir yansıması olarak değerlendirilebilir (Şekil 25). KAF grubuna ait karaciğer dokularının mikroskop altında incelenmesi, öncelikle hepatosit düzeninde belirgin bozukluklar ve hepatositlerde yoğun mikroveziküler lipid vakuolleri gözlemlenmiştir. Özellikle portal alanlarda ve daha yoğun olarak sentral ven civarında olmak üzere organ parankiminde geniş bir alanda yaygın lenfosit infiltrasi gözlemlenmiştir. Ek olarak, bu gruba ait doku preparatlarında geniş bir alana yayılan hipereozinofilik hücreler belirgin bir şekilde tespit edilmiştir. Bu bulgular, KAF grubundaki karaciğer dokularında lipid birikimi, hücresel

değişiklikler ve inflamatuvar yanıtın kontrol grubuna kıyasla belirgin bir şekilde arttığını göstermektedir (Tablo 7).

Adipoz doku hücreler arası iletişimi sağlayan ve adipokin olarak adlandırılan proteinleri üretir. Bu proteinler, beslenme, enerji dengesi, lipid ve glikoz metabolizması, inflamasyon, koagülasyon, kardiyovasküler sistem, insülin duyarlılığı, alternatif komplement sistem, vasküler homeostazis, kan basıncı, anjiyogenez ve akut-faz cevaplar gibi bir dizi biyolojik süreçte değişimlere neden olabilirler. Adipokinler dokudaki inflamasyonu artırarak karaciğer ve iskelet kasındaki enerji metabolizmasını etkiler ve dolaşımdaki seviyelerini yükseltir. Bu nedenle adiposit türevi maddelerin dolaşımdaki seviyeleri obezitenin patolojik bir belirleyicisi olarak kullanılabilir. Bu kompleks etkileşim ağı adipoz dokunun vücuttaki çeşitli sistemlerle entegre bir şekilde çalışarak metabolik dengeyi ve hücresel işlevleri düzenlediğini göstermektedir (Demirci & Gün, 2017). Leptin genellikle hipertrofik adipositlerde baskın olarak sentezlenen bir adipokin olarak bilinir. Kronik obez bireylerde leptin direnci gelişebilir, bu durumda vücut hücreleri leptine daha az duyarlı hale gelir ve enerji metabolizmasında bozulmalar ortaya çıkabilir. Obeziteye bağlı olarak vücut yağlanması arttıkça plazma leptin seviyeleri obez bireylerde genellikle yüksek seviyelere ulaşır. Bu durum leptin sinyallerine karşı azalmış duyarlılık ile birlikte enerji homeostazındaki bozulmaların bir göstergesi olabilir (Anubhuti & Arora, 2008). TNF α bir proinflamatuvar sitokin olarak bilinir ve diğer inflamatuvar sitokinlerin salınımına neden olabilir. TNF α beyaz adipoz dokuda bulunan ilk sitokin olarak rapor edilmiştir ve insülin direncinde etkili olduğu bulunmuştur (Dömling & Li, 2022). Obez bireylerde adipoz dokuda artan miktarda TNF α üretildiği gözlemlenmiştir. Obezite vücut yağ dokusundaki makrofajların artması ve bu makrofajların TNF α gibi proinflamatuvar sitokinleri salgılamasıyla ilişkilidir. Bu durum obez bireylerin dolaşımdaki TNF α seviyelerinin yüksek olmasına neden olabilir (Guerreiro vd., 2022). IL-6 obezite ve insülin direnci ile ilişkilendirilen bir sitokindir. Sağlıklı bireylerde dolaşımdaki IL-6'nın yaklaşık üçte biri adipoz dokudan kaynaklanmaktadır (Demirci & Gün, 2017). Obezite derecesi arttıkça IL-6 dolaşımda artış gösterir ve fareler üzerinde yapılan çalışmalarda IL-6'nın akut infüzyonunun insüline karşı duyarlılığı olumsuz etkilediği gözlemlenmiştir. Bu durum IL-6'nın obezite ve insülin direnci mekanizmalarında potansiyel bir rol oynadığını düşündürmektedir (Mauer vd., 2014). Yukarıdaki bilgiler dikkate alındığından KAF diyeti ile beslenen gruptaki farelerin leptin, TNF α ve IL-6 değeri anlamlı şekilde arttığı gözlenmiştir ($p<0.05$). Ayrıca obez bireylerde toplam kolesterol, trigliserit ve AST gibi önemli biyokimyasal

parametrelerde belirgin değişiklikler gözlenmektedir. Obezite sağlıklı bireylere kıyasla toplam kolesterol ve trigliserit seviyelerinde artışa neden olmaktadır. Bu durum, karaciğerde yağ birikimine ve genel lipid birikimine yol açarak, lipid metabolizmasında önemli bir bozulmaya sebep olmaktadır. Ayrıca, karaciğer fonksiyon göstergelerinden biri olan AST gibi enzimlerde obez bireylerde anormalliklere neden olabilir. Obez bireylerde karaciğerin lipid birikimine bağlı olarak artan serum AST seviyeleri, karaciğer fonksiyonlarında bozulmanın bir belirtisi olabilir (Bray vd., 2017). Bu kapsamda, KAF grubuna ait toplam kolesterol, trigliserit ve AST seviyelerinin kontrol grubu değerlerine göre anlamlı bir şekilde arttığı tespit edilmiştir ($p<0.05$) (Tablo 5). Bununla birlikte KAF grubuna ait karaciğer dokuların mikroskop altında incelenmesi öncelikle hepatosit düzeninde belirgin bozukluklar olduğu ve hepatositlerde yoğun mikroveziküler lipid vakuolleri bulunduğu gözlenmiştir. Bu gözlemler, KAF grubundaki karaciğer dokularında lipid birikimi ve hücresel düzenlemelerde belirgin değişikliklerin olduğuna işaret etmektedir. Yoğun mikroveziküler lipid vakuolleri yağ metabolizması üzerindeki etkileriyle önemli bir bulgu olarak değerlendirilmektedir. Bu durum, KAF grubundaki farelerin karaciğer dokusunda belirgin lipid birikimine ve hücresel düzenlemelerde bozulmalara neden olan bir durumu yansıtmaktadır (Şekil 19). Sonuç olarak KAF grubundaki farelerin kontrol grubuna kıyasla vücut ağırlığında önemli bir artış ve epididimal yağ dokusunda belirgin bir büyüme gösterdiğini ortaya koymaktadır. Ayrıca, KAF grubu farelerinin biyokimyasal parametrelerinde, özellikle toplam kolesterol, trigliserit ve AST seviyelerinde anlamlı değişiklikler olduğu belirlenmiştir. Histolojik incelemeler, karaciğer dokusunda lipid birikimi, hepatosit düzeninde bozukluklar ve inflamatuvar yanıtın arttığını göstermiştir. Bu bulgular, KAF diyeti ile beslenen farelerin obeziteye bağlı patofizyolojik değişikliklere maruz kaldığını ve bu değişikliklerin biyokimyasal ve histolojik düzeyde açıkça görülebildiğini göstermektedir.

Bugüne kadar propolisin obez hayvanların vücut ağırlığını ve yağ dokusu ağırlığını etkileyip etkilemediğini inceleyen birçok çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışmada 12 hafta boyunca YYD ile beslenen C57BL/6J türü farelere etanolik propolis örneğinin (400 mg/kg/gün) verilmesinin, vücut ağırlığı artışını ve yağ birikimini azalttığı gösterilmiştir (Cai vd., 2020). Yapılan başka bir çalışmada ise YYD ile beslenen C57BL/6N farelere 10 gün boyunca oral gavaj yoluyla verilen Brezilya propolis örneğinin (50 mg/kg/gün) vücut ağırlığı artışını baskıladığı ve visseral yağ dokusu ağırlığını önemli ölçüde azalttığı gözlemlenmiştir, ancak karaciğer ağırlığında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Koya-Miyata vd., 2009).

Bu çalışmaların aksine 8 hafta boyunca YYD ile beslenen Wistar türü sıçanlara propolis ilavesinin (%0.5) kontrol grubuna kıyasla vücut ağırlığının anlamlı bir fark göstermediğini, ancak toplam BYD ağırlığının kontrol grubundan anlamlı derecede düşük olduğunu rapor etmiştir (Ichi vd., 2009). Bahsedilen bu çalışmalar, YYD diyet ile beslenen farelerde propolis örneklerinin obezite gelişme aşamalarındaki etkilerini incelemiştir. Bu tez çalışması, diğer çalışmalardan farklı olarak, 12 hafta boyunca KAF diyeti ile beslenen farelerin obez olduğunu kabul etmiş ve obez farelerde SBAP ekstraktının etkisini incelemiştir. KAF+YDP grubunun son vücut ağırlığı, hem KAF+DDP hem de KAF grubuna göre düşük çıkmış ancak istatistiksel bir fark bulunamamıştır. KAF+Orlistat grubu ise anlamlı bir şekilde en düşük vücut ağırlığına sahip olduğu bulunmuştur ($p<0.05$) (Tablo 4). Benzer şekilde, Koya-Miyata vd., (2009)'da 8 hafta boyunca YYD ile beslenen fareleri obez kabul etmiş ve sonrasında gruplara ayırarak %2'lik etanolik propolis ekstraktlarını oral gavaj yolu ile 4 hafta farelere vermiştir. Çalışmada kontrol grubuna kıyasla etanolik propolis ekstrakt takviyesi olan grubun vücut ağırlığı artışında anlamlı şekilde azalma görülmüştür. Yaptığımız bu çalışmada son vücut ağırlığı hakkında elde edilen bulgular sonucunda SBAP ekstraktının KAF diyeti ile beslenen obez farelerde potansiyel bir kilo kontrolü etkisine sahip olabileceği yönünde bir düşünce ortaya koymaktadır.

Çin propolisinin YYD diyeti ile beslenen erkek C57BL/6 ırkı fareler üzerindeki etkilerini değerlendiren Zheng ve arkadaşlarının çalışmasında propolis uygulamasının, AST, kolesterol ve trigliserit seviyelerinde anlamlı bir azalmaya yol açtığı belirtilmiştir (Zheng vd., 2020). Aynı şekilde, Hırvat etanolik propolis ekstraktının YYD diyeti ile beslenmiş C57BL/6N farelere oral gavaj yoluyla 30 gün boyunca uygulanması, serum trigliserit ve kolesterol düzeylerinde belirgin bir düşüşle ilişkilendirilmiştir (Oršolić vd., 2019). Bu bağlamda, bu çalışmada uygulanan yüksek doz SBAP ekstraktının (KAF+YDP) KAF grubuna ait serum trigliserit, AST ve ALT değerlerinde anlamlı bir azalmaya neden olduğu gözlemlenmiştir. Aynı şekilde KAF+Orlistat grubuna ait trigliserit değeri KAF grubuna göre anlamlı bir şekilde azalmıştır. Ancak, KAF grubuna ait serum kolesterol değeri SBAP ekstraktları verilen gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı bir değişiklik göstermemiştir ($p<0.05$)(Tablo 5). Benzer bir şekilde, Koya-Miyata ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da propolis uygulamasının serum trigliserit değerinde anlamlı bir düşüşe neden olurken, kolesterol değerinde belirgin bir farklılık gözlenmemiştir (Koya-Miyata vd., 2009). KAF+Orlistat ve KAF+YDP grubuna ait kolesterol, trigliserit, ALT ve AST değerleri, KAF grubu ile karşılaştırıldığında benzer özellik gösterdiğini söyleyebiliriz. Bu sonuçlar, SBAP

ekstraktının (KAF+YDP) trigliserit ve karaciğer enzimleri üzerindeki olumlu etkisini ortaya koymaktadır. Bu durum, SBAP ekstraktının obeziteye bağlı lipid profili bozuklukları ve karaciğer enzimlerindeki değişiklikler üzerinde düzenleyici bir etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir. Buna ek olarak, KAF+Orlistat grubuna ait trigliserit değerindeki anlamlı düşüş, orlistatin bilinen etkileriyle uyumlu bir bulgudur. Orlistat, pankreatik ve gastrik lipazları inhibe ederek yağ asitlerinin emilimini azalttığı için trigliserit düzeylerinde azalmaya neden olabilir (Erdoğan Erden vd., 2022). Ancak, serum kolesterol değerlerinde SBAP ekstraktları verilen gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı bir değişiklik gözlenmemesi dikkat çekicidir. Bu bulgular, SBAP ekstraktının özellikle lipid profili üzerinde olumlu etkilere sahip olabileceğini, ancak bu etkilerin orlistat ile benzerlik gösterdiğini göstermektedir. Bu, SBAP ekstraktının potansiyel olarak obezite ile ilişkili metabolik bozukluklara karşı bir çözüm olarak değerlendirilebileceğini düşündürmektedir.

Obezite ve hiperglisemi, genetik, çevresel ve yaşam tarzı faktörlerinin karmaşık etkileşimiyle ortaya çıkan sağlık sorunlarıdır. Obezite, aşırı kilo birikimiyle karakterizedir ve insülin direncini artırarak T2DM riskini artırabilir. Diğer bir ifade ile T2DM ise genellikle insülin direnci ve β hücre disfonksiyonu ile karakterizedir. Bu iki durum arasındaki bağlantı, obezitenin insülin direncini artırarak hiperglisemiye zemin hazırlamasıyla ortaya çıkar. İnsülin direnci, hücrelerin insüline verdiği yanıtı azaltır ve bu durum glukozun hücrelere etkili bir şekilde alınmasını engeller. Sonuç olarak, kandaki glukoz seviyeleri yükselir, hiperglisemi meydana gelir ve T2DM riski artar. Obeziteye bağlı olarak gelişen insülin direncinde, adipoz dokulardan salınan serbest yağ asitleri ve proinflamatuvar adipokinler önemli rol oynar. Bu moleküllerin artışı, insülin sinyal yollarını olumsuz etkileyerek hücresel yanıtları bozar. Ayrıca, yağ dokularındaki makrofaj birikimi ve proinflamatuvar proteinlerin aktivasyonu, insülinin etkin kullanımını daha da zorlaştırabilir (Gupta vd., 2020). Yapılan bir çok çalışma propolisin fare ve sıçanlarda oluşturulan diyabet modellerinde kan glukozu, insülin seviyelerini düşürdüğünü ve insülin duyarlılığını arttırdığını göstermiştir (Aoi vd., 2013; Kitamura vd., 2013; Oladayo, 2016; W. Zhu vd., 2011). Yapılan çalışmada etanolik propolis ekstrakt takviyesinin YYD ile beslenen erkek C57BL/6J farelerde açlık insülin seviyesini, HOMA-IR'yi doza bağlı bir şekilde önemli ölçüde azalttığı bulunmuştur. Bu sonuçlar, etanolik propolis ekstrakt takviyesinin YYD ile beslenmenin neden olduğu insülin direncini azalttığını göstermektedir (Cai vd., 2020). Yaptığımız bu tez çalışmasında ise KAF+DDP ve KAF+YDP gruplarına ait insülin ve HOMA-IR değerlerinde KAF grubuna kıyasla düşüş gerçekleştiği görülmüştür. Ayrıca

KAF+YDP ile KAF+Orlistat grubu karşılaştırıldığında insülin ve HOMA-IR değerleri birbirine yakın çıkmıştır (Tablo 5). Bu bulgular, SBAP ekstraktının, obezite ve insülin direnciyle ilişkili metabolik sorunlara karşı potansiyel bir terapötik etki sağlayabileceği anlaşılmaktadır.

Yağ dokusu, çeşitli proinflamatuvar sitokinlerin (örneğin, TNF α ve IL-6) yanı sıra adipokinlerin kompleks bir sistem içinde eksprese edildiği ve salındığı önemli bir yapıdır. Adipokinler arasında leptin, adiponektin, resistin, visfatin, vaspin ve omentin bulunmaktadır. Bu adipokinler genellikle enerji homeostazisi ve insülin düzenlemesinde kilit rol oynar. Leptin enerji depolama ve açlıklarını sinyal kontrol ederken, adiponektin insülin miktarını arttırıcı ve anti-inflamatuvar özelliklere sahiptir (Catta-Preta vd., 2012). Obezitenin kompleks yapısında leptin direnci önemli bir etken olarak ortaya çıkar ve bu durum glukoz intoleransını etkileyerek diyabetin gelişimine katkıda bulunabilir. Obeziteye bağlı olarak leptin düzeylerindeki kalıcı artış diyabetin belirleyici bir faktörü haline gelir. Bu bağlamda, leptin kontrolünün ele alınması özellikle bu tür obezite durumlarında çeşitli kronik hastalıkları önleme potansiyeli olan bir müdahale hedefi olarak düşünülebilir (L. Zhu vd., 2023). Propolisteki çeşitli bileşiklerin adipositlerde adiponektin ve leptin ekspresyonunu olumlu yönde düzenlediği çalışmalar ile gösterilmiştir (Beserra vd., 2021; Washio vd., 2015). Bu çalışmada adiponektin değerlerini SBAP takviyelerinin (KAF+DDP ve KAF+YDP) KAF grubuna kıyasla anlamlı bir şekilde arttırdığı söylenebilir ($p<0.05$). SBAP takviyelerine ait adiponektin değerleri ile KAF+Orlistat grubun ait adiponektin değeri arasında ise anlamlı bir farklılığın çıkmadığı bulunmuştur ($p>0.05$). Leptin değerlerine bakıldığında ise KAF+YDP grubuna ait değer KAF grubuna göre düşük çıkmıştır. KAF+Orlistat grubuna ait leptin değerinin en düşük olduğu dikkat çekmektedir (Tablo 5). Bu sonuçlar SBAP takviyelerinin obez bireylerde görülen düşük adiponektin ve yüksek leptin seviyelerini düzenleyebileceğini göstermektedir. Bu durum obeziteye bağlı metabolik dengesizliklerin düzeltilmesi adına SBAP'nın potansiyel bir regülatör olarak değerlendirilebileceğini düşündürmektedir.

Obezite sistemik komplikasyonların birçoğuna aracılık eden kronik bir subklinik inflamatuvar durumu temsil etmektedir. Obeziteye bağlı olarak artan proinflamatuvar sitokin üretimi ve dolaşımdaki endotoksin seviyeleri insülin direncinin anahtar bir belirleyeni olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle hücrel ve moleküler düzeydeki bu kompleks etkileşimlerin anlaşılması, obezite ile ilişkilendirilen sağlık sorunlarının aydınlatılması ve etkili müdahale stratejilerinin geliştirilmesi açısından büyük bir öneme sahiptir. Yapılan çalışmada 12 hafta

süresince erkek C57BL/6J tipi fareler etanolik propolis takviyeli ve takviyesiz YYD ile beslenmiştir. Bu süreçte uygulanan 12 haftalık etanolik propolis takviyesinin TNF α ve IL-6'nın serum seviyelerini takviye almayan gruba göre doza bağlı bir şekilde anlamlı ölçüde azalttığı gözlemlenmiştir (Cai vd., 2020). Yaptığımız bu çalışmada KAF+YDP grubuna ait TNF α değeri KAF+Orlistat ve KAF+DDP gruplarına göre düşük çıkmıştır. Diğer çalışmalardan farklı olarak IL-6 seviyesinin SBAP takviye edilen gruplarda doza bağlı olarak arttığı ve en yüksek değerin KAF+Orlistat grubu ait olduğu bulunmuştur.

Memeliler BYD ve KYD aracılığıyla enerji yönetimini gerçekleştirirler. BYD fazla enerjiyi trigliserit olarak depolayarak enerji rezervi oluşturur. Öte yandan, KYD özel bir termojenik süreç olan termogenez aracılığıyla vücut ısını artırma ve enerjiyi ısı üretimiyle harcama görevini üstlenir. KYD hücrelerinde bulunan UCP-1 adlı protein bu süreçte önemli bir rol oynar (Nishikawa vd., 2016). Günümüzdeki araştırmalar beyaz yağ dokusunda bulunan ve kahverengi adipositlerin özelliklerini paylaşan "bej" veya "brite" hücrelerin kahverengi adipositlerin indükleyebileceği bir form olduğunu göstermektedir. Bu bej hücreler, enerji tüketimini artırmak ve vücut ısını düzenlemek amacıyla kahverengi yağın termojenik özelliklerini benimserler (L. Zhu vd., 2023). Sonuç olarak, beyaz yağ dokudaki bej adipozitlerin indüklenmesi obeziteyi önleme ve tedavi etme konusunda yeni bir yaklaşım sunmaktadır. Yapılan çalışmada Brezilya propolisinde bulunan artepillin C'nin beyaz adipositlerin kahverengileşmesini ve termojenezini indükleyerek obezite karşıtı etkiler elde edebileceği bulunmuştur (Nishikawa vd., 2016). C57BL/6 tipi erkek fareler üzerinde yapılan başka bir çalışmada YYD ile beslenen farelerde, KYD'nin "beyazlaşması" olarak adlandırılan lipid birikimi gözlenirken, Çin propolis takviyesi, lipid birikimini etkili bir şekilde tersine çevirmiş ve KYD'nin büyümesini, diğer bir deyişle kahverengileşmesini teşvik etmiştir. Ayrıca bu çalışmada Çin propolis takviyesi sonucunda dokuda UCP-1 miktarının YYD ile beslenen gruba göre arttığı gözlenmiştir (Zheng vd., 2020). Yaptığımız bu çalışmada SBAP takviyesinin serum örneklerinde UCP-1 miktarını KAF grubuna göre arttırdığı bununla birlikte KAF+Orlistat grubu ile kıyaslandığında daha yüksek çıktığı bulunmuştur. Bu sonuçlar doğrultusunda SBAP'ın UCP-1 düzeylerini arttırarak termojenik etkilerini ortaya koymaktadır.

5. SONUÇLAR

Genel olarak bu çalışmada SBAP ekstrakt örneğinin KAF diyeti ile beslenen obez farelerde vücut ağırlığı, lipid profili, insülin direnci, adipokin düzeyleri ve inflamatuvar yanıt üzerine olumlu etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. SBAP ekstraktının (KAF+YDP grubu), KAF grubuna kıyasla vücut ağırlığı, trigliserit, AST ve ALT düzeylerinde anlamlı bir düşüşe neden olduğu bulunmuştur. Ayrıca, SBAP ekstraktının (KAF+YDP grubu), KAF grubuna kıyasla adiponektin düzeyinde anlamlı bir artışa neden olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar, SBAP ekstraktının obezite ve insülin direnci ile ilişkili metabolik bozukluklara karşı potansiyel bir terapötik etki sağlayabileceğini göstermektedir.

SBAP ekstraktının obezite üzerindeki etkilerinin mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak, bu çalışmada elde edilen bulgular SBAP ekstraktının aşağıdaki mekanizmalar yoluyla obeziteyi önleyebileceğini veya tedavi edebileceğini düşündürmektedir:

- İnsülin direncini azaltma: SBAP ekstraktının, adipokin düzeylerini düzenleyerek ve inflamasyonu azaltarak insülin direncini azaltabileceği düşünülmektedir.
- Beyaz yağ dokusunda bej adipositlerin oluşumunu teşvik etme: SBAP ekstraktının, UCP-1 ekspresyonunu artırarak beyaz yağ dokusunda bej adipositlerin oluşumunu teşvik edebildiği düşünülmektedir. Bu durum, enerji tüketimini artırarak ve vücut ısısını düzenleyerek obezitenin önlenmesine veya tedavisine yardımcı olabilir.

SBAP ekstraktının obezite tedavisinde etkili bir alternatif olabileceğini düşündüren bu bulgular daha ileri çalışmalarla desteklenmelidir.

6. ÖNERİLER

SBAP ekstraktının obezite tedavisinde etkili bir alternatif olabileceğini düşündüren bulgular, bu alanda daha ileri çalışmalar yapılmasını gerektirmektedir. Bu çalışmalarda aşağıdaki konulara odaklanması faydalı olacaktır:

- SBAP ekstraktının obezite üzerindeki etkilerinin mekanizmasının daha iyi anlaşılması: Bu konuda daha fazla araştırma yapılması, SBAP ekstraktının obeziteyi nasıl önleyebileceğini veya tedavi edebileceğini daha iyi anlamamıza yardımcı olacaktır.
- SBAP ekstraktının farklı dozlarının ve uygulama yollarının etkinliğinin karşılaştırılması: Bu çalışma, SBAP ekstraktının en etkili dozunu ve uygulama yolunu belirlemeye yardımcı olacaktır.
- SBAP ekstraktının bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkilerinin araştırılması: Obez oluşturulmuş farelerde SBAP ekstraktının bağırsak mikrobiyotasındaki değişiklikler ile insülin direnci ve obezite arasındaki ilişkileri analiz edilmesinin sonuçları obezite ile mücadelede mikrobiyota tabanlı tedavilerin potansiyel etkilerini anlamamıza yönelik bilgiler sunarak obezite tedavi yöntemlerinin daha iyi anlaşılmasına yardımcı olacaktır.
- SBAP ekstraktının uzun vadeli güvenliği ve toksisitesinin değerlendirilmesi: Bu çalışma, SBAP ekstraktının uzun süreli kullanımının güvenli olup olmadığını belirlemeye yardımcı olacaktır.
- SBAP ekstraktının insan obezitesini tedavi etmek için potansiyelinin değerlendirilmesi: Bu çalışma, SBAP ekstraktının insan obezitesini tedavi etmek için güvenli ve etkili olup olmadığını belirlemeye yardımcı olacaktır.

7. KAYNAKLAR

- Akyürek, F. (2022). İnsülin Direnci - *Beslenme Biyokimyası*. Ankara. Nobel Akademik Yayıncılık.
- Anubhuti, & Arora, S. (2008). Leptin and its metabolic interactions – an update. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 10(11), 973-993. <https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2008.00852.x>
- Aoi, W., Hosogi, S., Niisato, N., Yokoyama, N., Hayata, H., Miyazaki, H., Kusuzaki, K., Fukuda, T., Fukui, M., Nakamura, N., & Marunaka, Y. (2013). Improvement of insulin resistance, blood pressure and interstitial pH in early developmental stage of insulin resistance in OLETF rats by intake of propolis extracts. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 432(4), 650-653. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2013.02.029>
- Arslan, İ. (2022). İnsülin Direncinin Klinik Önemi-*Beslenme Biyokimyası*. Ankara Nobel Akademik Yayıncılık.
- Balica, G., Vostinaru, O., Stefanescu, C., Mogosan, C., Iaru, I., Cristina, A., & Pop, C. E. (2021). Potential Role of Propolis in the Prevention and Treatment of Metabolic Diseases. *Plants*, 10(5), Article 5. <https://doi.org/10.3390/plants10050883>
- Baltaş, N. (2021). α -Glucosidase and α -Amylase Inhibition of Some Ethanolic Propolis Samples: Bazı Etanolik Propolis Örneklerinin α -Glukosidaz ve α -Amilaz İnhibisyonu. *Uludag Bee Journal*, 21(1), 1-7. <https://doi.org/10.31467/uluaricilik.877301>
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1999). [2] Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration-*Methods in Enzymology*. Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99005-5](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99005-5)
- Berberoğlu, Z., & Hocaoglu, C. (2021). Küresel Sağlık Sorunu ‘Obezite’: Güncel Bir Gözden Geçirme. *Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(3), 543-552. <https://doi.org/10.34087/cbusbed.886473>
- Beserra, F. P., Gushiken, L. F. S., Hussni, M. F., Ribeiro, V. P., Bonamin, F., Jackson, C. J., Pellizzon, C. H., & Bastos, J. K. (2021). Artepillin C as an outstanding phenolic compound of Brazilian green propolis for disease treatment: A review on pharmacological aspects. *Phytotherapy Research*, 35(5), 2274-2286. <https://doi.org/10.1002/ptr.6875>

- Booth, A., Magnuson, A., Fouts, J., & Foster, M. T. (2016). Adipose tissue: An endocrine organ playing a role in metabolic regulation. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, 26(1), 25-42. <https://doi.org/10.1515/hmbci-2015-0073>
- Bortolin, R. C., Vargas, A. R., Gasparotto, J., Chaves, P. R., Schnorr, C. E., Martinello, K. B., Silveira, A. K., Rabelo, T. K., Gelain, D. P., & Moreira, J. C. F. (2018). A new animal diet based on human Western diet is a robust diet-induced obesity model: Comparison to high-fat and cafeteria diets in term of metabolic and gut microbiota disruption. *International Journal of Obesity*, 42(3), Article 3. <https://doi.org/10.1038/ijo.2017.225>
- Bray, G. A., Kim, K. K., Wilding, J. P. H., & on behalf of the World Obesity Federation. (2017). Obesity: A chronic relapsing progressive disease process. A position statement of the World Obesity Federation: Position Paper. *Obesity Reviews*, 18(7), 715-723. <https://doi.org/10.1111/obr.12551>
- Cai, W., Xu, J., Li, G., Liu, T., Guo, X., Wang, H., & Luo, L. (2020). Ethanol extract of propolis prevents high-fat diet-induced insulin resistance and obesity in association with modulation of gut microbiota in mice. *Food Research International*, 130, 108939. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108939>
- Calderon, G., Gonzalez-Izundegui, D., Shan, K. L., Garcia-Valencia, O. A., Cifuentes, L., Campos, A., Collazo-Clavell, M. L., Shah, M., Hurley, D. L., Abu Lebdeh, H. S., Sharma, M., Schmitz, K., Clark, M. M., Grothe, K., Mundi, M. S., Camilleri, M., Abu Dayyeh, B. K., Hurtado Andrade, M. D., Mokadem, M. A., & Acosta, A. (2022). Effectiveness of anti-obesity medications approved for long-term use in a multidisciplinary weight management program: A multi-center clinical experience. *International Journal of Obesity*, 46(3), Article 3. <https://doi.org/10.1038/s41366-021-01019-6>
- Cardinault, N., Tourniaire, F., Astier, J., Couturier, C., Perrin, E., Dalifard, J., Seipelt, E., Mounien, L., Letullier, C., Bonnet, L., Karkeni, E., Dlalal, N., Georgé, S., & Landrier, J. (2020). Poplar Propolis Ethanolic Extract Reduces Body Weight Gain and Glucose Metabolism Disruption in High-Fat Diet-Fed Mice. *Molecular Nutrition & Food Research*, 64(18), 2000275. <https://doi.org/10.1002/mnfr.202000275>
- Catta-Preta, M., Martins, M. A., Cunha Brunini, T. M., Mendes-Ribeiro, A. C., Mandarim-de-Lacerda, C. A., & Aguila, M. B. (2012). Modulation of cytokines, resistin, and distribution of adipose tissue in C57BL/6 mice by different high-fat diets. *Nutrition*, 28(2), 212-219. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2011.05.011>
- Chang, E., & Kim, C. Y. (2019). Natural Products and Obesity: A Focus on the Regulation of Mitotic Clonal Expansion during Adipogenesis. *Molecules*, 24(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/molecules24061157>
- D'Anneo, A., & Lauricella, M. (2022). Natural and Synthetic Compounds for Management, Prevention and Treatment of Obesity. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(5), 2890. <https://doi.org/10.3390/ijms23052890>

- De Faveri, A., De Faveri, R., Broering, M. F., Bousfield, I. T., Goss, M. J., Muller, S. P., Pereira, R. O., de Oliveira e Silva, A. M., Machado, I. D., Quintão, N. L. M., & Santin, J. R. (2020). Effects of passion fruit peel flour (*Passiflora edulis* f. *Flavicarpa* O. Deg.) in cafeteria diet-induced metabolic disorders. *Journal of Ethnopharmacology*, 250, 112482. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112482>
- Demirci, Ş., & Gün, C. (2017). Adipoz doku ve adipoz dokudan salgılanan bazı proteinler. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 5(2), Article 2. <https://doi.org/10.24998/maeusabed.338105>
- Dömling, A., & Li, X. (2022). TNF- α : The shape of small molecules to come? *Drug Discovery Today*, 27(1), 3-7. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2021.06.018>
- El Adaouia Taleb, R., Djebli, N., Chenini, H., Sahin, H., & Kolayli, S. (2020). In vivo and in vitro anti-diabetic activity of ethanolic propolis extract. *Journal of Food Biochemistry*, 44(7), e13267. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13267>
- Erdoğan Erden, E., Yazici, Z. G., Kiliç, C., Aydın, S., & Kiliç, F. S. (2022). Pharmacological Approaches in Obesity Treatment. *OSMANGAZI JOURNAL OF MEDICINE*, 45(1), 142-150. <https://doi.org/10.20515/otd.1093390>
- Fried, S. K., Ricci, M. R., Russell, C. D., & Laferrère, B. (2000). Regulation of Leptin Production in Humans. *The Journal of Nutrition*, 130(12), 3127S-3131S. <https://doi.org/10.1093/jn/130.12.3127S>
- Fukumoto, L. R., & Mazza, G. (2000). Assessing Antioxidant and Prooxidant Activities of Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), 3597-3604. <https://doi.org/10.1021/jf000220w>
- Ghisalberti, E. L. (1979). Propolis: A Review. *Bee World*, 60(2), 59-84. <https://doi.org/10.1080/0005772X.1979.11097738>
- Guerreiro, V. A., Carvalho, D., & Freitas, P. (2022). Obesity, Adipose Tissue, and Inflammation Answered in Questions. *Journal of Obesity*, 2022, 1-11. <https://doi.org/10.1155/2022/2252516>
- Guler, H. I., Tatar, G., Yildiz, O., Belduz, A. O., & Kolayli, S. (2021). Investigation of potential inhibitor properties of ethanolic propolis extracts against ACE-II receptors for COVID-19 treatment by molecular docking study. *Archives of Microbiology*, 203(6), 3557-3564. <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02351-1>
- Gupta, G., Wadhwa, R., Pandey, P., Singh, S. K., Gulati, M., Sajita, S., Mehta, M., Singh, A. K., Dureja, H., Collet, T., Pabreja, K., Chellappan, D. K., & Dua, K. (2020). Obesity and Diabetes: Pathophysiology of Obesity-Induced Hyperglycemia and Insulin Resistance. İçinde P. S. Tappia, B. Ramjiawan, & N. S. Dhalla (Ed.), *Pathophysiology of Obesity-Induced Health Complications* (ss. 81-97). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-35358-2_5

- Guzelmeric, E., Yuksel, P. I., Yaman, B. K., Sipahi, H., Celik, C., Kırmızıbekmez, H., Aydın, A., & Yesilada, E. (2021). Comparison of antioxidant and anti-inflammatory activity profiles of various chemically characterized Turkish propolis sub-types: Which propolis type is a promising source for pharmaceutical product development? *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 203, 114196. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2021.114196>
- Higa, T. S., Spinola, A. V., Fonseca-Alaniz, M. H., & Evangelista, F. S. (2014). Comparison between cafeteria and high-fat diets in the induction of metabolic dysfunction in mice. *International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology*, 6(1), 47-54.
- Ichi, I., Hori, H., Takashima, Y., Adachi, N., Kataoka, R., Okihara, K., Hashimoto, K., & Kojo, S. (2009). The Beneficial Effect of Propolis on Fat Accumulation and Lipid Metabolism in Rats Fed a High-Fat Diet. *Journal of Food Science*, 74(5), H127-H131. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01147.x>
- Irmak, H., Yardım, N., Temel, F., & Keklik, K. (2021). *Türkiye Kalp ve Damar Hastalıkları Önleme ve Kontrol Programı Eylem Planı (2021-2026)* (Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Matbaası). T.C. Sağlık Bakanlığı Yayın No :1215. https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kronik-hastaliklar-ve-yasli-sagligi-db/Dokumanlar/Kitaplar/KalpDamarEylemPlani_2021-2026.pdf
- Jain, K. S., Kathiravan, M. K., Somani, R. S., & Shishoo, C. J. (2007). The biology and chemistry of hyperlipidemia. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 15(14), 4674-4699. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.04.031>
- Jia, J., Tian, Y., Cao, Z., Tao, L., Zhang, X., Gao, S., Ge, C., Lin, Q.-Y., & Jois, M. (2010). The polymorphisms of UCP1 genes associated with fat metabolism, obesity and diabetes. *Molecular Biology Reports*, 37(3), 1513-1522. <https://doi.org/10.1007/s11033-009-9550-2>
- Kara, Y., Can, Z., & Kolaylı, S. (2022a). Applicability of Phenolic Profile Analysis Method Developed with RP-HPLC-PDA to some Bee Product. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 65, e22210384. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2022210384>
- Kara, Y., Can, Z., & Kolaylı, S. (2022b). What Should Be the Ideal Solvent Percentage and Solvent-Propolis ratio in the Preparation of Ethanolic Propolis Extract? *Food Analytical Methods*, 15(6), 1707-1719. <https://doi.org/10.1007/s12161-022-02244-z>
- Kasote, D., Bankova, V., & Viljoen, A. M. (2022). Propolis: Chemical diversity and challenges in quality control. *Phytochemistry Reviews*, 21(6), 1887-1911. <https://doi.org/10.1007/s11101-022-09816-1>
- Khoramipour, K., Chamari, K., Hekmatikar, A. A., Ziyaiyan, A., Taherkhani, S., Elguindy, N. M., & Bragazzi, N. L. (2021). Adiponectin: Structure, Physiological Functions, Role in Diseases, and Effects of Nutrition. *Nutrients*, 13(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/nu13041180>

- Kitamura, H. (2019). Effects of Propolis Extract and Propolis-Derived Compounds on Obesity and Diabetes: Knowledge from Cellular and Animal Models. *Molecules*, 24(23), Article 23. <https://doi.org/10.3390/molecules24234394>
- Kitamura, H., Naoe, Y., Kimura, S., Miyamoto, T., Okamoto, S., Toda, C., Shimamoto, Y., Iwanaga, T., & Miyoshi, I. (2013). Beneficial effects of Brazilian propolis on type 2 diabetes in ob/ob mice. *Adipocyte*, 2(4), 227-236. <https://doi.org/10.4161/adip.25608>
- Kleinert, M., Clemmensen, C., Hofmann, S. M., Moore, M. C., Renner, S., Woods, S. C., Huypens, P., Beckers, J., de Angelis, M. H., Schürmann, A., Bakhti, M., Klingenspor, M., Heiman, M., Cherrington, A. D., Ristow, M., Lickert, H., Wolf, E., Havel, P. J., Müller, T. D., & Tschöp, M. H. (2018). Animal models of obesity and diabetes mellitus. *Nature Reviews Endocrinology*, 14(3), Article 3. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.161>
- Kolaylı, S., Birinci, C., Kara, Y., Ozkok, A., Samancı, A. E. T., Sahin, H., & Yildiz, O. (2023). A melissopalynological and chemical characterization of Anatolian propolis and an assessment of its antioxidant potential. *European Food Research and Technology*, 249(5), 1213-1233. <https://doi.org/10.1007/s00217-023-04208-x>
- Koncz, D., Tóth, B., Roza, O., & Csupor, D. (2021). A Systematic Review of the European Rapid Alert System for Food and Feed: Tendencies in Illegal Food Supplements for Weight Loss. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 611361.
- Koya-Miyata, S., Arai, N., Mizote, A., Taniguchi, Y., Ushio, S., Iwaki, K., & Fukuda, S. (2009). Propolis Prevents Diet-Induced Hyperlipidemia and Mitigates Weight Gain in Diet-Induced Obesity in Mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 32(12), 2022-2028. <https://doi.org/10.1248/bpb.32.2022>
- Kurek-Górecka, A., Keskin, Ş., Bobis, O., Felitti, R., Górecki, M., Otręba, M., Stojko, J., Olczyk, P., Kolaylı, S., & Rzepecka-Stojko, A. (2022). Comparison of the Antioxidant Activity of Propolis Samples from Different Geographical Regions. *Plants*, 11(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/plants11091203>
- Laaroussi, H., Ferreira-Santos, P., Genisheva, Z., Bakour, M., Ousaaïd, D., Teixeira, J. A., & Lyoussi, B. (2021). Unraveling the chemical composition, antioxidant, α -amylase and α -glucosidase inhibition of Moroccan propolis. *Food Bioscience*, 42, 101160. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101160>
- Lee, S.-H., Park, S.-Y., & Choi, C. S. (2022). Insulin Resistance: From Mechanisms to Therapeutic Strategies. *Diabetes & Metabolism Journal*, 46(1), 15-37. <https://doi.org/10.4093/dmj.2021.0280>
- Li, M., Chi, X., Wang, Y., Setrerrahmane, S., Xie, W., & Xu, H. (2022). Trends in insulin resistance: Insights into mechanisms and therapeutic strategy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1), 216. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01073-0>

- Li, X., Li, M., Xu, J., Zhang, X., Xiao, W., & Zhang, Z. (2019). Decreased Insulin Secretion but Unchanged Glucose Homeostasis in Cadmium-Exposed Male C57BL/6 Mice. *Journal of Toxicology*, 2019, e8121834. <https://doi.org/10.1155/2019/8121834>
- Martin, L. J., Woo, J. G., Daniels, S. R., Goodman, E., & Dolan, L. M. (2005). The Relationships of Adiponectin with Insulin and Lipids Are Strengthened with Increasing Adiposity. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 90(7), 4255-4259. <https://doi.org/10.1210/jc.2005-0019>
- Mauer, J., Chaurasia, B., Goldau, J., Vogt, M. C., Ruud, J., Nguyen, K. D., Theurich, S., Hausen, A. C., Schmitz, J., Brönneke, H. S., Estevez, E., Allen, T. L., Mesaros, A., Partridge, L., Febbraio, M. A., Chawla, A., Wunderlich, F. T., & Brüning, J. C. (2014). Signaling by IL-6 promotes alternative activation of macrophages to limit endotoxemia and obesity-associated resistance to insulin. *Nature Immunology*, 15(5), 423-430. <https://doi.org/10.1038/ni.2865>
- Memmedov, H., Aldemir, O., & Aliyev, E. (2017). PROPOLİSİN ANTİOKSİDAN VE ANTİİNFLAMATUVAR ETKİSİ. *Arıcılık Araştırma Dergisi*, 9(2), 56-62.
- Mermer, M., & Tek, N. A. (2017). Adipoz doku ve enerji metabolizması üzerine etkileri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 8(3), Article 3. <https://doi.org/10.22312/sdusbed.292229>
- Miller, G. L. (2002). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical chemistry*, 31(3), 426-428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. sci. technol*, 26(2), 211-219.
- Mountford-McAuley, R., Prior, J., & Clavijo McCormick, A. (2023). Factors affecting propolis production. *Journal of Apicultural Research*, 62(1), 162-170. <https://doi.org/10.1080/00218839.2021.1938456>
- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2008). *Lehninger Principles of Biochemistry*. Macmillan.
- Nishikawa, S., Aoyama, H., Kamiya, M., Higuchi, J., Kato, A., Soga, M., Kawai, T., Yoshimura, K., Kumazawa, S., & Tsuda, T. (2016). Artepillin C, a Typical Brazilian Propolis-Derived Component, Induces Brown-Like Adipocyte Formation in C3H10T1/2 Cells, Primary Inguinal White Adipose Tissue-Derived Adipocytes, and Mice. *PLOS ONE*, 11(9), e0162512. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162512>
- Oladayo, M. I. (2016). Nigerian propolis improves blood glucose, glycated hemoglobin A1c, very low-density lipoprotein, and high-density lipoprotein levels in rat models of diabetes. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 5(3), 233-238. <https://doi.org/10.5455/jice.20160502065029>
- Oršolić, N., Landeka Jurčević, I., Đikić, D., Rogić, D., Odeh, D., Balta, V., Perak Junaković, E., Terzić, S., & Jutrić, D. (2019). Effect of Propolis on Diet-Induced Hyperlipidemia

- and Atherogenic Indices in Mice. *Antioxidants*, 8(6), 156. <https://doi.org/10.3390/antiox8060156>
- Ouchi, N., Parker, J. L., Lugus, J. J., & Walsh, K. (2011). Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nature Reviews Immunology*, 11(2), Article 2. <https://doi.org/10.1038/nri2921>
- Pant, K., Sharma, A., Chopra, H. K., & Nanda, V. (2024). Impact of biodiversification on propolis composition, functionality, and application in foods as natural preservative: A review. *Food Control*, 155, 110097. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.110097>
- Park, S. E., Park, C.-Y., & Sweeney, G. (2015). Biomarkers of insulin sensitivity and insulin resistance: Past, present and future. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 52(4), 180-190. <https://doi.org/10.3109/10408363.2015.1023429>
- Ricquier, D. (2011). Uncoupling Protein 1 of Brown Adipocytes, the Only Uncoupler: A Historical Perspective. *Frontiers in Endocrinology*, 2, 85.
- Righi, A. A., Alves, T. R., Negri, G., Marques, L. M., Breyer, H., & Salatino, A. (2011). Brazilian red propolis: Unreported substances, antioxidant and antimicrobial activities. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(13), 2363-2370. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4468>
- Sackmann-Sala, L., Berryman, D. E., Munn, R. D., Lubbers, E. R., & Kopchick, J. J. (2012). Heterogeneity Among White Adipose Tissue Depots in Male C57BL/6J Mice. *Obesity*, 20(1), 101-111. <https://doi.org/10.1038/oby.2011.235>
- Sahin, E., Saglam, N., Erdem, S., Alvuroglu, E., Abidin, I., Yulug, E., & Alver, A. (2022). 7,8-Dihydroxyflavone alleviates Endoplasmic Reticulum Stress in cafeteria diet-induced metabolic syndrome. *Life Sciences*, 306, 120781. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2022.120781>
- Sakai, T., Ohhata, M., Fujii, M., Oda, S., Kusaka, Y., Matsumoto, M., Nakamoto, A., Taki, T., Nakamoto, M., & Shuto, E. (2017). Brazilian Green Propolis Promotes Weight Loss and Reduces Fat Accumulation in C57BL/6 Mice Fed A High-Fat Diet. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 40(4), 391-395. <https://doi.org/10.1248/bpb.b16-00577>
- Sampey, B. P., Vanhoose, A. M., Winfield, H. M., Freemerman, A. J., Muehlbauer, M. J., Fueger, P. T., Newgard, C. B., & Makowski, L. (2011). Cafeteria Diet Is a Robust Model of Human Metabolic Syndrome With Liver and Adipose Inflammation: Comparison to High-Fat Diet. *Obesity*, 19(6), 1109-1117. <https://doi.org/10.1038/oby.2011.18>
- Saral, Ö., Yıldız, O., Aliyazıcıoğlu, R., Yuluğ, E., Canpolat, S., Öztürk, F., & Kolaylı, S. (2016). Apitherapy products enhance the recovery of CCL4-induced hepatic damages in rats. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 46(1), 194-202. <https://doi.org/10.3906/sag-1411-35>

- Schmidt-Arras, D., & Rose-John, S. (2016). IL-6 pathway in the liver: From physiopathology to therapy. *Journal of Hepatology*, 64(6), 1403-1415. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.02.004>
- Sethi, J. K., & Hotamisligil, G. S. (2021). Metabolic Messengers: Tumour necrosis factor. *Nature Metabolism*, 3(10), 1302-1312. <https://doi.org/10.1038/s42255-021-00470-z>
- Sforcin, J. M., & Bankova, V. (2011). Propolis: Is there a potential for the development of new drugs? *Journal of Ethnopharmacology*, 133(2), 253-260. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.10.032>
- Slinkard, K., & Singleton, V. L. (1977). Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1), 49-55.
- Socol, C. T., Chira, A., Martinez-Sanchez, M. A., Nuñez-Sanchez, M. A., Maerescu, C. M., Mierlita, D., Rusu, A. V., Ruiz-Alcaraz, A. J., Trif, M., & Ramos-Molina, B. (2022). Leptin Signaling in Obesity and Colorectal Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/ijms23094713>
- Tsuda, T., & Kumazawa, S. (2021). Propolis: Chemical Constituents, Plant Origin, and Possible Role in the Prevention and Treatment of Obesity and Diabetes. *J. Agric. Food Chem.*, 69(51), 15484-15494.
- Tugba Degirmencioglu, H., Guzelmeric, E., Yuksel, P. I., Kırmızıbekmez, H., Deniz, I., & Yesilada, E. (2019). A New Type of Anatolian Propolis: Evaluation of Its Chemical Composition, Activity Profile and Botanical Origin. *Chemistry & Biodiversity*, 16(12), e1900492. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201900492>
- Turkut, G. M., Er, M., & Degirmenci, A. (2019). Evaluating Bioactivity and Bioaccessibility Properties of Turkish Propolis Extracts Prepared with Various Solvents. *Apiterapi ve Doğa Dergisi*, 2(1), Article 1. <https://doi.org/10.35206/jan.577616>
- Ulu, M. S., & Yüksel, Ş. (2015). İnsülin Direnci. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 16(3), Article 3. <https://doi.org/10.18229/ktd.41969>
- Unver, N., & McAllister, F. (2018). IL-6 family cytokines: Key inflammatory mediators as biomarkers and potential therapeutic targets. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 41, 10-17. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2018.04.004>
- URL-1. (2021, Haziran 9). Obesity and overweight: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> adresinden alınmıştır.
- Verma, N. (2016). INTRODUCTION TO HYPERLIPIDEMIA AND ITS TREATMENT: A REVIEW. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 9(1), 6. <https://doi.org/10.22159/ijcpr.2017v9i1.16616>
- Wang, Z. V., & Scherer, P. E. (2016). Adiponectin, the past two decades. *Journal of Molecular Cell Biology*, 8(2), 93-100. <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjw011>

- Washio, K., Shimamoto, Y., & Kitamura, H. (2015). Brazilian propolis extract increases leptin expression in mouse adipocytes . *Biomedical Research*, 36(5), 343-346. <https://doi.org/10.2220/biomedres.36.343>
- Whitehead, J. P., Richards, A. A., Hickman, I. J., Macdonald, G. A., & Prins, J. B. (2006). Adiponectin – a key adipokine in the metabolic syndrome. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 8(3), 264-280. <https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2005.00510.x>
- Yazici, E. (2023). Diyet İndüklü Obeziteyi Modellemek için Güvenilir Bir Yöntem: Kafeterya Diyeti. *Farabi Tıp Dergisi*, 2(3), Article 3. <https://doi.org/10.59518/farabimedj.1210558>
- Yildiz, O. (2020). TÜKETİLEBİLİR PROPOLİS EKSTRELERİNDE KULLANILAN ÇÖZÜCÜLERİN (MENSTRUMLARIN) DEĞERLENDİRİLMESİ. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 20(1), Article 1. <https://doi.org/10.31467/uluaricilik.659556>
- Yilmaz, H. Ö. (2018). Hiperlipidemi ve Beslenme. *Türkiye Sağlık Bilimleri ve Araştırmaları Dergisi*, 1(2), 72-82.
- Zeeni, N., Dagher-Hamalian, C., Dimassi, H., & Faour, W. H. (2015). Cafeteria diet-fed mice is a pertinent model of obesity-induced organ damage: A potential role of inflammation. *Inflammation Research*, 64(7), 501-512. <https://doi.org/10.1007/s00011-015-0831-z>
- Zheng, Y., Wu, Y., Tao, L., Chen, X., Jones, T. J., Wang, K., & Hu, F. (2020). Chinese Propolis Prevents Obesity and Metabolism Syndromes Induced by a High Fat Diet and Accompanied by an Altered Gut Microbiota Structure in Mice. *Nutrients*, 12(4), 959. <https://doi.org/10.3390/nu12040959>
- Zhu, L., Zhang, J., Yang, H., Li, G., Li, H., Deng, Z., & Zhang, B. (2023). Propolis polyphenols: A review on the composition and anti-obesity mechanism of different types of propolis polyphenols. *Frontiers in Nutrition*, 10, 1066789. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1066789>
- Zhu, W., Chen, M., Shou, Q., Li, Y., & Hu, F. (2011). Biological Activities of Chinese Propolis and Brazilian Propolis on Streptozotocin-Induced Type 1 Diabetes Mellitus in Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011. <https://doi.org/10.1093/ecam/neq025>

ÖZGEÇMİŞ

Mehmet KEMAL, 2005-2006 öğretim yılında Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği bölümünde lisans eğitimine başladı. 2009 yılında bu bölümden mezun oldu. 2010 yılında Milli Eğitim Bakanlığı Yurt Dışı Lisansüstü Eğitim (YLSY) bursunu kazandı. 2011- 2012 Öğretim döneminde Rutgers Üniversitesinde yabancı dil programına (PALS) katıldı. 2012 yılında Kuzey Karolina Devlet Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Gıda Bilimi programında yüksek lisansa başladı ve 2015 yılında mezun oldu. 2017 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim dalında doktora başladı. Ağustos 2015 tarihinden itibaren Artvin Çoruh Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik bölümünde araştırma görevlisi olarak görev yapmaktadır.

Yazarın Ulusal ve Uluslararası Dergilerde Yayınlanmış Makaleleri:

1. Characterization of the Black Cumin (*Nigella sativa* L.) Honey from Türkiye
Mehmet Kemal, Ülkü Zeynep Üreyen Esertaş, Esra Demir Kanbur, Yakup Kara, Zehra Can, Sevgi Kolaylı, Food Bioscience, 2023
<https://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102760>
2. The Phenolic Composition and Antioxidant Properties of Figs (*Ficus carica* L.) Grown in the Black Sea Region
Çiğdem Bayrak, Ceren Birinci, **Mehmet Kemal**, Sevgi Kolaylı, Plant Foods for Human Nutrition, 2023
<https://dx.doi.org/10.1007/s11130-023-01089-z>
3. Six Algerian Plants: Phenolic Profile, Antioxidant, Antimicrobial Activities Associated with Different Simulated Gastrointestinal Digestion Phases and Antiproliferative Properties
Mehtap Er Kemal, Boulanouar Bakchiche, **Mehmet Kemal**, Kadour Cheraif, Yakup Kara, Sanaa K. Bardaweel, Maria G. Miguel, Oktay Yıldız, Mosad A. Ghareeb, Journal of Herbal Medicine, 2023
<https://dx.doi.org/10.1016/j.hermed.2023.100636>

4. The Botanical, Physicochemical, and Biochemical Characteristics of Northern Cyprus Honeys
Meltem Uçar, **Mehmet Kemal**, Esra Demir Kanbur, Yakup Kara, Ali Erdem Özçelik, Sevgi Kolaylı, European Food Research and Technology, 2023
<https://dx.doi.org/10.1007/s00217-023-04233-w>
5. A Preliminary Study on the Physicochemical, Microbiological and Sensory Characteristics of Purslane and/or Cayenne Pepper Added Drinking Yogurt, A Traditional Anatolian Beverage
Atiye Değirmenci, Mehtap Er Kemal, Gülsüm Merve Boyracı, **Mehmet Kemal**, Oktay Yıldız, Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi, 2021
<https://dx.doi.org/10.31466/kfbd.931444>
6. Antioxidant Capacity of a Bee Pollen Sample Obtained from Giresun, Turkey
Hüseyin Şahin, **Mehmet Kemal**, Journal of Apitherapy and Nature, 2020
<https://dx.doi.org/10.35206/jan.689291>
7. Dielectric Properties of Selected Pork Organ Meats and Experimental Pate Product Formulations for Continuous Flow Microwave Processing
Dana Hanson, **Mehmet Kemal**, Travis Tennant, Josip Simunovic, Archivos Latinoamericanos de Producción Animal, 2014