

Derleme

Kafeik Asit Fenetil Ester (KAFE) ve Miyokardiyal İskemi Reperfüzyon (Mİ/R) Hasarı

Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) and Myocardial Ischemia Reperfusion (MI/R) Injury

Hakan Parlakpınar¹, Mehmet Hamdi Örüm², Ahmet Acet¹

¹İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Malatya

²İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dönem IV Öğrencisi, Malatya

Özet

İskemi, doku hasarı ile sonuçlanan, dokuya yetersiz oksijen ve besin desteğine yol açan kan akımı durması veya azalmasını ifade eder. Miyokard dokusunun yaşamının devam edebilmesi için iskemik alanın erken reperfüzyonu önemlidir. Ancak reperfüzyonun kendisi de, reperfüzyon hasarı olarak adlandırılan miyokard hücrelerinin ölümü ile sonuçlanır. Miyokardiyal iskemi-reperfüzyon (Mİ/R) hasarının özellikle reperfüzyon dönemindeki artmış serbest radikal üretimi ve hücre içi aşırı kalsiyum yüklenmesi ile ilişkili olduğuna inanılmaktadır. Araştırmacılar, Mİ/R hasarını önlemek için kullanılabilecek ajanlar üzerinde pek çok çalışmalar yapmaktadır. Bal arısı kovanlarından elde edilen propolisin aktif bir bileşeni olan kafeik asit fenetil ester (KAFE)'nin antikarsinojenik, immünomodülatör, antiinflamatuvar ve antioksidan özelliklerinin olduğu bilinmektedir. KAFE, serbest radikalleri süpüren ve antioksidan enzimleri aktive eden bir ajandır. Bu bulgular KAFE'nin iskemik kalp hastalıklarının önlenmesi ve tedavisinde, özellikle hayatı tehdit eden reperfüzyon aritmilerinde ve ileriki yaşam kalitesini etkileyebilen infarkt alanının önlenmesinde klinik olarak test edilebileceğini düşündürmektedir. Bu derlemede Mİ/R hasarının mekanizmaları ve KAFE'nin Mİ/R ile ilgili hasar üzerindeki etkilerinin gözden geçirilmesi amaçlandı.

Anahtar Kelimeler: Kafeik asit fenetil ester, Miyokardiyal iskemi/reperfüzyon, Propolis.

Abstract

Ischemia refers to lack of or decreased blood flow, which leads insufficient oxygen and nutrient supply to the tissue, which in turn results in tissue damage. Early reperfusion of the ischemic area is important in viability of the myocardial tissue. However, reperfusion also often results in injury to the myocardial cells, which has been termed reperfusion injury. It is believed that MI/R injury is related to increased free radical formation and calcium overloading especially during the reperfusion period. Researchers are working on the agents that can be used to prevent MI/R injury. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE), an active component of propolis from honeybee hives, is known to have anticarcinogenic, immunomodulatory, antiinflammatory, and antioxidant properties. It has been demonstrated that CAPE is an agent which is a free radical scavenger and activates antioxidant enzymes. These findings thought that CAPE would be valuable to test in clinical trials for prevention and of possible MI/R-induced injury, especially life threatening reperfusion-induced arrhythmias and infarct size effecting life quality. In this review we have summarized the mechanisms of MI/R injury and the effects of CAPE on myocardial damage that related to MI/R injury.

Key Words: Caffeic acid phenethyl ester, Myocardial ischemia/reperfusion, Propolis.

Giriş

Kalp hastalıkları, dünyadaki ölüm ve hastaneye yatışların en önemli sebeplerinden biridir (1). Miyokard dokusunun kan ihtiyacının aterosklerotik plak, trombus veya inflamasyon gibi sebepler neticesinde yeterli düzeyde karşılanamaması halinde iskemik kalp hastalıkları oluşur (2). İskemi sonrasında dokunun oksijen ve besin ihtiyacı karşılanmadığı gibi; artık maddeler de uzaklaştırılmaz. Kurtarılan miyokard doku miktarını artırmak için, doku kan akımı en kısa sürede yeniden sağlanmalıdır. Doku reperfüzyonu'nun bu önemli etkisinin yanında, morfolojik değişikliklere, ventriküler aritmilere sebep olan istenmeyen etkileri de vardır (3). Miyokardiyal iskemi-reperfüzyon (Mİ/R) hasarı trombolitik olaylarda, perkütan translüminal koroner anjiyoplasti ve koroner by-pass ameliyatı gibi işlemler sırasında gelişebilmektedir (4). Reperfüzyon döneminde hücre içine giren moleküler oksijenin, hızla serbest oksijen

radikali üretimine sebep olması doku hasarının en önemli bileşenidir. Bunun yanı sıra gerçekleşen inflamatuvar olaylar hasarı daha da komplike bir hale getirmektedir.

Araştırmacılar, insanlar için hayati bir öneme sahip olan Mİ/R hasarı sırasında oluşan oksidatif stres ve inflamasyon ilişkili olaylarda tedavide kullanılabilecek ajanlar bulmaya yönelik çalışmalara ağırlık vermişlerdir.

Doğal antioksidanlar arasında enzimler (süperoksit dismutaz-SOD, katalaz-KAT, glutatyon peroksidaz-GPx, glutatyon redüktaz, sitokrom-C-oksidad, hidroksiperoxidaz), makromoleküller (seruloplazmin, transferrin, ferritin, myogloblin, haptoglobilin) ve mikromoleküller (β-karoten, A-vitami, C-vitami, E-vitami, tokoferoller, tiol içerenler, glutatyon (GSH), N-asetil sistein, metionin, kaptopril, ubiguinon,

melatonin) sayılabilir (5). Kafeik Asit Fenetil Ester (KAPE), eksojen olarak kullanılan antioksidan ajanlardan birisidir.

KAPE, bal arıları tarafından toplanan güçlü antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antioksidan ve antineoplastik aktiviteleri olan propolislerin aktif bir bileşenidir. KAFE' nin serbest radikalleri süpüren ve antioksidan enzimleri aktive eden bir ajan olduğu gösterilmiştir. Son yıllarda yapılmış olan birçok çalışmada antioksidan özelliğe sahip olan KAFE' nin Mİ/R hasarından etkilenen organ ve dokularda reaktif oksijen ve nitrojen radikallerine bağlı olarak gelişen zararları önlediği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (6, 7). Biz bu derlemede KAFE' nin Mİ/R hasarı üzerindeki etkilerini açıklamayı amaçladık.

Bal

Hipokrat (M.Ö. 466–377) balın, hava ve suya eşdeğer olduğunu söylemiş ve yüksek ateş, yaralanma, ödem ve iltihaplanmalara karşı yazılan reçetelerde en başta bala yer vermiştir. Yunanlı ve Arap hekimler de balı çeşitli göz, ruh ve sinirsel hastalıklarda yalnız veya bitkilerle karıştırarak şurup veya merhem şeklinde kullanmışlardır (8). Bal, şeker ve diğer bazı bileşiklerin birer karışımıdır. Bu karışımın içinde maltoz, sükroz ve diğer kompleks karbonhidratlarla beraber (9) daha az miktardaki vitaminler, mineraller (10) ve antioksidanlar (11) bulunmaktadır. Balın antioksidan özelliği içerdiği glukoz oksidaz, KAT gibi enzimlerden ve askorbik asit, flavonoid, fenolik asit, amino asit, protein, organik asit gibi bileşiklerden kaynaklanmaktadır (12). Propolis, antioksidan özellikleri olan diğer bir bal arısı ürünüdür.

Propolis

Propolis bal arıları tarafından çeşitli kaynaklardan toplanmış, reçinemi materyalin genel adıdır (13). Arılar propolisi kovanların hasarlanan yerlerinin tamirinde, giriş deliklerinin kapatılmasında, dezenfeksiyonda ve kovanın içine giren zararlı maddeler, mikroorganizmalar ve böceklerin mumyalanarak etkisiz hale getirilmesi işlemlerinde kullanırlar (14). Propolisin içerisinde fenolik (flavonoidler: flavonlar, flavononlar ve flavonoller) ve ilgili bileşikler (fenolik asitler ve esterleri) ile kafeik asit esterleri (kafeik asit benzil ester, salisilik asit benzil ester, sinamik asit benzil ester ve kafeik asit fenetil ester -KAPE-) vardır (15).

Propolis uzun yıllardan beri halk hekimleri tarafından en çok antiseptik, antibakteriyel, antiinflamatuvar ve rejeneratif amaçlarla çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Propolisin antimikrobik (16), antiinflamatuvar (17) ve rejeneratif (18) etkileri yanında immünomodülatör (19), antimutajenik (20), karsinostatik (21) ve antioksidan (22) etkileri bilimsel çalışmalarla kanıtlanmıştır. Bu etkilerin çoğunun propolisin etkin maddelerinden biri olan KAFE' ye bağlı olduğu gösterilmiştir (23, 24).

Kafeik asit fenetil ester (KAPE)

KAPE, arıların bitkilerden topladığı özütün içerisinde bulunan keskin ve güzel kokulu propolis maddesinin aktif bileşenlerinden birisidir (25). NF-KB aktivasyonu, lipid peroksidasyonu (26), lipooksijenaz (27), siklooksijenaz (28) aktiviteleri, protein tirozin kinaz (29) ve ornitin dekarboksilaz (30) üzerindeki potent ve spesifik inhibitör etkilerinden kaynaklanan KAFE' nin antiviral, antiinflamatuvar, immünomodülatör ve antioksidan özellikleri vardır.

Organizmada normal fizyolojik şartlarda veya herhangi bir patolojik olay sonucunda oluşan serbest radikaller ile bunların koruyucusu olan antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin, serbest radikaller lehine kayması oksidatif stresi gösterir. Yapılan araştırmalar KAFE' nin insan nötrofillerinde ve ksantin/ksantin oksidaz sisteminde 10 µmol konsantrasyonda reaktif oksijen radikali (ROS) üretimini tam olarak bloke ederek antioksidan etki oluşturduğunu göstermiştir (25). İskemi-reperfüzyon (İ/R) hasarı ayrıca polimorfonükleer nötrofil aktivasyonu ile ilgilidir ve böylece olay daha karmaşık bir hale gelmektedir (31). Yukarıda sayılan özelliklerinden dolayı KAFE, bu hasar mekanizmalarını önlemek için kullanılabilecek güçlü bir antiinflamatuvar üründür.

İnflamasyon, proliferasyonu uyaran kemotaktik ve mitojenik faktörlerin salınımını artırır. Redükte glutatyon (GSH) aktivitesinin azalması ve malondialdehid (MDA) içeriğinin artması ile sonuçlanan inflamasyon, bu sürecin patofizyolojisinde oksidatif stresin rolünü göstermektedir. Nitrik oksit (NO) başta olmak üzere reaktif nitrojen türleri inflamasyonda önemli bir rol oynar. Örneğin, inflamatuvar süreçte göz dokularındaki nitrik oksit sentaz (NOS) aktivitesi anlamlı bir şekilde artar. Makrofajlar ve nötrofiller gibi hücrelerde NOS aktivitesi indüklenebilir. Bu yüzden NOS aktivitesinin arttığı durumlar bize bu hücrelerle ilgili patolojik bir durumun olduğunu gösterebilir. NOS' un inhibisyonu, inflamasyon ve doku hasarını azaltabilir. KAFE, indüklenebilir NOS'u (iNOS) baskılayan ve bu şekilde NO aktivitesini azaltan özelliği nedeniyle, Türköz ve ark. (32) tarafından yapılan bir çalışmada tavşanlara intraperitoneal (i.p.) olarak 3 gün enjekte edilmiş (15 µmol /kg) ve proliferatif vitreoretinopati (PVR) üzerine etkinliği araştırılmıştır. Araştırma sonucunda KAFE' nin PVR' de inhibitör etkisinin olduğu görülmüş ve daha önceden yükselmiş bulunan MDA ile NO'nun azaldığı, ve düşük bulunan GSH düzeylerinin ise KAFE tarafından yükseltildiği gösterilmiştir. Serbest oksijen ara ürünlerini azaltarak proliferasyonu ve kollajen sentezini baskılayan, lipooksijenaz ve siklooksijenaz yollarının ikisini birden inhibe ederek antiinflamatuvar etkinlik gösteren KAFE, PVR' de kullanılabileceği yönünde olumlu bir sonuç göstermiştir. Bazı ilaçların böbrekte meydana getirdikleri hasar ROS oluşumu ile ilişkilidir. KAFE' nin bilinen antioksidan, serbest radikal süpürücü

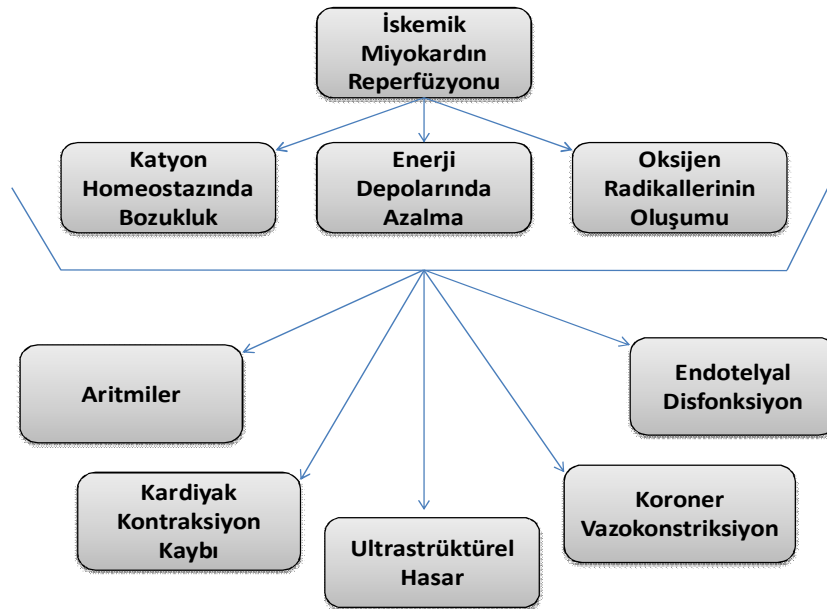
etkileri ile hücrel savunma mekanizmalarını restore edebileceği ve böylelikle lipid peroksidasyonunu engelleyebileceği hatta redukte GSH konsantrasyonunu dengeleyebileceği ve bu şekilde geniş bir yelpazeye sahip olan nefrotoksik ajanların toksik etkilerine karşı böbreği koruyabileceği öngörülmüştür.

KAFE' nin oksidatif stres ve inflamatuvar olaylar üzerindeki bu etkisi araştırmacıları insan vücudunda meydana gelen oksidatif stres ve inflamasyon kaynaklı hasarlarda KAFE' nin etkinliğini araştırmaya yöneltmiştir. Biz de daha önceki bir çalışmamızda (33) gentamisine (GEN) bağlı akut böbrek toksisitesinde, KAFE tedavisinin, sadece GEN uygulanan gruba göre SOD, KAT, GSH, NO ve MDA sonuçlarını anlamlı bir şekilde düzelttiğini göstermiştik. Nefrotoksisiteden dolayı anlamlı bir şekilde artmış olan serum kan üre ve kreatinin düzeylerini de KAFE uygulaması anlamlı

olarak azaltmış bulundu. Ayrıca, histopatolojik incelemelerde GEN uygulanan grupta böbrekte tübüler nekrozun olduğu, KAFE uygulanması ile böbrek hasarının azaldığı görülmüştü.

Myokardiyal iskemi reperfüzyon (Mİ/R) hasarı

Ateroskleroz, koroner vazospazm veya inflamasyon gibi nedenlerle kan ihtiyacının kısmen ya da tamamen karşılanamaması halinde miyokard dokusunda iskemi gelişir. Miyokardiyal iskeminin en önemli sebebi koroner aterosklerozdur. İskemide hücrel enerji depoları boşalır ve oluşan metabolitlerin temizlenmesinin aksaması nekrotik ve apoptotik mekanizmalarla hücre ölümüne neden olur. Fakat bunlardan daha önemlisi dokuda oksijen yetmezliği vardır. Bu durum ölümcül aritmiler ve miyokard infarktüsü gibi ciddi durumlarla sonuçlanır (2).



Miyokardiyal İskemi Reperfüzyon Algoritması

İskemik dokuya hem hücrenin rejenerasyonu, hem de toksik metabolitlerin temizlenmesi için yeniden kan akımının sağlanması gereklidir. Ancak iskemik dokunun reperfüzyonu, dokuda paradoksal olarak sadece iskemi ile oluşan hasara göre çok daha ciddi bir hasara yol açar (34). Reperfüzyon döneminde gözlenen hasarda, hücre içine moleküler oksijen girişi ile hızla oluşan ROS türevleri başta olmak üzere birçok mekanizma rol oynamaktadır.

İskemik dönemde hücrede metabolik ve yapısal değişiklikler meydana gelir. Dokuya gelen kan akımının kesilmesi ile hücrel oksidatif fosforilasyon azalır ve ATP (adenozin 5'-trifosfat) ve fosfokreatin gibi yüksek enerjili fosfat sentezi azalır. Hücrede enerji depolarının boşalması ile hücre zarında bulunan Na^+ , K^+ -ATP az pompası inhibe olur. Sonuçta hücre içinde Na^+ ve Ca^{+2} iyon konsantrasyonları artar. Hücre içinde Ca^{+2} iyon konsantrasyonunun artışı hücre için

sitotoksiktir. Yine bu dönemde hücrede iyon konsantrasyonunun değişimi ile proinflamatuvar sitokinlerin, lökosit adezyon moleküllerinin yapımında artış, buna karşılık antioksidan enzimlerin aktivitesi ve ekspresyonunda azalma olur. Bu durum hücreyi reperfüzyon dönemindeki hasara karşı dayanıksız kılar (35).

İskemik miyokardın reperfüzyonu, ROS oluşumuna yol açmaktadır (36). Bu metabolitler, (süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali ($\text{OH}^\cdot$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2), reperfüzyon hasarının önemli nedenlerinden biri olarak görülmektedir. Eşleşmemiş bir elektrona sahip olan ROS, yüksek reaktivitesi nedeniyle hücre içindeki tüm biyomoleküllere karşı atak yapar. Reperfüzyon hasarına en fazla duyarlı olan hücrel yapılar zar lipidleri, proteinler, nükleik asitler ve deoksiribonükleik asit molekülleridir (37). ROS etkisiyle oluşan organik peroksitler, kendileri de

radikal özelliği kazandıkları için başka moleküllere atak yaparlar. Zincirleme bir şekilde devam eden bu olay, radikallerin tutulması, peroksitlerin ortamdan temizlenmesine kadar sürebilir. SOD, KAT, GPx, glutatyon ve vitamin E gibi antioksidanlar, oksidatif strese karşı organizmanın savunma hattını oluşturmaktadır.

İskemi, kalp hücrelerinin fonksiyonlarını kaybetmelerine neden olur. Miyokard infarktüsünün en önemli nedeni, koroner aterosklerozdur. Araştırmalar proteaz inhibitörlerinin, pıhtılaşma faktörlerinin ve kompleman aktivasyonunun koroner risk faktörü olabileceğini göstermektedir (38). Miyokard dokusunun reperfüzyonu özellikle akut miyokard infarktüsünde (AMİ) kurtarılan sağlam doku miktarını artırmak için önemlidir. Kan akımının yeniden sağlanması ile infarkt gelişen dokuda inflamatuvar reaksiyon oluşur. İnflamasyon, hasar sonrası dokunun iyileşmesinde önemli bir yer tutmaktadır (39). Bununla birlikte iske mi sonrası inflamasyon, nötrofillerin infiltrasyonu, damar endotel aktivasyonu, endotelial hücre adezyon molekülleri ve inflamatuvar sitokinlerin artışı gibi bir dizi olayları içerir (40).

KAFE' nin Mİ/R hasarı üzerindeki etkileri

Kalp hastalıkları, ölüm nedenleri içerisinde ilk sırada yer almakta ve ani ölümlerin çoğundan Mİ/R aritmileri sorumlu tutulmaktadır (41). Bu aritmilerin nedeni hala spekülatif olmakla beraber, iskemideki elektrofizyolojik anormallikler (özellikle, Ca^{+2} ve K^{+} için iyonik dengesizlik) ve reperfüzyonda aşırı serbest radikal üretimi, geçerli hipotezler olarak kabul edilmektedir. Bu radikaller membran hasarı, DNA yıkımı, proteaz aktivasyonu, lipid ve protein peroksidasyonu, apoptoz ve nekrozla sonuçlanan hücre ölümü meydana getirmektedir. KAFE' nin serbest radikal süpürücü özelliği yanında antioksidan etkisi, Mİ/R hasarında etkili bir koruyucu olabileceğini düşündürmektedir (42).

Ksantin/ksantin oksidaz İ/R süresinde oluşan $OH^{\cdot}$ ve H_2O_2 radikallerinin potansiyel bir kaynağıdır. KAFE ise bu radikalleri çok güçlü bir şekilde süpürür. KAFE, H_2O_2 ' leri metabolize eden GPx enzimini ayrıca aktive eder, $O_2^{\cdot-}$ radikalini H_2O_2 ' e katalize eden SOD aktivitesini artırarak, oksidatif stres esnasında KAT aktivitesindeki azalmayı önleyerek ve NO oluşumundan sorumlu NOS enzimini inhibe ederek etki göstermektedir (43, 44).

Daha önceden çok iyi tanımlanan antioksidan (45) ve antiinflamatuvar (46) etkilerinden dolayı, temelde oksidatif stres kaynaklı olan ve inflamatuvar olayların eşlik ettiği Mİ/R hasarında, KAFE' nin etkinliğini araştıran birçok çalışma yapılmıştır. Araştırma grubumuzun 2004 yılında yaptığı bir çalışmada (43) KAFE' nin Mİ/R sonrası gelişen oksidatif stres hasarı üzerindeki etkileri araştırılmıştı. Bizim çalışmamızda Mİ/R protokolü uygulanan sıçan kalplerinde KAFE'

nin kalp dokusundaki MDA ve GSH içerikleri üzerindeki etkilerine bakıldı. Erkek sıçanların kullanıldığı çalışmada hayvanlar üç gruba ayrıldı: (I) Kontrol; (II) Mİ/R; (III) KAFE (50 μ mol /kg)+Mİ/R. Mİ/R protokolüne göre sıçanların sol koroner arterleri 30 dk iskemiye maruz bırakıldı ve takiben 120 dk reperfüze edildi. KAFE, iskemiden 10 dk önce başlanarak ve damarın bağlı olduğu süre içerisinde devam edecek şekilde infüzyon yoluyla jugüler venden verildi. Araştırma sonuçlarımıza göre Mİ/R grubu kontrol grubuyla karşılaştırıldığında MDA üretiminde anlamlı bir artış görülürken; KAFE verilen grup Mİ/R grubuyla karşılaştırıldığında MDA üretiminde anlamlı bir azalmaya yol açtı. Ayrıca Mİ/R grubunda azalan GSH içeriği KAFE verilmesi ile düzeltildi. Histopatolojik incelemede, Mİ/R grubundaki sıçanların kalplerinde ileri derecede morfolojik hasar saptanırken, Mİ/R+KAFE grubunda hasarın belirgin bir şekilde azaldığı gözlemlendi. Bu sonuçlar bize Mİ/R'in oksijen radikallerin artmış üretimi ya da antioksidanların yetersizliğinden kaynaklanan kalp hasarına neden olduğunu ve KAFE' nin radikal tutucu/süpürücü ve antioksidan etkisiyle kalbi koruduğunu göstermektedir.

Organizmanın bütün hücrelerinde bulunan ve hücrelerin protein yapısı dışındaki sülfidril grubu içeriğinin % 90 kadarını oluşturan GSH, zararlı bileşiklerin etkisiz hale getirilmesinde önemli rollere sahiptir. GSH radikal kaynaklı hasara karşı koyarken GPx gibi bir antioksidan enzim için de substrat olarak görev yapar ve bir radikal tutucusu gibi davranır. Özellikle peroksidaz ve redüktaz enzimlerinin aktiviteleri için son derece önemlidir. İ/R sonrası artan serbest radikaller lipid peroksidasyonuna neden olur. MDA gibi lipid peroksidasyonunun son ürünleri, Mİ/R sonrası gelişen ROS aracılı miyokard hasarının ölçülmesinde kullanılırlar.

Kalp dokusunu kurtarmak için gerekli olan reperfüzyon, içinde myokardiyal apoptoz ve nekrozun olduğu bir seri olayın başlamasına neden olur. KAFE, antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri ile kalbi apoptoza karşı koruyabilir. Çalışma ekibimizin yaptığı bir diğer çalışmada (44) KAFE' nin Mİ/R kaynaklı apoptoz üzerindeki etkilerini araştırıldı. Çalışmada, 10-12 haftalık erkek sıçanlar kullanıldı. Hayvanlar dört gruba ayrıldı: (I) Kontrol, (II) KAFE grubu (50 μ mol/kg); Mİ/R uygulanmadan sadece KAFE verilen grup, (III) Mİ/R grubu, (IV) Mİ/R+KAFE (50 μ mol/kg) ile tedavi edilen grup. Kalpte İ/R oluşturmak için, sol inen koroner arter bağlandı ve diğer çalışmalarımızda olduğu gibi kalp, 30 dk iskemi-120 dk reperfüzyona maruz bırakıldı. KAFE, aynı şekilde iskemiden 10 dk önce verilmeye başlandı ve iskemi boyunca uygulanmaya devam edildi. Histopatolojik incelemede apoptozu göstermek için TUNEL (DNA parçalarının serbest 3'OH kısmı biotin, digoxigenin ya da florescein gibi nükleotidler vasıtasıyla modifiye edilmiş enzimetik etiketler ile belirlenmesi) metodu (47) kullanıldı. Ayrıca biyokimyasal analizler ile

sonuçlarımız desteklenmeye çalışıldı. Kontrol grubu ve sadece KAFE verilen grupta kalp hücre nükleusları normal bulundu. Mİ/R grubunda, özellikle sol ventrikülün serbest duvarında, interventriküler septumda ve apekte TUNEL-pozitif kardiyomiyositler yaygın olarak görüldü. KAFE ile tedavi edilen grupta ise apoptotik kardiyomiyositlerin nadir olduğu gözlemlendi. TUNEL sonuçları kaspaz-3 ve kaspaz-9 immün boyalarıyla da doğrulandı. Biyokimya analiz sonuçlarımız kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Mİ/R grubunda, lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA seviyesinin ve NO üretiminin anlamlı bir şekilde arttığı görülürken; SOD ve KAT' aktivitelerinin azaldığı görüldü. Oysa KAFE ile tedavi edilen grupta enzim düzey değişiklikleri düzelmiş olarak bulundu. Sonuç olarak bu çalışmada da KAFE'nin, kalbi hem biyokimyasal hem de histopatolojik düzeyde Mİ/R'ın apoptotik etkilerinden korumak için güçlü bir serbest radikal tutucusu olduğunu gösterildi.

KAFE'nin Mİ/R'den kaynaklanan infarkt alanı üzerindeki tedavi edici etkisinin araştırıldığı diğer bir çalışmamızda ise (48), 14 erkek sıçan iki gruba ayrılarak ve yukarıdaki çalışmalarda uygulanan Mİ/R protokolleri aynen uygulanmıştır. Bir gruba iskemiden 10 dk önce KAFE verilmeye başlanarak ve iskemi boyunca da verilmeye devam edilmiştir. İnfarkt büyüklüğü ve risk zonu planimetrik yöntemlerle belirlenip kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, KAFE (50 µmol/kg) uygulanan grupta miyokardiyal infarkt alanı/risk zonu alanı oranının, istatistiksel anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada da, Mİ/R tarafından indüklenen miyokardiyal hasarın azaltılmasında KAFE'nin etkinliğini gösterilmiştir.

Sonuç olarak KAFE, Mİ/R aracılı oksidatif stresin tetiklediği hasar basamaklarını, nötrofiller, ksantin oksidaz ve lipooksijenaz ile etkileşime girerek koruyabilir/düzeltebilir. KAFE'nin Mİ/R hasarında klinik uygulanabilirliğini test etmek için mikro ve makro düzeyde daha detaylı ileri çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Kaynaklar

- McGovern PG, Pankow JS, Shahar E et al. Recent trials in acute coronary disease: mortality, morbidity, medical care and risk factors: the Minnesota Heart Survey Investigators. *N Engl J Med* 1996; 334: 884-90.
- Lefer DJ, Granger DN. Oxidative stress and cardiac disease. *Am J Med* 2000; 109: 315-23.
- Aksulu HE, Ercan ZS, Türker RK. Further studies on the antiarrhythmic effects of iloprost. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1985; 277: 223-34.
- Izumi T, Saito Y, Kishimoto I. Blockade of the natriuretic peptide receptor guanylyl cyclase-A inhibits NF-κB activation and alleviates myocardial ischemia/reperfusion injury. *J Clin Invest* 2001; 108: 203-13.
- Hilmi Ş. Oksidanlar ve antioksidanlar. *Türk Hastane Tıp Dergisi* 1994; 48 (1-2): 44-9.
- Ozyurt H, Irmak MK, Akyol O, Sogut S. Caffeic acid phenethyl ester changes the indices of oxidative stress in serum of rats with renal ischaemia-reperfusion injury. *Cell Biochem Funct* 2001; 19(4): 259-63.
- Ozer MK, Parlakpınar H, Acet A. Reduction of ischemia-reperfusion induced myocardial infarct size in rats by caffeic acid phenethyl ester (CAPE). *Clin Biochem* 2004; 37(8): 702-5.
- Brown R. Honey roydén brown's bee hive product bible. 2000; 123: 33.
- National Honey Board. Carbohydrates and the Sweetness of Honey. 2010.
- USDA Nutrient Data Laboratory "Honey". 2007. <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>
- Gheldof N, Wang X, Engeseth N. Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources. *J Agric Food Chem* 2002; 50 (21): 5870-7.
- Beretta G, Orioli M, Facino RM. Antioxidant and radical scavenging activity of honey in endothelial cell cultures. *Planta Med* 2007; 73(11): 1182-89.
- Ivanov DF, Tikonov AI, Krivenchuk PE, Liurskaia FV. Propolis and its clinical usage. *Oftolmol Zh* 1973; 28(2): 104-7.
- Krol W, Scheller S, Shani J, Pietsz G, Czubaz. Synergistic effect of ethanolic extract of propolis and antibiotics on the growth of *Staphylococcus aureus*. *Arzneimittelforschung* 1993; 43(5): 607-9.
- Bankova V, Dylgerov A, Popov S, et al. Propolis produced in Bulgaria and Mongolia: phenolic compounds and plant origin. *Apidologie* 1992; 23: 79-85.
- Persano Oddo L, Piro R. Main European unifloral honeys: Descriptive sheets. *Apidologie* 2004; 35: 38-81.
- Conti ME. Lazio region (Central Italy) honeys: a survey of mineral content and typical quality parameters. *Food Control* 2000; 11: 459-63.
- Iskander FY. Trace and minor elements in four commercial honey brands. *J Radioanalyt Nuclear Chem* 1995; 201: 401-8.
- Rodriguez-Otero JL, Paseiro P, Simal J, Cepeda A. Mineral content of the honeys produced in Galicia (North-west Spain). *Food Chem* 1994; 49: 169-71.
- Deutsche Gesellschaft für Ernährung. "Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr". Umschau/Brauns. Frankfurt am Main. 2000.
- Al-Mamary M, Al-Meer A, Al-Habori M. Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutr Res* 2002; 22: 1041-47.
- Yilmaz H, Yavuz O. Content of some trace metals in honey from South-Eastern Anatolia. *Food Chem* 1999; 65: 475-6.
- Koltuksuz U, Irmak MK, Karaman A, et al. Testicular nitric oxide levels after unilateral testicular torsion/detorsion in rats pretreated with caffeic acid phenethyl ester. *Urol Res* 2000; 28: 360-3.
- Irmak MK, Koltuksuz U, Kutlu NO, et al. The effects of caffeic acid phenethyl ester on ischemia-reperfusion injury in comparison with α-tocopherol in rat kidneys. *Urol Res* 2001; 29: 190-3.
- Hepşen IF, Tilgen F, Er H. Propolis: Tıbbi özellikleri ve oftalmolojik kullanımı. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi* 1996; 3: 386-91.

- 26.Grunberger D, Banerjee R, Eisinger K, Oltz EM, Efras L, Coldwell M. Preferential cytotoxicity on tumor cells by caffeic acid phenethyl ester isolated from propolis. *Experientia* 1988; 44: 230-2.
- 27.Sud'ina GF, Mirzoeva OK, Pushkareva MA, Korshunova GA, Sumbatyan NV, Varfolomeev SD. Caffeic acid phenethyl ester as a lipoxygenase inhibitor with antioxidant properties. *FEBS Lett* 1993; 329: 21-4.
- 28.Michaluart P, Masferrer JL, Carothers AM, et al. *Cancer Res* 1999; 59, 2347-52.
- 29.Kimura Y, Okuda H, Okuda T, Hatano T, Agata I, Arichi S. Studies on the activities of tannins and related compounds from medicinal plants and drugs. VII. Effects of extracts of leaves of *Artemisia* species, and caffeic acid and chlorogenic acid on lipid metabolic injury in rats fed peroxidized oil. *Chem Pharm Bull* 1985; 33: 2028-34.
- 30.Lee SK, Song L, Mata-Greenwood E, Kelloff GJ, Steele VE, Pezzuto JM. Modulation of in vitro biomarkers of the carcinogenic process by chemopreventive agents. *Anticancer Res* 1999; 19: 35-44.
- 31.Lang JD Jr, Figueroa M, Chumley P et al. Albumin and hydroxyethyl starch modulate oxidative inflammatory injury to vascular endothelium. *Anesthesiology* 2004; 100: 51-8.
- 32.Turkoz Y, Er H, Borazan M et al. Use of caffeic acid phenethyl ester and cortisone may prevent proliferative vitreoretinopathy. *Mediators of Inflammation*, 2004; 13(2): 127-30.
- 33.Parlakpınar H, Tasdemir S, Polat A, et al. Protective role of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on gentamicin-induced acute renal toxicity in rats. *Toxicology* 2005; 207 169-77.
- 34.Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. *Surg Clin North Am* 1992; 72: 65-83.
- 35.Xu KY, Zweier JL, Becker LC. Hydroxyl radical inhibits sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase function by direct attack on the ATP binding site. *Circ Res* 1997; 80: 76-81.
- 36.Bolli R. Oxygen-derived free radicals and myocardial reperfusion injury: an overview. *Cardiovasc Drugs Ther* 1991; 5: 249-68.
- 37.Wilhelm J. Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. *Acta Univ Carol Med Monogr* 1990; 137: 1-53.
- 38.Hopkins PN, Williams RR. A survey of 246 suggested coronary risk factors. *Atherosclerosis* 1981; 40: 1-52.
- 39.Entman ML, Smith CW. Postreperfusion inflammation: a model for reaction to injury in cardiovascular disease. *Cardiovasc Res* 1994; 28: 1301-11.
- 40.Kukielka GL, Hawkins HK, Michael L, et al. Regulation of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in ischemic and reperfused canine myocardium. *J Clin Invest* 1993; 92: 1504-16.
- 41.Reiter RJ, Tan DX. Melatonin: A novel protective agent against oxidative injury of the ischemic-reperfused heart. *Cardiovascular Research* 2003; 58: 10-9.
- 42.Gross GJ, Kersten JR, Warltier DC. Mechanisms of postischemic contractile dysfunction. *Ann Thorac Surg* 1999; 68: 1898-904.
- 43.Ozer MK, Parlakpınar H, Cigremis Y, Ucar M, Vardi N, Acet A. Ischemia reperfusion leads to depletion of glutathione content and augmentation of malondialdehyde production in the rat heart from overproduction of oxidants: can caffeic acid phenethyl ester (CAPE) protect the heart? *Mol Cel Biochem* 2005; 273: 169-75.
- 44.Parlakpınar H, Sahna E, Acet A, Mizrak B, Polat A. Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on myocardial ischemia-reperfusion-induced apoptotic cell death. *Toxicology* 2005; 209: 1-14.
- 45.Ozen S, Akyol O, Iraz M, et al. Role of caffeic acid phenethyl ester, an active component of propolis, against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *J Appl Toxicol* 2004; 24: 27-35.
- 46.Krol W, Scheller S, Czuba Z et al. Inhibition of neutrophils' chemiluminescence by ethanol extract of propolis (EEP) and its phenolic components. *Ethnopharmacol* 1996; 55: 19-25.
- 47.Jin WP, Quan XQ, Meng FP, Cui XD, Piao HJ. Relationship among hepatocyte apoptosis, P450 2E1 and oxidative stress in alcoholic liver disease of rats. *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue* 2007; 19(7): 419- 21.
- 48.Ozer MK, Parlakpınar H, Acet A. Reduction of ischemia-reperfusion induced myocardial infarct size in rats by caffeic acid phenethyl ester (CAPE). *Clin Biochem* 2004; 37(8): 702-5.

Yazar Katkıları

1. *Dr.Hakan PARLAKPINAR*: Çalışma koordinatörü, tasarımı, veri toplama/okuma-ayrıştırma, çalışmanın yazım ve kontrolü.
2. *Mehmet Hamdi ÖRÜM*: Veri toplama/okuma, çalışmanın yazımı ve redaksiyonu.
3. *Dr.Ahmet ACET*: Çalışma tasarımı, veri toplama/okuma, çalışmanın kontrolü ve düzenlenmesi.

İletişim Yazarı

Doç. Dr. Hakan PARLAKPINAR
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji
AD, MALATYA
e-posta:hakan.parlakpınar@inonu.edu.tr