T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

RATLARDA ORMAN GÜLÜ BALININ BAZI BİYOKİMYASAL VE HİSTOPATOLOJİK PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİSİ

Hazırlayan
Zeliha DOĞAN

Danışman
Prof. Dr. Sibel SİLİCİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Kasım 2013
KAYSERİ

T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

RATLARDA ORMAN GÜLÜ BALININ BAZI BİYOKİMYASAL VE HİSTOPATOLOJİK PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİSİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Hazırlayan
Zeliha DOĞAN

Danışman
Prof. Dr. Sibel SİLİCİ

Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından FBY- 11-3774 kodlu proje ile desteklenmiştir.

Kasım 2013
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı: Zeliha DOĞAN

İmza : 

YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI

"Ratlarda Orman Gülü Balının Bazı Biyokimyasal ve Histopatolojik Parametreler Üzerine Etkisi" adlı Yüksek Lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Zeliha DOĞAN

Danışman

Prof. Dr. Sibel SİLİCİ

Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Nusret AYYILDIZ

Prof. Dr. Sibel SİLİCİ ve Yrd. Doç. Dr. Kahraman GÜRCAN danışmanlığında **Zeliha DOĞAN** tarafından hazırlanan **"Ratlarda Orman Gülü Balının Bazı Biyokimyasal ve Histopatolojik Parametreler Üzerine Etkisi"** adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

25/11/2013

JÜRİ:

Danışman: Prof. Dr. Sibel SİLİCİ

Üye: Doç. Dr. Cem VURAL

Üye: Doç. Dr. Murat KANBUR

ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulunun 31/12/2013 tarih ve 2013/56-02 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Kâzım KEŞLİOĞLU

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince bana yol gösteren, bilgisini ve desteğini esirgemeyen, tecrübesiyle bana yardım eden değerli hocam Prof. Dr. Sibel Silici'ye sonsuz teşekkürler.

Tez çalışmalarımda bana yardımcı olan ikinci tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Kahraman GÜRCAN' a, değerli hocam Prof. Dr. Ahmet AKSOY'a, deneysel çalışmalarımda bana yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Duran ÖZKÖK ve Arş. Gör. Kevser KARAMAN'a;

Bu araştırmayı maddi olarak destekleyen Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (FBY-11-3774);

Palinolojik çalışmalarımda destek veren Erciyes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji öğrencileri Naciye KÜTÜK, Emine ÖZKUTAY ve Burcu Gül YILMAZ'a;

Çalışmam boyunca bana maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme sonsuz teşekkür ederim.

Zeliha DOĞAN

Kayseri, 2013

RATLARDA ORMAN GÜLÜ BALININ BAZI BİYOKİMYASAL VE HİSTOPATOLOJİK PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİSİ

Zeliha DOĞAN

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Yüksek Lisans Tezi, Kasım 2013

Danışman: Prof. Dr. Sibel SİLİCİ

ÖZET

Bu çalışmada, ülkemizde halk arasında "deli bal" olarak bilinen orman gülü balının *Wistar albino* ratlar üzerindeki biyokimyasal ve histopatolojik parametreler üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmada Karadeniz Bölgesinden toplanan balların melissopalinolojik analizleri yapılarak orman gülü balları belirlenmiş, en yüksek miktarda Rhododendron poleni içeren bal deneysel çalışmalarda kullanılmıştır. Toksisite çalışmasında her grupta 12 *Wistar albino* rat bulunan 5 grup oluşturulmuştur. Birinci gruba (kontrol grubu) izotonik sodyum klorür çözeltisi (SF); ikinci gruba 0.015 mg/kg grayanotoksin III; üçüncü, dördüncü ve beşinci gruplara sırasıyla 0.15 g/kg, 0.5 g/kg ve 2.5 g/kg orman gülü balı tek doz olarak verilmiştir. Uygulamadan 1 saat sonra kan ve doku örnekleri alınmıştır. Çalışmada kontrol grubuna göre diğer tüm gruplarda total bilirubin düzeyinde artma, kreatin seviyesinde azalma; BUN seviyelerinde 2 ve 5. grup artış ile grup 3 ve 4'te azalma; LDH'ta grup 2, 4 ve 5'te artma, grup 3'te azalma; glukozda grup 2 ve 5'te artma, grup 3 ve 4'te azalma olduğu belirlenmiştir. Dokuların histopatolojik incelemesinde böbrek tubuluslarında genişleme ve hücre kaybı olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak orman gülü balının doza bağlı olarak hafif şiddette nefrotoksik etkili olduğu, hepatotoksik etkilere yol açmadığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Orman gülü balı, Grayanotoksin, Polen, Biyokimyasal parametre, Histopatolojik parametre.

RHODODENDRON HONEY INTOXICATION IS EFFECT ABOUT SOME BIOCHEMICAL AND HISTOPATHOLOGY PARAMETERS IN RATS

Zeliha DOĞAN

Erciyes University, Graduate School of Naturel and Applied Sciences

M.Sc. Thesis, November 2013

Supervisor: Association Prof. Dr. Sibel SİLİCİ

SUMMARY

In this study, "mad honey" known as the rhododendrons honey among the people of our country was researched effects of biochemical and histopathological parameters on Wistar albino rats. rhododendrons honey was deterrmined with melissypalynology analyzed of honey collected from the Black Sea Region of Turkey and honey containing rhododendron polen in highest amount was used in experimental studies. In toxicity study, 5 groups with 12 Wistar albino rats in each group was formed. while the first group (control group)was given isotonic sodium chloride and the second group was given 0.15 mg/kg grayanotoxin III, the third group, fourth group and fifth group was rispectively given as single dose 0.15 g/kg, 0.5 g/kg ve 2.5 g/kg rhododendron honey. The blood and tissue samples were taken later one hour from appliying these materials on rats. In this study, an increase in all other groups according to the control group in the level of total biluribin have been observed, but a decreased level of creatinine have been observed. BUN levels have shown that an increase in the second group and fifth group, but these levels heve shown a decrease in the third group and fourth group. LDH level has increase in the second, fourth and fifth groups, but has decrease in the third group. The glucose has increase in the second and fifth groups, however it has decrease in the third and fourth groups. In histopathological examination of tissues, that the renal tubules expands and cell loss have been determined.

As a result, the fact that rhododendron honey is mild severity as dose-dependent and can not lead to hepatotoxic effects was determined.

Keywords: Rhododendron honey, Grayanotoxin, Pollen, Biochemical parameter, Histopathological parameter.

İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK i

YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI ii

ONAY: iii

TEŞEKKÜR iv

ÖZET v

SUMMARY vi

İÇİNDEKİLER vii

KISALTMALAR ve SİMGE DİZİNİ ix

TABLOLAR LİSTESİ x

ŞEKİLLER LİSTESİ xi

GİRİŞ 1

1. GENEL BİLGİLER 3

1.1. Orman Gülü Balının Tarihçesi 3

1.2. Ericaceae Familyası 4

1.2.1. Ülkemizde Doğal Olarak Yayılış Gösteren Rhododendron Türleri 5

1.2.1.1. *Rhododendron smirnovii* (Pembe Çiçekli Orman gülü) 5

1.2.1.2. *Rhododendron caucasicum* (Kafkas Orman gülü) 6

1.2.1.3. *Rhododendron ungernii* (Beyaz Çiçekli Orman gülü) 7

1.2.1.4. *Rhododendron ponticum* (Mor Çiçekli Orman gülü) 8

1.2.1.5. *Rhododendron luteum* (Sarı Çiçekli Orman gülü) 9

1.2.3. Ericaceae Familyasının Kimyasal Yapısı 10

1.2.4. *Rhododendron'*da Bulunan Temel Flavanoidler 12

1.2.5. *Rhododendron'*da Bulunan Fitokimyasallar 13

1.2.6. *Rhododendron* Poleni 15

1.3. Bal 18

1.3.6.1. Balın Fiziksel ve Kimyasal Yapısı 18

1.3.6.2. Orman Gülü Balının Kimyasal Yapısı 20

1.3.6.3. Balın Biyolojik Özellikleri 21

1.3.6.4. Orman Gülü Balı Zehirlenmesi 21

1.4. Literatür 23

1.4.1. Yurtdışı Araştırmaları 23

1.4.2. Orman Gülü Balı Üzerine Yurt İçinde Yapılan Araştırmalar 25

2. MATERYAL ve YÖNTEM 34

2.1. Bal Örneklerinin Toplanması 34

2.1.1. Bal Örneklerinin Preparatlarının Hazırlanması 34

2.1.3. Safraninli Gliserin Jelatin Hazırlanması 35

2.1.4. *Rhododendron* Polenlerinin Işık Mikroskobu ile Görüntülenmesi Yöntemi . 35

2.1.5. *Rhododendron* Polenlerinin Taramalı Elektron Mikroskobu ile Görüntülenmesi Yöntemi 36

2.2. Ratlarda Toksisite Çalışmaları 37

2.2.1. Ratlarda Orman Gülü Balı ve GTX Uygulaması 37

3. BULGULAR 40

3.1. Melissopalinolojik Bulgular 40

3.2.Ratlarda Biyokimyasal Bulgular 41

3.3. Ratlardaki Histopatolojik Bulgular 43

4. TARTIŞMA-SONUÇ 46

KAYNAKÇA 51

ÖZGEÇMİŞ 63

KISALTMALAR ve SİMGE DİZİNİ

Bu tez çalışmasında kullanılan kısaltmalar ve simgeler açıklamaları ile aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	**Açıklama**	**Simge**	**Açıklama**
R	*Rhododendron*	µg	mikrogram
M.Ö.	milattan önce	mg	miligram
GTX	grayanotoksin	Na	sodyum
spp.	türler	P	fosfor
cm	santimetre	Ca	kalsiyum
m	metre	Cl	klor
kg	kilogram	K	potasyum
g	gram	Zn	çinko
ml	mililitre	Cu	bakır
rhodos	gül	Fe	demir
dendron	ağaç	Mn	mangan
vb	ve benzeri	Cr	krom
GC	gaz kromatografi	Se	selenyum
TLC	ince tabaka kromatografi	He	helyum
Al	aliminyum	Co	kobalt
Ar	arsenik	F	flor
B	bor	I	iyot
Br	brom	Li	lityum
Ba	baryum	Mo	molibden
Cd	kadmiyum	S	sülfür
Rb	rubidyum	V	vanadyum
Si	silisyum	nm	nanometre
Sr	strontiyum		

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1.1. Bazı *Rhododendron* türlerinin tıbbi kullanımı 12
Table 1.2. *Rhododendron* türlerinden izole edilen kimyasal bileşenler..... 14
Table 1.3. *Rhododendron ponticum'*da bulunan fitokimyasalların biyolojik aktivitesi 15
Tablo 1.4. Balın temel besin elementleri..... 19
Tablo 1.5. Balda bulunan eser elementler 20
Tablo 1.6. Orman gülü balından zehirlenen 23 hastada gözlenen belirtiler 22
Tablo 2.1. Orman gülü bal örneklerinin toplandığı yöreler..... 34
Tablo 3.1. Karadeniz Bölgesinin bazı bölgelerinden toplanan orman gülü ve multifloral ballarının polen analiz sonucu. 40
Tablo 3.2. Kontrol ve deney gruplarındaki glukoz, trigliserit, kolesterol ve total protein seviyeleri. 41
Tablo 3.3. Kontrol ve deney gruplarındaki ürik asit, AST, ALT, ALP ve LDH seviyeleri. 41
Tablo 3.4. Kontrol ve deney gruplarındaki Ca, Na, P ve Cl sevileri..... 42
Tablo 3.5. Kontrol ve deney gruplarındaki Mg, K, BUN, Kreatin ve Total bilirubin..... 42
Tablo 3.6. Kontrol ve deney gruplarındaki HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, CPK ve Pseudokolinesteraz sevileri. 43

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Ericaceae familyasının dünyadaki yayılışı 4
Şekil 1.2. *Rhododendron smirnovii* çiçeği ve yaprağı 6
Şekil 1.3. *Rhododendron smirnovii'*nin ülkemizdeki yayılış alanı 6
Şekil 1.4. *Rhododendron caucasicum* yaprak ve çiçeği 7
Şekil 1.5. *Rhododendron caucasicum'*nun ülkemizdeki yayılış alanı 7
Şekil 1.6. *Rhododendron ungernii* yaprak ve çiçeği 8
Şekil 1.7. *Rhododendron ungernii*'in ülkemizdeki yayılış alanı 8
Şekil 1.8. *Rhododendron ponticum* yaprak ve çiçeği 9
Şekil 1.9. *Rhododendron ponticum*'un ülkemizdeki yayılış alanı 9
Şekil 1.10. *Rhododendron luteum* yaprak ve çiçeği 10
Şekil 1.11. *Rhododendron luteum*'un ülkemizdeki yayılış alanı 10
Şekil 1.12. Grayanotoksin I: Asetilandromedol Grayanotoksin II: Andromedenol Grayanotoksin III: Andromedol 11
Şekil 1.13. *Rhododendron ponticum* poleni ışık mikroskobu görüntüsü (40x10)... 17
Şekil 1.14. *Rhododendron ponticum* SEM görüntüsü (20 μm) 17
Şekil 1.15. *Rhododendron luteum* poleni ışık mikroskobu görüntüsü (40x10)..... 17
Şekil 1.16. *Rhododendron luteum* SEM görüntüsü (20 μm). 17
Şekil 2.1. *Rhododendron* poleninin ışık mikroskopi görüntüsü (10 µm)..... 36
Şekil 2.2. *Rhododendron* poleninin Taramalı Elektron Mikroskobu görüntüsü ... 36
Şekil 2.3. *Wistar albino* ratlara bal verilmesi (gavaj) 37
Şekil 2.4. *Wistar albino* ratlara anestezi uygulaması 38
Şekil 2.5. Hayvanın kalbinden kan örneğinin alınması 38
Şekil 2.6. Hayvanın dokularının alınışı 39
Şekil 3.1. X40 a4 pas1 44
Şekil 3.2. X40 b7 pas1 44
Şekil 3.3. X40 c2 pas1 45
Şekil 3.4. X40 gtx2 pas1 45

GİRİŞ

Bal, bal arısı (*Apis mellifera* L.) tarafından bitki nektarlarının, bitkilerin canlı kısımlarının salgılarının veya bitkilerin canlı kısımları üzerinde yaşayan bitki emici böceklerin salgılarının bal arısı tarafından toplandıktan sonra kendine özgü maddelerle birleştirerek değişikliğe uğrattığı, su içeriğini düşürdüğü ve petekte depolayarak olgunlaştırdığı doğal bir maddedir [1]. Genel olarak sarı ve sarının tonlarında olan bal, sudan daha yoğun kıvamdadır; güçlü bir hidrostatik karaktere sahiptir; viskozitesi nispeten düşüktür [2]. Balın temel kimyasal bileşeni, balın % 82'sini oluşturan karbonhidratlardır. Ayrıca invertaz, glukoz oksidaz ve katalaz gibi enzim içerikli proteinler ile 18 serbest amino asit içermektedir; ki bu amino asitlerden de en çok bulunanı prolindir [2,3]. Balda eser miktarda riboflavin (B_2), niyasin (B_3), folik asit, pantotenik asit (B_5) ve pirodoksin (B_6) B vitamini komplekslerine ilaveten askorbik asit, kalsiyum, demir, çinko, potasyum, fosfor, magnezyum, selenyum ve mangan gibi mineraller de bulunmaktadır. Balın temel antioksidantı ise flavonoidlerdir [2,3].

Bal, birçok kültürde çok eski zamanlardan beri koruma ve tedavi etme amaçlı olarak kullanılmıştır [3]. Eski Yunanistan'ta önemli kişilere ait cesetlerin mumyalanmasında kullanılırken, eski Romalılar ve Yunanlılar gıda maddelerinin (özellikle de etin) korunmasında baldan faydalanmışlardır [4,5,6,7]. Bununla birlikte bal, uzun zamandan beri halk arasında antibakteriyel özelliği bilinmeden geleneksel bir ilaç olarak kullanılmış olup günümüzde balın farmakolojik özelliklerinin araştırılmasıyla birlikte tıp alanında antibakteriyel bir madde olarak kabul görmüştür [8,9,10]. İçerdiği yüksek karbonhidrat nedeniyle enerji verici olan bal, içerdiği protein, mineral ve vitaminlerden dolayı da faydalı bir besin kaynağı, mide ağrısı, bağırsak bozuklukları ve hipertansiyon gibi hastalıklarda alternatif tedavi edici, cinsel gücü artırıcı ve immün sistemini destekleyici, idrar söktürücü ve ağrı kesici etkisi, hafızayı güçlendirici özellikleri vardır [3,11,12,13].

Orman gülü balının "Mad honey" botanik orijini Ericaceae familyasıdır. Yüksek oranda grayanotoksin içeren Ericaceae familyasının Rhododendron L. cinsine ait türlerin nektarlarının (*R. ponticum, R. luteum, R. urgernii, R. caucasicum, R. smirnowii*) bal arıları tarafından toplanması, dehidre edilip olgunlaştırılması sonucu oluşturulan bir baldır [7,8,14]. Ericaceae familyası fundagiller olarak bilinir. Familya, 128 cins ve yaklaşık 4000 tür ile temsil edilmektedir. Yaşam alanları deniz seviyesinden başlayarak 4000 m yüksekliğe kadar çıkmaktadır [15,16,17]. Bu familyada bulunan *Rhododendron* L. türlerinin yapraklarında, çiçeklerinde, nektarlarında, genç sürgünlerinde ve polenlerinde yüksek miktarda grayanotoksinler bulunmaktadır [18,19].

Orman gülü balı 30 gram (bir tatlı kaşığından fazla) üzerinde tüketildiğinde zehirlenmeye neden olmaktadır [11,20]. Balı fazla tüketen kişilerde ciltte ve boğazda yanma hissi, deride ve gözlerde kızarıklık, bulantı, kusma, salivasyon, halsizlik, görme bulanıklığı görüldüğü bildirilmektedir [21,22]. Bal zehirlenmesinde dolaşım, solunum, sindirim ve sinir sistemi en çok etkilenen bölgelerdir [23,24]. Düşük dozlarda kalpte bradikardi ve hipotansiyona, yüksek dozlar da ise taşikardi ve hipertansiyon (sürrenal medulladan epinefrin salgılanmasına neden olduğundan dolayı) oluşumuna neden olduğu belirtilmiştir [25,26,27]. Balın sebep olduğu hipotansiyonun tedavisinde intravenöz sıvı tedavisi, bradikardinin tedavisinde de atropin tedavisi uygulanmakta ve sonuç alınmaktadır [28].

Bununla birlikte orman gülü balı alternatif tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Balın mide ağrısı, bağırsak bozuklukları ve hipertansiyonda alternatif tedavi edici, cinsel gücü artırıcı ve immün sistemini destekleyici, idrar söktürücü ve ağrı kesici etkisi, hafızayı güçlendirici ve enerji verici özellikleri vardır [3]. Mineral içeriği bakımından zengindir [3,29].

Sonuç olarak bu araştırmada tüketicilere önerilmesinde kolaylık sağlanması açısından bir tatlı kaşığı, bir yemek kaşığı ve daha yüksek dozda olmak üzere orman gülü balı ile saf toksinin (GTX) ballarda tespit edilen ortalama miktarı baz alınarak ratlarda çok sayıda biyokimyasal parametre üzerine etkisi incelenmiş, histopatolojik bulgular değerlendirilmiştir.

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Orman Gülü Balının Tarihçesi

Orman gülü balı, kaynaklara göre bilinen ilk biyolojik silah olarak tarihe geçmiştir [9,13]. Tarihi kaynaklarda anlatılan hadise, bugün toksikasyon vakalarında karşılaşılan ve bilimsel gelişmelerle temellendirilebilen semptomlarla bire bir uyuşması bakımından önemlidir. Romalı askerlerin Perslerden kaçarken Doğu Karadeniz bölgesinde rastlayıp yediği bal, anlatıcının diliyle şöyle belirtilmiş: " Az yiyenler sarhoş gibiydiler, mideleri bulandı, sersemleştiler. Çok yiyenler ise birer çılgın gibiydiler. Bir güne kalmadan bir kısmı uyanamadı, uyananlar ise hiçbir iz taşımadan ayağa kalktılar. Yine de bu bizim bozguna uğramış görüntümüzü değiştiremedi" [9,13,22,30]. Zehirli balın, halk arasındaki kullanımıyla ilgili ilk yazılı belge M.Ö. 401 yılında Yunanlı tarihçi ve General Xenephon tarafından yayınlanmıştır [9]. Xenephon Anabasis adlı eserinde, Türkiye'nin Doğu Karadeniz Bölgesinde konakladıkları yerde, deli bal yiyen askerlerin zehirlendiğini rapor etmiş ancak tüm askerlerinin kurtulduğu bildirilmiştir [10,11,12].

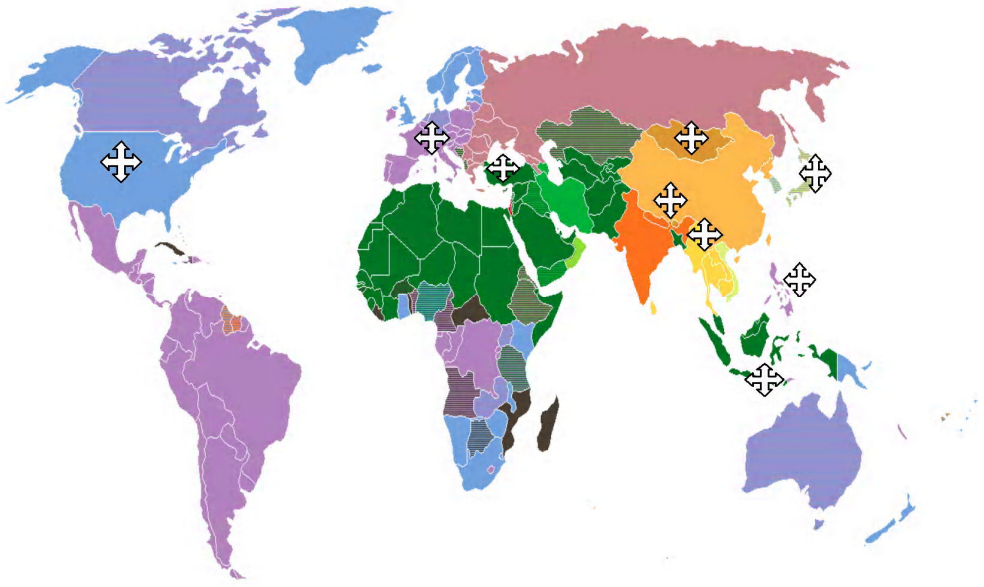
Bu olaydan 400 yıl sonra milattan önce 67 yılında, Kral Mithradates IV tarafından, Kuzeydoğu Anadolu'da Roma'lı General Pompey'in askerleri grayanotoksinle kontamine olmuş balla kasten zehirlenmiştir ve 3 Romalı tabur (1440 asker) düşman birlikleri tarafından bu durumlarından yararlanılarak katledilmiştir [31,32,33,34,35].On dokuzuncu yüzyılda Avrupa ve Kuzey Amerika'da karşılaşılan deli bal zehirlenme olguları kayıt altına alınmıştır. 1896'da Kebler ABD'deki zehirlenme olaylarını yayımlamıştır. Bu yayında, Princeton ve New Jersey'de görülen sekiz adet zehirlenme olgusu tanımlanmıştır. Kebler kendi olgularının yanı sıra daha önce yapılmış diğer çalışmalara da makalesinde yer vermiştir. Kebler'e göre, Barton, deli bal zehirlenmesinin etkilerini rapor eden ilk araştırmacıdır [7]. Colema ise, 1853'deki çalışmasında New Jersey'den 14, Branchville'den 23 hasta ile çalışmıştır. Ek olarak 1891 yılında Plugge, Ericaceae familyasından birçok bitki üzerinde çalışmalar yapmış ve bunlardan andromedotoksini izole etmiştir. İlerleyen yıllarda andromedotoksin ve

grayanotoksin aynı anlamda kullanılmaya başlanmıştır. British Medical Journal'ın 1999 yılında yeniden basılan 1899 makalesi de, tipik deli bal zehirlenme vakası üzerinedir [7,8].

Ülkemiz de ise birçok araştırmacı orman gülü balı üzerine araştırmalar yapmıştır. İlk araştırmalar 1938'de Bucak ve 1941'de Ungan tarafından yapılmıştır. Her iki araştırmacı da balları mikroskobik olarak incelemiş ve Rhododendron polenlerini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar ballarda renk ayıracı olarak kullanılan andromedotoksini belirlemişlerdir. 1949'da Pulewka laboratuar hayvanları üzerinde toksik balın etkilerini gözlemlemiş ve biyolojik araştırmalar yapmış, *R. luteum* ve *R. ponticum* ballarını diğer çiçek ballarıyla kıyaslamıştır [36].

1.2. Ericaceae Familyası

Fundagiller ailesi (Ericaceae) kuzey ve güney yarımkürenin ılıman bölgelerinde yayılmış yaklaşık 128 cins ile temsil edilmektedir. Çalı veya ağaç şeklinde, nadir olarak otsu bitkilerden oluşur. Ormangülleri Çin, Tibet, Burma, Nepal, Yeni Gine, Tropik Asya, Avrupa ve Kuzey Amerika'da yayılış gösterir ve 4000 türe sahiptir. Yaşam alanları deniz seviyesinden başlayarak 4000 m yüksekliğe kadar çıkmaktadır [8,14]. Türleri 20 cm ile 30 m arasında değişen çalı ve ağaç formlardan oluşmaktadır. Orman gülleri nem oranı yüksek, organik madde bakımından zengin, derin ve iyi drenaja sahip asidik topraklarda iyi gelişim göstermektedir [16,17,18,19].



Şekil1.1. Ericaceae familyasının dünyadaki yayılışı [8]

Orman gülü, Fundagiller (Ericaceae) familyasından *Rhododendron spp.* cinsinin 800 kadar türünü içeren çiçekli bitkilerin ortak adıdır. Çok değişik çiçek ve yaprak yapılarına sahip olan ormangülleri herdem yeşil olabildikleri gibi yaprak da dökebilirler. Yapraklar spiral konumlu, herdem yeşil veya yaprak döken bitkilerdir. Yapraklar bütün veya dişlidir. Korolla kampanulat ve bazen zigomorfiktir. Ovaryum 6-8 (5-9) lokular; stigma kapitat; meyve septisidal kapsül; tohumlar kanatlıdır. Rhododendron ismi Yunancadan türemiştir. Rhodos (gül), dendron (ağaç) anlamındadır [15].

Ülkemizde ise deniz seviyesinde 3200 m yüksekliğe kadar yayılış gösteren *R. ponticum, R. luteum, R. ungernii, R. smirnovii* ve *R. caucasicum* olmak üzere 5 türü ve bunlara bağlı 12 taksonu bulunmaktadır. Orman gülleri Batı Karadeniz'den Doğu Karadeniz'e kadar sahil ormanları veya orman arasındaki açıklıklarda geniş bir yayılışa sahiptir [15,37].

1.2.1. Ülkemizde Doğal Olarak Yayılış Gösteren Rhododendron Türleri

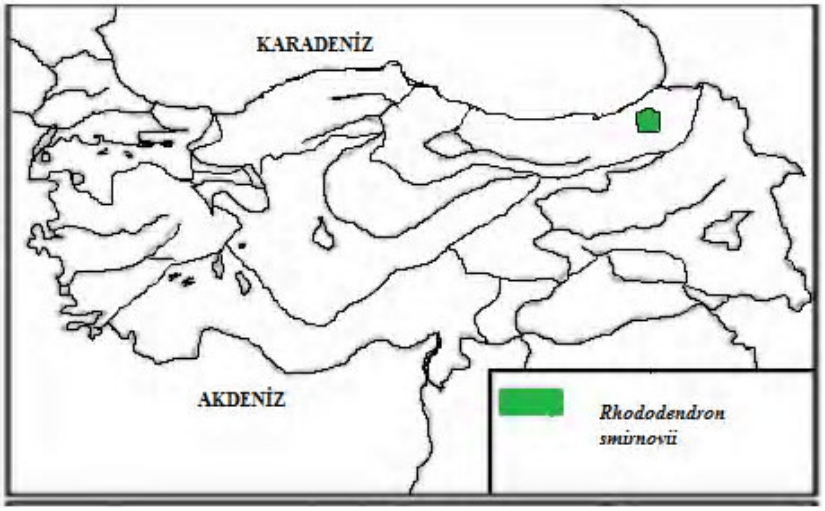
Orman gülleri batıdan doğuya doğru artan bir yoğunlukla, Karadeniz sahilindeki ormanlarda ya da ormanlar arasındaki açıklıklarda yetişmektedir. Orman güllerinin yatay yöndeki dağılış alanları dışında, dikey yöndeki dağılış alanları da son derece geniştir. Orman gülleri deniz seviyesine yakın alanlarda yayılış gösterebildikleri gibi, deniz seviyesinden 5000 metrelik yüksekliklere kadar erişebilmektedir [15].

1.2.1.1. *Rhododendron smirnovii* (Pembe Çiçekli Orman gülü)

Pembe çiçekli orman gülü, yapraklarını dökmeyen her dem yeşil, 4 metreye kadar boylanabilen aromatik çalılar görünümündedir. 850-2300 m arasındaki yüksekliklerde, asidik ya da bazik zemin üzerinde, ladin altında, kimi zaman diğer orman gülleri ile birlikte yayılış göstermektedir. Haziran-Temmuz aylarında açan çiçekleri pembe renkli, yapraklar ters yumurtamsı, yaprak sapı 0.8- 2.5 cm uzunluktadır. *R. smirnovii* dünyada sadece ülkemizin Artvin ve Rize illerinde yayılış gösteren, endemik bir türdür [15].



Şekil 1.2. *Rhododendron smirnovii* çiçeği ve yaprağı [38]



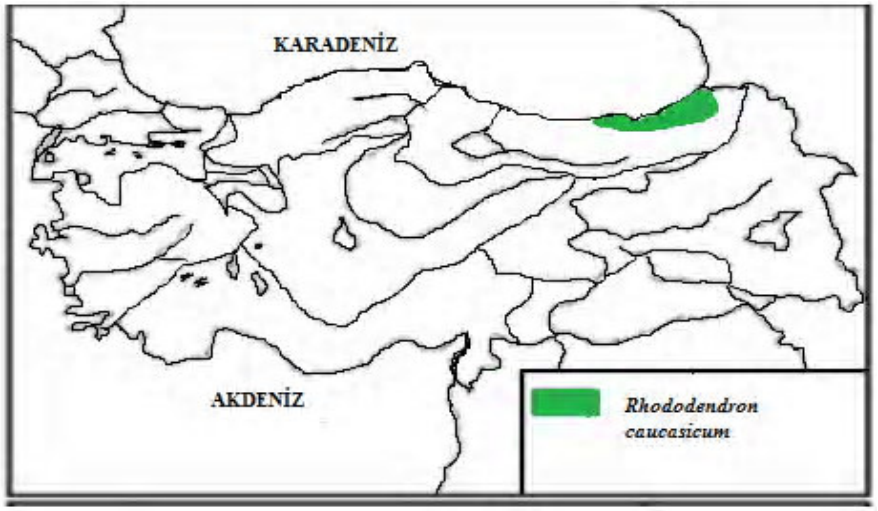
Şekil 1.3. *Rhododendron smirnovii'*nin ülkemizdeki yayılış alanı [38]

1.2.1.2. *Rhododendron caucasicum* (Kafkas Orman gülü)

Kafkas orman gülü yaprak dökmeyen her dem yeşil 1 m boyunda aromatik çalılar şeklindedir. Kuzey bakılı yamaçlarda ağaç yetişme sınırının üzerindeki 1830- 3000 metreler arasındaki asitli topraklarda yetişir. Mayıs-Temmuz aylarında açan çiçekleri parlak krem renkli, yapraklar yumurtamsı, yaprak sapı 1 cm uzunluktadır. Ülkemizde Trabzon, Rize, Artvin ve Kars illerinde yayılış göstermektedir [15].



Şekil 1.4. *Rhododendron caucasicum* yaprak ve çiçeği[39]



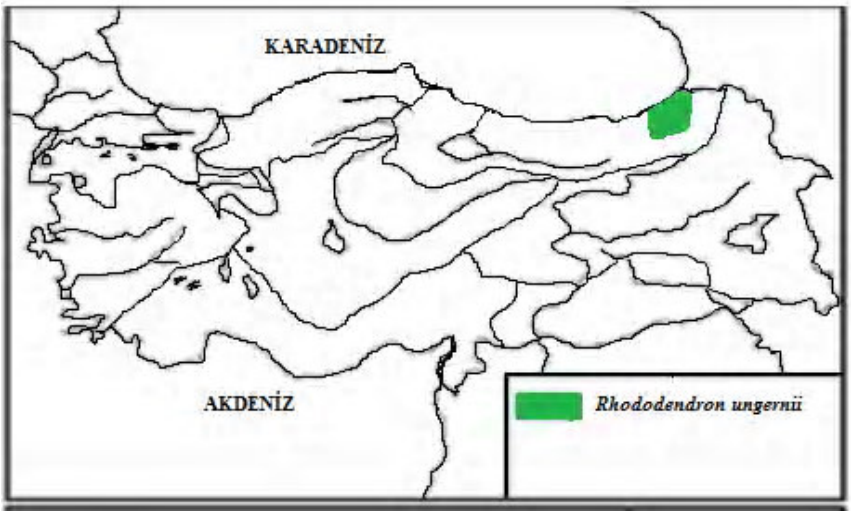
Şekil 1.5. *Rhododendron caucasicum'*nun ülkemizdeki yayılış alanı [39]

1.2.1.3. *Rhododendron ungernii* (Beyaz Çiçekli Orman gülü)

Beyaz çiçekli orman gülü yaprak dökmeyen her dem yeşil 7 metreye kadar boylanabilen çalı ya da ağaçlar şeklindedir. 850-2200 m arasındaki yüksekliklerde bulunan ladin ve kayın ormanı altında yetişmektedir. Haziran- Ağustos aylarında açan çiçekler, beyazdan koyu damarlı parlak gül rengine kadar değişmektedir. Yapraklar ters yumurtamsı yaprak sapı 1-1.5 cm uzunluktadır. Ülkemizde Artvin ve Rize illerinde doğal yayılışa sahiptir [15].



Şekil 1.6. *Rhododendron ungernii* yaprak ve çiçeği [40]



Şekil 1.7. *Rhododendron ungernii*'in ülkemizdeki yayılış alanı [40]

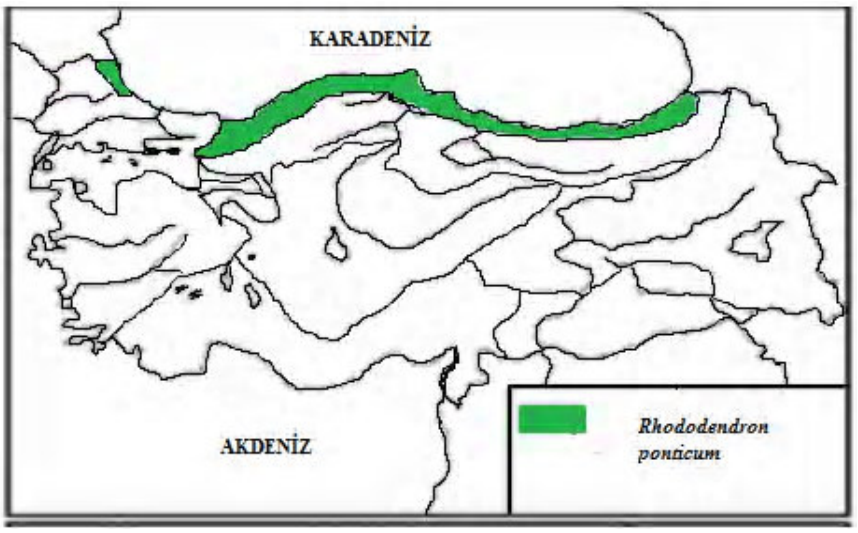
1.2.1.4. *Rhododendron ponticum* (Mor Çiçekli Orman gülü)

Baharda açan ve uzun süre bu çiçekli durumunu koruyan, Karadeniz Bölgesindeki adıyla "kumar/kara kumar/ağu", iyi yetişme ortamlarında 8-10 metreye kadar ulaşabilen bir çalı ya da küçük bir ağaç türü olarak tanımlanır [35]. Habitatı kayın ormanları ve ağaç sınırının altına kadarki alanlarda yayılış göstermektedir. Mart-Mayıs aylarında açan çiçekleri, morumsu pembe, bol nektarlı, nektar, yaprak ve polenler toksin içermektedir. Yapraklar, elips ve ters yumurtamsı, yaprak sapı 1-1.5 cm arasındadır. Ülkemizde, Kırklareli, Kocaeli, Sakarya, Kastamonu, Zonguldak, Ordu, Giresun, Rize

ve Artvin illerinde deniz seviyesinden 2100 metreye kadar olan yükseklikllerde doğal yayılış göstermektedir [15].



Şekil 1.8. *Rhododendron ponticum* yaprak ve çiçeği [41]



Şekil 1.9. *Rhododendron ponticum*'un ülkemizdeki yayılış alanı [41]

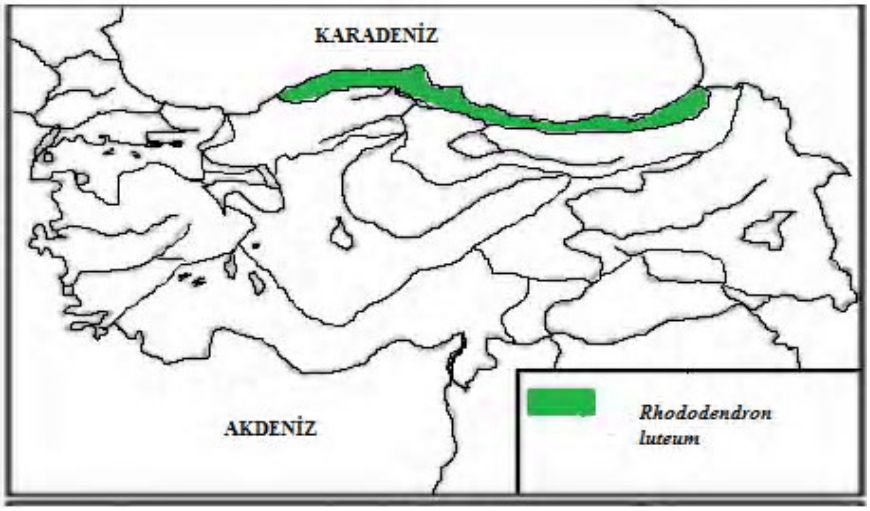
1.2.1.5. *Rhododendron luteum* (Sarı Çiçekli Orman gülü)

Bu bitki halk arasında "zifin, çifin, eğriçiçeği, sarı ağu" olarak adlandırılmaktadır [35]. Sarı çiçekli orman gülü, yaprak döken, 4 metreye kadar boylanabilen çalı şeklindeki bir bitkidir. İbreli, yaprak döken ormanlar ile eğimli çayırlık alanlarda yetişmektedir. Yapraklar, yumurta ya da ters kılıç şeklinde, Eylül-Ekim ayları arasında açılan çiçekler bol nektarlı ve sarı renklidir. Yapraklar, nektar ve polenleri toksin içermektedir. Ülkemizde Çanakkale, Kastamonu, Sinop, Amasya, Samsun, Trabzon, Rize ve Balıkesir

illerinde deniz seviyesinden 2200 metreye kadar olan yükseklikler de doğal yayılış göstermektedir [15].



Şekil 1.10. *Rhododendron luteum* yaprak ve çiçeği[42]



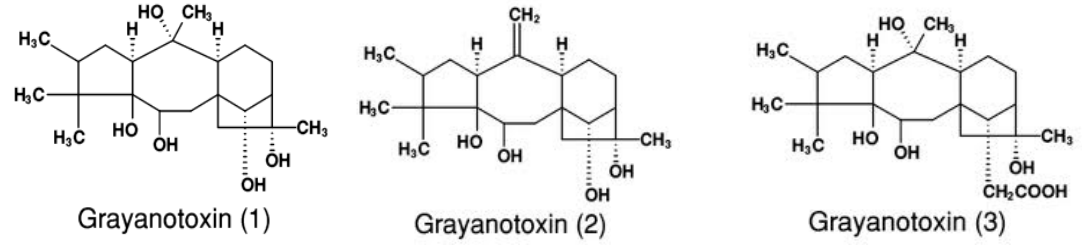
Şekil 1.11. *Rhododendron luteum*'un ülkemizdeki yayılış alanı [42]

1.2.3. Ericaceae Familyasının Kimyasal Yapısı

Ericaceae familyasının çeşitli türlerinden izole edilen asetilandromedol (andromedotoksin)'in bazı araştırıcılar tarafından zehirli balda da saptanması Ericaceae familyası bitkileri ile zehirli bal arasındaki ilişkiyi ortaya koymuştur. Ericaceae familyası bitkilerinin çeşitli türlerinden izole edilen diğer iki toksik bileşik andromedenol ve andromedoldür [8].

Grayanotoksin bir diterpen olup, azotsuz polihidroksile siklikhidrokarbonlardan oluşmaktadır. Grayanotoksinler, Ericaceae familyasının üyesi bitkilerin yapraklarında, genç gövdesinde, çiçeklerinde, nektarında ve polenlerinde yüksek miktarda bulunmaktadır [7]. Bitkiyi, herbivorlardan ve insektisistlerden korumada ajan olarak görev yapmaktadır. Özellikle koyun ve keçi gibi hayvanlarda zehirlenme vakaları daha sıklıkla görülmektedir. İnsanlar da ise genel olarak balla grayanotoksin zehirlenmesi görülmektedir [43].

*Rhododendron'*da ana toksik izomer grayanotoksin III (GIII) olmasına rağmen, grayanotoksin I ve grayanotoksin II az miktarlarda bulunmaktadır. GI (grayanotoksin I) toksik olmasına karşın ve GII (grayanotoksin II) daha az toksiktir [43]. GTX II, daha kararlı moleküler yapıya sahip olduğu için daha geç hidrolize edilmekte ve bundan dolayı da GTX I ve GTX III'e göre daha az toksik etki göstermektedir. GTX I ve GTX III ise daha az kararlı moleküler yapıda olmasından ve daha çabuk hidrolize olmasından dolayı daha toksiktir. Bir nörotoksin olan grayanotoksinlerin toksik değer sıralaması GTX III> GTX I> GTX II şeklindedir [12,23,43]. Grayanotoksinlerin su ve lipid çözücülüğü yüksektir. Grayanotoksinler genellikle metanol veya kloroform ile izole edilirler fakat bu çözücülerin bir kısmı da çözülür. Bu nedenle kristalleştirilmeden ya da detaylı analiz edilmeden önce saflaştırılma işlemi gerekmektedir. Grayanotoksinin kristal iğneleri 228-229 °C'de erimektedir [44].



Şekil 1.12. Grayanotoksin I: Asetilandromedol Grayanotoksin II: Andromedenol Grayanotoksin III: Andromedol [45]

Grayanotoksinin hücre üzerindeki toksik etkileri sodyum kanalları üzerinden meydana gelir. Grayanotoksinler, voltaj bağımlı sodyum kanalların açılma fazında kanallara bağlanarak kanalın modifikasyonunda değişikle sebep olur. Bu modifikasyon değişikliği, kanalların inaktivasyonunu engeller. Son olarak, modifiye sodyum kanallarının aktivasyon potansiyeli, sodyum kanalının hiperpolarizasyonuna neden olur.

1.2.4. *Rhododendron'*da Bulunan Temel Flavanoidler

Flavanoid bileşenler insan diyeti için önemlidir ve birçok tıbbi bitkide önemli ölçüde bulunur. Flavanoidlerin biyolojik ve fizyolojik önemlerinden dolayı bu bileşenlerin izolasyonu oldukça önemlidir [43]. *Rhododendronda* mirsetin, kuersetin, azaleatin, avikularin (kuersetin-a-L-arabinosit), hiperosid (kuersetin-3-galaktosit) ve mirsetin (mirsetin-3-ramnosit) flavonoid bileşenlerini bulunmaktadır [46]. Bu flavanoidleri içermesi nedeniyle belli Rhododendron türleri çeşitli ülkelerde (Çin, Almanya, Kanada, Malezya… vb) tarih boyunca yerel tedavi yöntemlerinde kullanılmıştır. *Rhododendron adamsii* Çin, Mongolia ve Buryatia'da bir uyarıcı ve panzehir olarak kullanılmaktadır [47,48,49]. Hafif grip ve kalp rahatsızlıklarında kardiyak ödem için bir diüretik ajan ve bir adaptogen olarak kullanılır [50]. Temel yağlar, ursolik asit, oleanolik asit, fenolkarboksilik asit, kumarin, flavonoidler ve *R. adamsii'* den elde edilen diğer kimyasal bileşenlerin önemli biyolojik aktivitelere sahip oldukları belirlenmiştir [46,51]. Bu kimyasallardan flavonoidler antioksidan, hepatoprotektif ve kanser koruyucusudur; tablo 1.1.'te bazı ülkelerde de yaygın olarak tedavi amaçlı kullanımı verilmiştir [52].

Tablo 1.1. Bazı *Rhododendron* türlerinin tıbbi kullanımı [43]

Türler	Potansiyel kullanımı	Ülkeler	Referans
R. adamsii	Çiçek çayı-uyarıcı	Mongolia	[53]
R. albiflorum	Ağaç külü-şişlik Ağaç kabuğu-mide tedavisi Tomurcuklar-grip ve boğaz ağrısı, Mide ülseri tedavisi	Kanada USA	[54]
R. anthopogon	Yaprak&ince dallar-aromatik yağ	Nepal	[55]
R. dauricum	Geleneksel olarak: Kuru yapraklar-akut/kronik bronşit Klinik olarak: Anti-inflamatuar Laboratuar: Anti-HIV aktivatörü	Japonya Çin	[56,57]

R. ellipticum	Yapraklar-hipertansiyon	Tayvan	[58]
R. ferrugineum	Geleneksel olarak: Tıbbi&ilaç-romatizma	Almanya	[59]
R. latoucheae	Geleneksel olarak: Çiçek&yaprak-cilt yenileyici Kök-panzehir Yaprak çayı-kronik trakeid	Çin	[60]
R. molle	Çiçek	Çin	[61]

Bitki örneklerindeki flavonoidleri belirlemede yaygın olarak kullanılan metotlardan birisi spektrofotomektrik tayindir [62]. Dönüşümlü HPLC ya da kütle spektrometri taramasıyla bitkilerde bulunan flavonoid bileşenlerin nitelikleri ve miktarları analiz edilir [63,64]. HPLC ile kütlesel olarak analiz edilen flavonoidler için sayısal pik değeri bileşen yüzde μg değeri A-02 olarak tespit edilmiştir. Bu değer kullanılan kromatografi için karakteristiktir ve standartlar olmaksızın diğer araştırmalar için kullanılabilir. Mirsetin, kuersetin ve rutin için spesifik kütle bileşimi 360 nm'de hesaplanır; DHQ için bu değer 280 nm'dir (DHQ için değerin böyle olmasının sebebi, DHQ'un bir flavonoid olmasıdır [65].

1.2.5. *Rhododendron'*da Bulunan Fitokimyasallar

Rhododendron familyası kimyasal kaynaklar açısından oldukça zengindir ve özellikle Çin'de geleneksel tıbbi tedavide kullanımı yaygındır (Tablo 1.1.). Bitkide bulunan kimyasalların bir kısmı normal hücre metabolizmasında, bir kısmı ise yapısal bileşenlerde (odun yapısında olduğu gibi) bulunur. Bitkide bulunan bu kimyasal bileşikler sıklıkla bitkinin savunma sisteminde görevlidir. Bitki kendini funguslara, insektisitlere ve diğer herbivorlara karşı savunmada bu kimyasalları kullanır. Örneğin; Rhododendron'un genç dallarında, sürgünlerinde, çiçeklerinde ve nektarında yüksek miktarda bu kimyasallar vardır ve bitkiyi yiyen bir başka organizma (örneğin: Otlanmakta olan bir koyun ya da sığır) bu kimyasallardan rahatsız olur ve bitkiden uzak durur [43]. Rhododendron türlerinden izole edilen kimyasallar tablo 1.2.'te listelenmiştir.

Table 1.2. *Rhododendron* türlerinden izole edilen kimyasal bileşenler [43].

Türler	Fitokimyasallar	Referanslar
R. dauricum	• kromen ve kromen türevleri • farrerol • kuersetin • fenolik asit	[56]
R. ellipticum	• kuersetin	[57]
R. ferrugineum	• fllorasetofenon glukodid • dihidroflavonol glikoosid • flavonoidler	[58,59]
R. latucheae	• iridoidler	[60]
R. molle	• diterpenler	[61]
R. ponticum	• sterinler • triterpenler • asetilandromedenol • ursolic acit • uvaol	[66,67,68]
R. ponticumxcatawbiense	• salidrosit	[69]
R. simsii	• triterpenler • flavanone glikosit • matteusinol • benzoik asit türevleri	[70]

Doğu Almanya ve Amerika'da (US Tarımsal Araştırma Merkezi) 1970'te Keller ve arkadaşları tarafından Rhododendron'un fotokimyasalları çalışılmıştır. Bu çalışma Aberystwyth'deki Moleküler Doğal Limitler temel alınarak yapılmıştır. Çalışmada *Rhododendron ponticum'da* bulunan kimyasal bileşenler elde edilmiştir (Tablo 1.3.).

Tablo 1.3. *Rhododendron ponticum*'da bulunan fitokimyasalların biyolojik aktivitesi [43]

Kimyasal	Kaynak	Pestisit aktivitesi	Kanser karşı koruyucu aktivitesi	Bakteri aktivitesi	Maya aktivitesi	Fungus aktivitesi	Tıbbı kullanım
(+)-kateşin	yaprak						+
(+)-gallokateşin	yaprak						+
Asetilandromedienol	yaprak						
Asetilandromedal	yaprak						+
Alfa-amyrin	bitki		+				+
Andromedolditerpen	yaprak						
Arbutin	bitki	+		+	+	+	
Beta-sitosterol	bitki		+		+		+
kaffeik asit	bitki	+	+	+		+	+
klorogenik asit	bitki	+	+	+			
Delta-10(18)-asetilandromedol	yaprak						
Epikateşin	yaprak	+		+			+
Friedelin	bitki						+
Gossypetin	bitki	+		+			
Malvidin-3,5-diglukosit	bitki						
Malvin	bitki						+
Mirsetin	bitki	+			+		+
Rhododendrin	bitki						
Simiarenol	yaprak						
Tanin	yaprak		+	+			+
Ursolik-asit	yaprak		+	+			+
Uvaol	yaprak		+				+

1.2.6. *Rhododendron* Poleni

Polen, çiçekli bitkilerde çiçeklerin erkek organlarının üst kısmında bulunan anterlerin içindeki polen kesecikleri içerisinde yer alan, çiçeklerin erkek organlarınca üretilip dişi organın döllenmesini sağlayan bitkilerin erkek cinsiyet hücreleridir. Bu mikrosporlar, tohumla üreyen çiçekli bitkilerde erkek gametin içeriğinin dişi gamete düzenli bir şekilde taşınmasını sağlayan erkek üreme birimidir. Polen genç iken büyük bir nukleus ve merkezde geniş bir koful içerir. Çeşitli stoplazmik organeller, amiloblastlar ve bol

lipid granülleri bulunur. Polen olgunlaştıkça, protoplazmada küçük kofullar ve endoplazmik retikulum sayıca artmaktadır [71].

Polenlerin rengi, botanik orjinine ve kimyasal kompozisyonuna bağlı olarak beyaz ve kremden koyu kahverengiye kadar renk aralığında değişmektedir. Renkte olduğu gibi, içerdiği bazı kendine has bileşenlerin miktarı bakımından da polen, mevsimsel farklılıklar gösterebilmektedir. Bu farklılıkların her zaman bitki türü ile ilgili olmadığı, toprağın durumuna da bağlı olduğu araştırmacılar tarafından belirtilmektedir. Polenin kimyasal içeriği türe göre değişiklik göstermektedir. Protein, vitamin, mineral maddeler ve enzimler yönünden oldukça zengin bir besin kaynağıdır. Polen yaklaşık olarak %20-40 protein, %10 su, %10-55 karbonhidrat, %3-4 kül ve flavanoidler, karotenoidler, mineraller, vitaminler içermektedir [71,72].

Polen tanecikleri, arıların varlıklarını sürdürebilmeleri için en önemli protein kaynağıdır. Arılar polen toplarken, çiçeklerdeki polen tanecikleri nektarlardan ilave tükrükler ile bir arada tutarak paketler ve bu paketleri polen sepetinde taşırlar. Bu polen peletlerini petek içerisine yerleştirirler ve üzerini bal ile kaplarlar. Yüksek yapılı bitkilerde tozlaşmanın gerçekleşmesi ve neslin devamının sağlanması için değişik faktörler (yağmur, rüzgâr, kuşlar, böcekler vb.) yardımıyla polenlerin çiçeğin dişicik tepesine taşınması gerekmektedir. Tozlaşma adı verilen bu işlemde en önemli rolü, %90'ını arıların oluşturduğu polinatör böcekler üstlenmektedir. Polen, balarısı kolonileri için olağanüstü öneme sahip bir besin olup, arılar için tek doğal protein kaynağı durumundadır. Ayrıca polen, bal arılarının yavru yetiştirmesinde ve genç dönemlerinde dokuların, kasların, salgı bezlerinin ve diğer organlarının yeterince gelişmesi için gerekli olan protein, lipid, sterol, vitamin ve mineralleri sağlayan eşsiz besin maddesidir.

Rhododendron polenleri de bal arıları tarafından mayıs-temmuz ayları arasında toplanarak paketlenir ve kovanlara taşınır. Polen şekli tetrad sferoidaldir ve tetradın her bir poleni trikolporattır. Orman gülü balı tayini yapılırken balda bulunan *Rhododendron* polen taneleri sayılır ve balın orman gülü balı olup olmadığı balda bulunan orman gülü poleni durumuna göre analiz edilir [73].

Ericaceae poleni;

Tetrat Polen Boyutu : 28-32 µm

Polen Şekli : Tetrat Sferoidal

Apertür tipi : Tetrat Calymme, Tetradın her bir poleni trikolporate

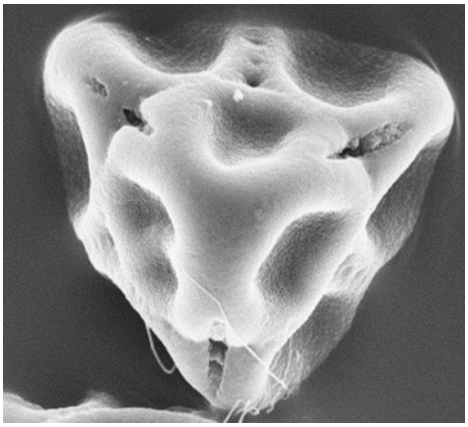
Ekzin Kalınlığı : 1.7 µm

İntin Kalınlığı : 0.25 µm

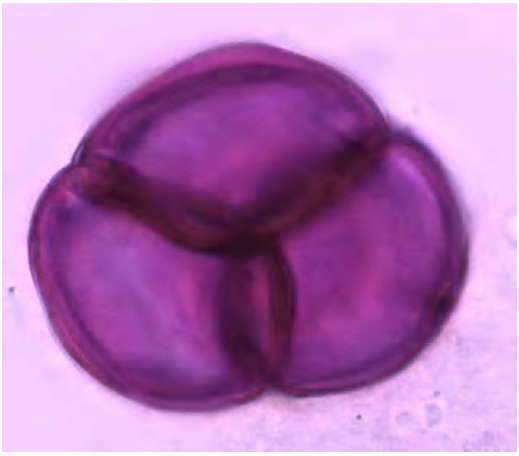
Ornamentasyon : Verrukate [74].



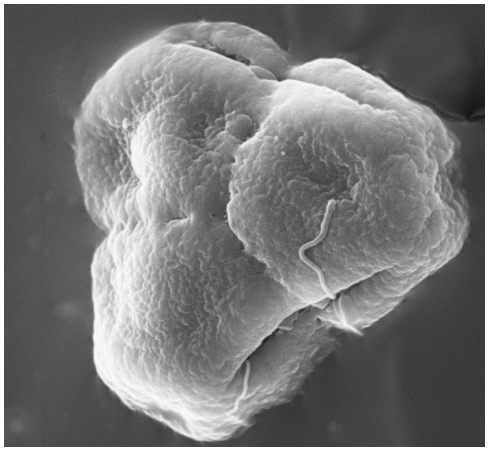
Şekil 1.13. *Rhododendron ponticum* poleni Işık mikroskobu görüntüsü (40x10)



Şekil 1.14. *Rhododendron ponticum* SEM görüntüsü (20 μm)



Şekil 1.15. *Rhododendron luteum* poleni Işık mikroskobu görüntüsü (40x10)



Şekil 1.16. *Rhododendron luteum* SEM görüntüsü (20 μm)

1.3. Bal

Türk Gıda Kodeksi'nin (TGK) 2005/49 sayılı Bal Tebliği'ne göre bal: Bitki nektarlarının, bitkilerin canlı kısımlarının salgılarının veya bitkilerin canlı kısımları üzerinde yaşayan bitki emici böceklerin salgılarının bal arısı *Apis mellifera* tarafından toplandıktan sonra bal arısının kendine özgü maddelerle birleştirerek değişikliğe uğrattığı, su içeriğini düşürdüğü ve petekte depolayarak olgunlaştırdığı doğal bir üründür [1,75]. Genel olarak sarı ve sarının tonlarında olan bal, sudan daha yoğun kıvamdadır; güçlü bir hidrostatik karaktere sahiptir; viskozitesi nispeten düşüktür [2]. Balın temel kimyasal bileşeni, balın %82'sini oluşturan karbonhidratlardır. Ayrıca invertaz, glukoz oksidaz ve katalaz gibi enzim içerikli proteinler ile 18 serbest amino asit içermektedir; ki bu amino asitlerden de en çok bulunanı prolindir [2,75,76].

Bal, çeşitli enzimler bakımından zengin bir yapıya sahiptir. Enzimler canlı hücreler tarafından üretilen, birçok karmaşık proteinden meydana gelen ve vücut sıcaklığında özel biyokimyasal reaksiyonların katalizörlüğünü yapan maddelerdir. Baldaki enzimler bal arısından kaynaklanır. Bunlar başlıca nişastayı parçalayan diyastaz, nektardaki sükrozu fruktoz ve glikoza parçalayan invertaz ve balın başlıca asidi olan glukonik asid ile hidrojen peroksit üretimini sağlayan glikoz oksidazdır. Balın yüksek miktarda hidrojen peroksit oluşturabilme özelliği nedeniyle tarih boyunca iyileşmeyen yaraların tedavisinde kullanımına neden olmuştur. Bugün de bazı ballar bu amaçla dünya piyasasında satılmaktadır [75,76,77].

1.3.6.1. Balın Fiziksel ve Kimyasal Yapısı

Fiziksel özellikler, ölçümlerinin basit olması ve balın bileşimi hakkında bilgi sağlamalarıyla bal sınıflandırılmasında temel kriterlerdir. Balın rengi, tat ve aroma, optik rotasyon özellikleri, elektriksel iletkenlik, özgül ağırlık ve kırılma indisi balın ölçülebilen fiziksel özellikleri arasında sayılabilir. Fiziksel özelliklerden elektriksel iletkenlik, balın mineral madde içeriğine göre değişir ve salgı balları ile çiçek ballarının ayrımında kullanılır [75].

Balın tadı ve aroması monofloral ya da polifloral olmasına göre değişir. Baldaki polen düzeyinin bitkisel çeşitliliğine göre ballar, monofloral ya da polifloral olarak tanımlanır. Monofloral (unifloral) ballarda, balın elde edildiği nektar oranı en az %51'dir ya da tek bitki türünün polen oranı %45'in üzerindedir. Bal, elde edildiği bitkinin adı kullanılarak isimlendirilebilir (Örneğin: Akasya balı, kestane balı vb.). Monofloral balların

kendilerine özgü ve orijinal nektar kaynağına bağlı belirgin bir aromaları vardır. Polifloral ballarda tek bitki türünün poleni dominant değildir. Anzer balında olduğu gibi, isimlendirilmesi genellikle elde edildiği coğrafi bölgeye göre yapılır [75].

Balda temel olarak glukoz ve fruktoz monosakkaritleri bulunmaktadır. Bu iki monosakkaritin ötesinde yaklaşık 25 farklı oligosakkarit keşfedilmiştir; bunların arasında panose, 1-kestose, 6-kestose, palatinose besleyiciliği olanlardan bazılarıdır [76]. Çiçek ballarındaki başlıca oligosakkaritler yüksek oranda sükroz, maltoz, trehaloz ve turanozdur. Sindirim boyunca en önemli karbonhidrat fruktoz ve glukozdur. Bu karbonhidratlar çok hızlı bir şekilde kana aktarılırlar ve bunlar vücudun enerji ihtiyacı için başlıca ürünlerdir. Vücuda alınan 20 g bal günlük ihtiyaç duyulan enerjinin yaklaşık olarak %3'nü karşılar [77,78]. Balın besin içeriği tablo 1.6.'de verilmiştir.

Tablo 1.4. Balın temel besin elementleri [76]

İçerik	100g'deki ihtiyaç duyulan günlük miktarı			
	Miktarı	1-4 yaş	4-15 yaş	15 yaş üzeri
Karbonhidrat (kcal)	300	1000-1100	1400-2700	2400-3100
Protein (g)	0.5	13-14	17-46	44-59
Mineraller; (mg)				
Sodyum (Na)	1.6-17	300	410-550	550
Kalsiyum (Ca)	3-31	600	700-1200	1000-1200
Potasyum (K)	40-3500	1000	1400-1900	2000
Magnezyum (Mg)	0.7-13	80	120-310	300-400
Fosfor (P)	2-15	500	600-1250	700-1250
Çinko (Zn)	0.05-2	3	5-9.5	7-10
Bakır (Cu)	0.02-0.6	0.5-1	0.5-1	0.5-1
Demir (Fe)	0.03-4	8	8-15	10-15
Mangan (Mn)	0.02-2	1-1.5	1.5-5	2-5
Kromiyum (Cr)	0.01-0.3	0.02-0.06	0.02-0.1	0.03-1.5
Selenyum (Se)	0.002-0.01	0.001-0.004	0.001-0.006	0.003-0.007
Vitaminler (mg)				
Tiyamin (B_1)	0.02-0.9	0.6	0.8-1.4	1-1.3
Riboflavin (B_2)	0.01-0.9	0.7	0.9-1.6	1.2-1.5
Niacin[2] (B_3)	0.10-2.7	7	10-18	13-17
Panthothenic asit (B_4)	0.02-1.9	4	4-6	6
Pyrodoksin (B_6)	0.01-0.32	0.4	0.5-1.4	1.2-1.6
Folik asit (B_9)	0.01-0.7	0.2	0.3	0.4
Askorbik asit (C)	0.1-2.5	60	70-100	100

Bal bileşeninin yaklaşık %0.5'i protein, temel enzimler ve amino asitlerdir. Baldaki 3 temel enzim diyastaz (amilaz; nişastayı parçalar), invertaz; (sükraz, glukozidaz; sükrozdaki glukozu ve früktozu ayıran), glukoz oksidaz; glukozdan hidrojen peroksit ve glukonik asit üretir [3,76].

Balda yüksek miktarda eser element vardır. Doğal olarak görülen minarellerden krom, mangan ve selenyum, 1 ile 15 yaşları arasında çocukların gelişimleri için önemli doğal mineralleridir. İnsan diyeti için önemli olan sülfür, boron, kobalt, flüorin, iyodin, molibdenim ve silikon da günlük ihtiyaç duyulan elementlerdir. Bal, bu elementleri içeriyor olmasından dolayı günlük tüketimde tavsiye edilmektedir [79]. Balda bulunan eser elementler tablo 1.5.'de verilmiştir.

Tablo 1.5. Balda bulunan eser elementler [76]

Element	mg/100g	Element	mg/100g
Aliminyum (Al)	0.01-2.4	Kurşun (Pb)	0.001-0.03
Arsen (Ar)	0.014-0.026	Lityum (Li)	0.225-1.56
Baryum (Ba)	0.01-0.08	Molibden (Mo)	0-0.004
Boron (B)	0.05-0.3	Nikel (Ni)	0-0.051
Bromin (Br)	0.4-1.3	Rubidyum (Rb)	0.040-3.5
Kadmiyum (Cd)	0-0.001	Silisyum (Si)	0.05-24
Klor (Cl)	0.4-56	Strontiyum (Sr)	0.04-0.35
Kobalt (Co)	0.1-0.35	Sülfür (S)	0.7-26
Florid (F)	0.4-1.34	Vanadyum (V)	0-0.013
İyodin (I)	10-100	Zirkonyum	0.05-0.08

1.3.6.2. Orman Gülü Balının Kimyasal Yapısı

Orman gülü balının esas kimyasal maddesi grayanotoksindir [80]. Bu bal fenolik maddece zengindir. Yapılan bir çalışmada Karadeniz Bölgesi'nden (Hopa, Trabzon, Artvin, Zonguldak, Ordu, Rize, Kastamonu, Kocaeli, Giresun) toplanan 50 adet orman gülü balında toplam fenolik madde miktarı ile antioksidan, antiradikal ve antimikrobiyel aktiviteleri incelenmiş, çalışmalarda antioksidant aktivite gösteren orman gülü balının tıbbi açıdan önemli olduğu ve aynı zamanda antibakteriyel etki gösterdiği saptanmıştır. Bir başka ormangülü çalışmasında da 14 orman gülü balında organik asitler, fenoller,

ketonlar, alkoller, 1,2 benzendikarboksilik asit, tributil fosfat, stearik asit, propanoik asit, benzen, etilenfenil asetat ve benzofenon gibi 72 bileşik tespit edilmiştir [6].

Orman gülü balı Cu, Cd, Pb, Co, Cr, Ni, Al, Se, Zn, Mn, F, K, Ca ve Mg elementlerini içermektedir. Orman gülü balında Cu, Co, Cr, Ni, Se, Zn, Ca ve Mg diğer çiçek ballarına göre daha yüksek; Al, Mn, F ve K daha az bulunmaktadır [81].

1.3.6.3. Balın Biyolojik Özellikleri

Bal, mikroorganizmaların ve mantarların büyümesinde engel teşkil etmektedir. Balın antimikrobiyal etkisi çoğunlukla gram-pozitif bakterilerine karşıdır [82,83,84,85,86,87]. Birçok patojene karşı bakteriostatik etkileri olduğu bildirilmiştir [76]. Balda bulunan fenolikler ve flavonoidler balın antibakteriyal aktiviteye sahip olmasını sağlar. Balın, antimikrobiyal özelliği ise sahip olduğu yüksek şeker konsantrasyonu ve düşük pH'ı ile ilişkilidir [88,89,90]. Balın virüsler, mantarlar ve parazitler üzerinde baskılayıcı etkileri vardır. Yapılan bir araştırmada; balın, in vitro ortamda Rubella virüsü, Herpes virüsü ve Leismania parazitinin 3 türünü inhibite ettiği bildirilmiştir. Bal, Epidermophyton, Microsporum *ve Thrichophyton dermatophytes*'e karşı fungusit aktiviteye de sahiptir [91].

Bal glikoz oksidaz, katalaz, askorbik asit, flavonoidler, fenolik asit, karetenoidler ve proteinler gibi çeşitli antioksidan maddeler içermektedir [92,93,94]. Genellikle koyu renkli balların fenolik içeriği ve antioksidan gücü daha yüksektir [95,96].

1.3.6.4. Orman Gülü Balı Zehirlenmesi

Ülkemizde ve dünyada her yıl birçok bal zehirlenmesi vakasına rastlanmaktadır. Bu zehirlenmenin nedeni, Fundagiller (Ericaceae) ailesi üyelerinden Rhododendron cinsine ait bazı türlerin yapraklarında, çiçeklerinde, nektar ve polenlerinde bulunan grayanotoksin adı verilen birleşiklerdir [97]. 5 ve 30 g arası alınan balın zehirlenmeye neden olduğu ve zehirlenme şiddetinin tüketilen bal miktarına bağlı olduğu belirtilmiştir [9,11].

Doğu Karadeniz bölgesinde alternatif tedavi olarak mide-barsak rahatsızlıklarında (gastrit, mide ülseri, kabızlık), hipertansiyonda, koroner kalp hastalığında kullanılan bal, seksüel gücü artırdığına inanıldığından iktidarsızlıkta da kullanılmaktadır [97,98].

Orman gülü balı belirli oranın üzerinde tüketildiğinde zehirlenmeye sebep olmaktadır. Zehirlenme belirtileri, bal tüketildikten yaklaşık olarak 2 saat sonra ortaya çıkar ve

zehirlenme ciddi boyutta değil ise 12-24 saat arasında kişi düzelir. Andromedotoksinler özellikle dolaşım, solunum, sindirim ve santral sinir sistemini etkilemektedir. Andromedotoksin düşük dozlarda alındığında kalpte kolinerjik etkilerle bradikardi ve hipotansiyon yaparken, yüksek dozlarda alınması durumunda sürrenal medulladan epinefrin salgılatarak taşikardi ve hipertansiyon oluşturur. Solunum sisteminde ise düşük dozlarda soluk almada düzensizlik ve derinlikte azalma, yüksek dozlarda ise solunum hızlanması ve sonrasında solunum depresyonu yapar. Balı fazla tüketen kişilerde ciltte ve boğazda yanma hissi, ağız ve burunda kaşınma, deride ve gözlerde kızarıklık, vertigo ve baş ağrısı, bulantı, kusma, salivasyon, kramp tarzı karın ağrısı, idrar ve gaita çıkarma, gastroenterit, kesiklik hissi, halsizlik, görme bulanıklığı ve bazen de geçici körlük, malaryayı andıran ateş nöbeti, derin bradikardi, hipotansiyon veya kollaps, hipereksitabilite, delirium hatta bazen de koma durumu görülebilir [9,99,100].

Tablo 1.6. Orman gülü balından zehirlenen 23 hastada gözlenen belirtiler [11]

Belirtiler	Zehirlenen 23 kişide görülme %
Hipotansiyon	100
Bradikardi	95
Kusma	91
Terleme	74
Baş dönmesi	74
Bilinç kaybı	67
Bitkinlik	35
Solgunluk	30
Görme bulanıklığı-kaybı	22
Titreme	33

Grayanotoksin-I in karaciğer ve böbrek sistemleri üzerine olan etkileri ile ilgili yapılan çalışmalarda, tüketilen miktara bağlı olarak toksik etkilerin farklılıklar gösterdiği gözlenmiştir. Doz artırıldıkça hepatik (karaciğer) ve renal (böbrek) sistemdeki kimyasalların oranlarında da değişim gözlenmiştir. Yüksek dozlarda serum total protein seviyesinde düşmeyle birlikte proteinuri (idrarda protein) ve hematuri (idrarda kan) gözlenmiştir. Bununla birlikte düşük dozlarda hepatoksik etki gözlenmemiştir [12,101]. Düşük dozda grayanotoksin verilen ratların idrar ve serum analizlerinde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Ancak yüksek dozda toksin verilen ratların bazılarında kıl

kaybı ve takibinde ölüm olmuş, bazı ratlar da ise kilo kaybı olmuştur. İdrar analizlerinde proteinuri ve hematuri, GPT (glutamik pruvik transaminaz), LDH (laktat dehidrogenaz) ve idrar keton seviyesinde artış gözlenmiştir [102,103].

Orman gülü balında bulunan grayanotoksinler sinir sistemi üzerinde sodyum permebilitesine neden olduklarından dolayı nörotoksik etkiye sahiptir. Orman gülü balının fazla tüketilmesi durumunda ortaya çıkan bu toksikasyonda grayanotoksinler sodyum kanallarını bloke etmektedir [22,24]. Grayanotoksinler, sodyum kanallarının aktivasyon kapılarına depolarizasyon sırasında bağlanarak gerilimi artırırlar. Bu artan gerilim, sodyum kanallarının farklı altünitelerininin etkinliklerini değiştirdiği yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur. Kardiyak tutulumda kardiyak sodyum kanalları altünitelerinin ve iskelet kasında M2 (muskarinik reseptör) altünitelerinin etkinliği vurgulanmıştır [22,104].

Balın sebep olduğu hipotansiyonun tedavisinde intravenöz sıvı tedavisi, bradikardinin tedavisinde de atropin tedavisi uygulanmakta ve sonuç alınmaktadır [99,98].

1.4. Literatür

1.4.1. Yurtdışı Araştırmaları

Narahashi ve ark., (1974) grayanotoksin I'in sinir hücrelerinin membranlarında sebep oldukları depolarizasyonun mekanizmasını incelemiş, grayanotoksinin hücre üzerindeki toksik etkisini sodyum kanalları üzerinden yaptığını bildirmişlerdir. Grayanotoksin I'in aksonlardaki depolarizasyon mekanizması internal perfüzyon ve voltaj birleştirme teknikleriyle incelenmiştir. Araştırmacılar, grayanotoksin I'in eksternal sodyum konsantrasyonunu 440'dan 1 mM'yedüşürdüğünü, hem internal hem de eksternal sodyum iyon konsantrasyonundaki değişimin sodyum permabilitesinde yükselişe neden olduğunu, bunun da voltaj artışına sebep olduğunu bildirmişlerdir. Grayanotoksin I'in, hücre membranlarında bulunan sodyum kanallarında modifikasyona neden olarak kanalın aktivitesini bozduğu da bildirilmiştir [105]. Grayanotoksin hücre üzerindeki toksik etkisini sodyum kanalları üzerinden gerçekleştirdiğine dair yapılan çok sayıda çalışma Maejima ve ark., (2003) tarafından derlenmiştir. Bu derlemeye göre grayanotoksinin voltaj bağımlı sodyum kanalları üzerindeki etkisi üç aşamalı gerçekleşmektedir. İlk olarak Narahashi'nin de bildirdiği gibi grayanotoksin, voltaj bağımlı kanalların açılma fazında kanallara bağlanmaktadır. Sonra kanallar modifiye

olup inaktif hale gelmektedir. Son olarak, modifiye sodyum kanallarının aktivasyon potansiyeli, sodyum kanalının hiperpolarizasyonuna neden olur. Bu durumun hücre membranının voltaj bağımlı aktivasyonuna ve inaktivasyonuna neden olduğu bildirilmiştir [106]. Sodyum kanallarıyla ilgili yalıpan bir başka çalışma Cestele tarafından (2000) yapılmıştır. Cestele yapmış olduğu araştırmasında voltaja bağımlı sodyum kanalları üzerine etki gösteren nörotoksinlerin moleküler mekanizmasını incelemiştir. Çalışmasında tetrodotoksinler, konototoksin, saksitoksin, örümcek toksinleri ve grayanotoksin gruplarını inceleyerek hangi bölgelere etki ettiklerini araştırmıştır. Grayanatoksinin hücre membranları üzerinde ve kardiak bölgede bulunan sodyum kanallarını bloke edip kanalı inaktif duruma getirdiğini bildirmiştir [24].

LC-MS/MS ile bazı biyolojik örneklerde grayanotoksin tanımlaması yapan Holstege ve ark., (2001) idrar ve feçesteki grayanotoksin I-II-III'ün miktarlarını belirlemek için LC-MS/MS metodunu kullanmışlardır. Katı örneklerden metanol kullanılarak grayanotoksinin izolasyonunu yapan araştırmacılar elde edilen ekstraktı metanol-su (1:3) kullanarak dilue etmişler, dönüşümlü katı faz ektraksiyon kolonu kullanarak analizler gerçekleştirmişlerdir. Kolonda grayanotoksin-I sodyum 435 iyon segmentinde, grayanotoksin-II ve grayanotoksin-III 335 sodyum iyon fragmentinde yer aldığını bildirmişlerdir [107].

Zhao ve ark., (2006) Rhododendron'da bulunan flavonoid bileşiklerini HPLC ile analiz etmişler, araştırmada kuersetin, mikrisetin, luteolin, kamferol ve izoramnetin bileşiklerini belirlemişlerdir [108].

Hough ve ark., (2010) *Rhododendron ponticum* üzerine bir araştırma yapmış, çalışmasında *R. ponticum*'da bulunan temel toksik bileşenler olan GTX I, GTXII ve GTX III'ü incelemiştir. Çalışmada 0.2 g *R. ponticum* örneği kullanılmış, 10 ml metanol içinde 48 saat bekletilmiş ve distilasyon sonrasında asetik asit, su ve metanol kullanılarak bitki özütü oluşturularak, özütü iyon kromatogarfisinde analiz etmişlerdir. Çalışmada GTX II'nin daha kararlı moleküler yapıya sahip olduğu için daha geç hidrolize edildiği ve bundan dolayı da GTX I ve GTX III'e göre daha az toksik etki gösterdiği ifade edilmiştir. GTX I ve GTX III ün ise daha az kararlı moleküler yapıda olup ve daha çabuk hidrolize olması nedeniyle daha toksik olduğu bildirilmiştir. Grayanotoksinlerin toksik değer sıralaması GTX III> GTX I> GTX II şeklinde verilmiştir [23].

Kim ve ark., (2010) ratlar üzerinde grayanotoksinin etkilerini araştırmıştır. GTX III'ün voltaja bağımlı nöronlarda sinaptik transmisyonda etkilerinin olduğunu, post-sinaptik voltaj bağımlı sodyum kanallarını bloke ettiğini belirtmiştir. Grayanotoksinlerin iskelet ve kardiyak kaslar üzerine bradikardi gibi toksik etkilerinin yanı sıra merkezi sinir sistemiyle periferal sinir sistemi üzerine de nörotransmisyon maddeleri etkileyerek toksiteye sebep olduğunu bildirmiştir. Ayrıca 1 µm GTX III'ün bazı nörokimyasalların (GABA, glutamik asit gibi) frekansını artırdığını bildirilmiştir [104].

Poon (2008), *R. simsii*'den grayanotoksin ile zehirlenen 57 günlük bir bebeği incelemiştir. Çalışmada, bilinçsiz bir şekilde acil servise getirilen bebeğin, zehirlenme sebebinin evde bir süs bitkisi olarak kullanılan *R. simsi*'inin olduğu ve 19 hastanın da *R. simsii* çiçeklerini tükettikleri için zehirlendiği bildirilmiştir. Tedavi olarak atropin uygulanarak, hastaların 24 saati geçmeden taburcu edildiği bildirmiştir [109].

Weiss ve ark., (2010) orman gülü balı intoksikasyonu sonrasında ikinci dereceden kalp bloklanması sorunu yaşayan 70 yaşındaki bir Türk hastayı incelemiştir. Hasta acil servise başvurduğunda EKG'de kalp bloklanmasının görüldüğü, koroner anjiyogramda koroner arter rahatsızlığının olmadığı bildirilmiştir. Yaklaşık bir kavanoz orman gülü balı tüketen hastanın geçici atrioventriküler blok yaşadığı, atropin ile tedavi edilerek taburcu edildiği bildirilmiştir [26].

1.4.2. Orman Gülü Balı Üzerine Yurt İçinde Yapılan Araştırmalar

Koca'nın (2007), orman gülü balı üzerine yaptığı araştırmada, grayanatoksinin özelliklerine değinmiştir. Ericaceae familyası bitkilerinin özelikle genç bitki organlarında daha fazla bulunan grayanotoksinlerin toksik diterpenler ve polihidroksilik siklik hidrokarbonlar olduğunu ve nitrojen içermediklerini bildirmiştir. Araştırmacı, grayanotoksinlerin sıklıkla metanol veya kloformda izole edildiklerini, erime sıcaklıklarının da 228-229^{o}C olduğunu bildirmiştir. Ayrıca GTX III'ün GTX I ve GTX II'ye göre daha çabuk hidrolize olduğundan dolayı daha toksik olduğunu bildirmiştir [12].

Gündüz ve ark., (2008) orman gülü balı zehirlenmesi üzerine genel bir araştırma yapmış, çalışmalarında orman gülü balının yüksek miktarda grayanotoksin içerdiği ve bu yüzden de zehirlenmeye sebep olduğunu bildirmiştir. Araştırmada orman gülü balının halk arasında "tutan bal, kumar, acı bal ya da deli bal" olarak adlandırıldığını,

karadeniz bölgesinde fazlaca tüketildiğini, bu baldan zehirlenme vakalarının ilk olarak M.Ö. 401'de Xenephon tarafından bildirildiğini belirtmiştir. Yine aynı çalışmada 12 farklı olgunun incelendiğini, olguların %75'inde spesifik olmayan bradiaritmi veya sinüs bradikardi rapor edildiğini, zehirlenmenin 13.45±5.39 (5-30 gram) orman gülü balı tüketilmesiyle ortaya çıktığını ve tedavisinin 1-2 mg intravenöz atropin ile olduğunu bildirmiştir. Ayrıca çalışmada hayvanlar üzerinde yapılan araştırmalarda kan glikoz düzeylerinde belirli değişiklikler olmasına rağmen insanlarda kan glikoz düzeyinde, renal ve hepatik toksitede önemli etkenlerinin olmadığını bildirilmiştir [7]. Aynı araştırmacı (2012) bir başka çalışmasında orman gülü balı zehirlenmesiyle kolinerjik toksidromezler arasında bir benzerliğin olup olmadığını araştırmış, sonuç olarak orman gülü balı ile zehirlenen 30 hastadan alınan kan örneklerindeki pseudokolinesteraz seviyelerinin sağlıklı kişilerdeki pseudokolinesterazda seviyesinden daha düşük olduğunu bildirmiştir. Hastaların %90'ında pseudokolinesteraz normal seviyede değil iken sadece %10'unda normal seviyede olduğu bildirilmiştir [110]. Yine aynı araştırmacı (2006) orman gülü balından zehirlenen 6 kadın ve 2 erkek hastanın hepsinde hipotansiyon olduğunu, 4'ünde sinüs bradikardi olduğunu, 3 hastada nodal ritim olduğunu bildirmiştir. Hastaların 0.5 mg atropin uygulandıktan 2-6 saat içinde normale döndükleri bildirilmiştir [9].

Onat ve ark., (1991) hayvan deneylerinde grayanotoksinin kardiyak etkileri ile merkezi sinir sistemi ve periferik sinir sistemi üzerine olan etkilerini incelemişler, grayanotoksinin farelerde bradikardi ve solunum depresyonuna neden olduğunu bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar farelerde kullanılan atropinin grayanotoksinin etkilerini azalttığını, orman gülü balı zehirlenmesi sonucu oluşan bradikardinin ve solunun depresyonunun atropin ile düzeltildiğini bildirmişlerdir. Seçici M2-muskarinik reseptör antagonisti olan AF-DX116 ile yapılan çalışmada farelerde bradikardinin düzeldiği, ancak solunum depresyonu üzerine bir etkisinin olmadığını belirlenmiştir. Araştırma sonucuna göre grayanotoksinin kardiyotoksik etkisinin M2-muskarinik reseptörlerle ilişkili olduğu ortaya konulmuştur [98].

Silici ve ark., (2008) Türkiye'nin Doğu Karadeniz Bölgesinden toplamış 8 çiçek balı 12 orman gülü balında eser element seviyelerini incelemiş, araştırmada Cu, Cd, Pb, Co, Cr, Ni, Al, Se, Zn, Mn, Fe, K, Ca ve Mg 14 eser elementin atomik absorbsiyon spektrometrisiyle analizini yapmışlardır. Analiz sonucunda Cu, Co, Cr, Ni, Se, Zn, Ca ve Mg seviyelerinin orman gülü balında çiçek balına oranla daha yüksek olduğu

bildirilmiştir [29]. Silici ve ark., (2010) bir başka çalışmasında, orman gülü ballının toplam fenolik içeriğini, antiradikal, antioksidan ve antimikrobiyal etkilerini 50 orman gülü balı örneği üzerinde incelemiştir. Orman gülü balının toplam fenolik madde içeriğinin 0.24'ten 141.83 mg GAE/100 mg olduğunu, antioksidan aktivitesinin 12.76-80.80 mg AAE/g bal olduğunu, kütlesel radikalliğin 2.30%-90.73% arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Orman gülü balının, 11 bakteri ve 2 maya örneği üzerindeki antimikrobiyel etkisinin incelendiği araştırmasında balın *Pseudomonas aeruginosa* ve *Proteus mirabilis* üzerinde en yüksek etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir [6]. Silici (2005) toksik bal üzerine yapmış olduğu çalışmasında, bal zehirlenmesine grayanotoksinin sebep olduğunu, zehirlenmenin şiddetinin tüketilen balın miktarına bağlı olarak değiştiğini, toksik balın arılara besleme için geri verildiğini bildirmiştir [36].

Orman gülü balının ve 4 *Rhododendron* türünün antibakteriyel ve antifungal etkilerini araştıran Ertürk ve ark., (2009) çalışmalarında balın ve bitki özütlerinin 16 bakteri ve 1 mantar türü üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Araştırmacılar, agar dilüsyonu metodunu kullanarak balı ve bitki özütlerinin, bakterilerin (>0.5 mg/ml bal ve özüt kullanımı) çoğalmasını mantarlara göre daha çok etkilediğini bildirmişlerdir [111].

Aşçıoğlu ve ark., (1996) 3 aylık ratlar üzerinde grayanotoksin-I'in karaciğer ve böbrek fonksiyonları üzerine etkisini araştırmışlardır. Çalışmada 170-300 g ağırlıklarındaki 12-15 haftalık 45 dişi rata 3 aylık periyot içinde 15'erli gruplar yapmış, I. gruba; 0.075 mg/kg, II. gruba; 0.15 mg/kg, III. gruba; (kontrol grubu) olduğu için % 9'luk tuz solüsyonu verilmiştir. Deney sonucunda deneklerin idrar analizi (lökosit, ürobilinojen, protein, pH, kan, keton, glukoz, nitritler)yapılmış, hayvanlar sakrifeye edildikten sonra glutamik prüvik transaminaz, glutamil transferaz, laktat dehidrogenaz değerlerine bakılmıştır. Analiz sonucunda idrarda protein (proteinüri), idrarda kan (hematüri) ve keton seviyelerinde azalma görüldüğü bildirilirken, GPT ve LDH aktivitelerinde artış olduğu bildirilmişlerdir [102]. Yine aynı araştırmacı (1995) bir başka araştırmasında grayanotoksin I'in kurbağa gastronemus kaslarındaki etkisini incelemişlerdir. Araştırmacılar, kurbağanın gastronemus kaslarını izole etmiş ve bunları 2 gruba ayırmışlardır. İlk grupta izole edilen kas preparatlarında normal çiçek balı kullanılmış, ikinci grupta ise grayanotoksin-I ile kontamine olmuş orman gülü balı kullanılmıştır. Çalışmasın sonucunda toksik bal kullanılan kasta daha fazla kasılma olduğunu, normal çiçek balı kullanılan kasta diğerine oranla daha az kasılma olduğunu bildirmişlerdir

[101]. Aşçıoğlu ve ark., (1996) bir diğer araştırmada kurbağa siyatik sinirinin potansiyel aktivitesi üzerine grayanotoksin-I'in etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada kurbağa siyatik siniri izole edilmiş ve Karadeniz Bölgesinden toplanan orman gülü balı 3.10^{-5}, 3.10^{-4}, 3.10^{-3} M konsantrasyonlarında kullanılmıştır. Grayanotoksin-I siyatik sinirde başlangıç uyarı voltajını yükseltiğini, ancak bu yükselmenin kullanılan orman gülü balı miktarı ile değiştiği bildirmişlerdir [103].

Avcı (2004) ise orman güllerinin ülkemizdeki yayılışı hakkında bir çalışma yapmış, orman gülünün Türkiye'deki yayılışını ve ana hatlarını ortaya koymayı amaçlamıştır. Araştırmacı, orman gülünün nem oranın yüksek, organik madde bakımından zengin, derin ve iyi drenaja sahip asidik topraklarda iyi gelişme gösterdiğini söylemiştir. Orman gülünün Sinop, Zonguldak, Ordu, Samsun, Rize, Giresun, Trabzon, Artvin ve Gümüşhane'de doğal yayılış alanlarında yetiştiğini bildirmiştir [35].

Taşdemir ve ark., (2003) 5 Türk Rhododendron türlerinin genç yaprak, meyve çiçeklerinden aldıkları örneklerin özütlerini incelemiş ve bitkide bulunun kimyasal bileşiklerin tayinini yapmışlar ve 30 farklı kimyasal bileşik (metil benzonat, etil benzonat, linelool, α- terpineol, feniletil alkol, naftalin, 2-etil-heksanol, tetradekan, 1-bütanol, heksanal, benzil alkol, metil nikotin ve etil asetat) izole etmişlerdir. Ayrıca Rhododendron türlerinin genç yaprak, meyve ve çiçeklerinde kısmen daha yaşlı türlerine göre kimyasal bileşiklerin daha yüksek miktarda olduğunu, grayanotoksinin de daha fazla bulunduğunu bildirmişlerdir [112].

Başgül (2003), orman gülü balının düşük dozlarda tüketildiğinde bradikardi ve hipotansiyon, yüksek dozlarda tüketildiğinde sürrenal medulladan epinefrin salgılatarak ritim bozuklukları, taşikardi ve hipertansiyona sebep olduğunu bildirmiştir. Zehirlenme düşük dozda alındığında solunumda düzensizlik ve solunum derinliğinde azalmaya neden olurken, yüksek oranda alımında solunum hızlanmasına ve devamında da solunum depresyonuna neden olduğu aynı araştırmacı tarafından bildirilmiştir. Zehirlenmenin teşhisinde melissopalinolojik analizin önemli olduğunu vurgulayan araştırmacı, tüketilen orman gülü balının da zehirlenme şiddetini etkilediğini bildirmiştir [22].

Türkiye'nin Karadeniz Bölgesindeki *Rhododendron spp*. kontrolü yapan Esen ve ark., (2008) *R. ponticum* ve *R. luteum*'un ormanların alt kısımlarında baskın halde olduklarını bildirmişlerdir. Bu Rhododendron türlerinin büyümesinin ve çoğalmasının hızlı bir

şekilde azalmakta olduğunu, bunun sebebinin tırtıl, kurt, bilinçsiz kesim ve yüksek miktarda kullanılan herbisitler olduğunu belirtmişlerdir [113].

Türk Rhododendron türlerinin ekolojik çeşitliliğini inceleyen Merev ve ark., (2000) *R. luteum*'un 110-2230, *R. ungernii*'in 900-2020, *R. caucasicum*'un 1900-3100 ve *R. ponticum*'un da deniz seviyesinden 2230 metre ve üzerinde Türkiye'nin Doğu Karadeniz Bölgesinde doğal olarak yaşadığını bildirmiştir [114].

Gerengi ve ark., (2012) orman gülü balının metaller için korozyon yapıcı (metal veya metal alaşımlarının kimyasal etkilerle oksidasyonudur) özelliğini incelemiştir. Bu çalışmada orman gülü balının, %3.5'luk izotonik sodyum klorür çözelti ortamında farklı konsantrasyonlarda (100,500,1000 ve 2000 ppm) kullanılarak Al-2007 alaşımı üzerindeki korozif etkisi korozyon ölçüm metotlarından Tafel Ekstrapolarizasyon (TP) ve Elektrokimyasal Empedans Spektroskoposi (EIS) yöntemleri kullanılarak incelenmiş ve uygulanan yöntemler arasındaki ilişki ortaya konulmuştur. Kullanılan orman gülü balı miktarı arttıkça, aliminyum-2007 alaşımının %3.5 izotonik sodyum klorür ortamında korozyona daha az uğradığı, korozyon akım yoğunluğu ve inhibisyon yüzdeleri hesaplanarak ortaya konulmuştur [115].

Orman gülü balının hastalarda toksikasyonu üzerine çok sayıda vaka takdimi mevcuttur. Güven ve ark., (1989) çalışmalarında hastanelerine bal zehirlenmesi şikâyetiyle başvuran 29 hastanın klinik şikâyetlerini ve elektrokardiyografi özellikleri bakımından inceleyip zehirlenme belirtilerinin benzer olduğunu (kusma, baş dönmesi, bulantı, titreme, boğazda yanma hissi, kaşıntı ve kızarıklık, halsizlik) bildirmişlerdir [116].

Dilber (2002), orman gülü balından 3 kaşık yiyerek zehirlenen 8 yaşındaki bir erkek çocuğunun kusma, titreme, baş dönmesi, boğaz yanması, bulantı ve bilinç kaybı şikâyetiyle hastaneye başvurduğunu, travmatik durumu ya da ilaç kullanımının olmadığını bildirmiştir. Hastanın vücut ısısının 36.4 ^{o}C, kalp atışının 45 atım/dk, atriyal kan basıncının 85/45 mmHg olmasına rağmen tüm biyokimyasal parametrelerin normal limitler içinde olduğunu bildirmiştir. Hipotansiyon ve bradikardi için 1 mg atropin verildiğini ve çocuğun 12 saat sonra normale dönüp taburcu edildiğini bildirmiştir [30].

Çiçek ve ark., (2004) yapmış olduğu olgu raporunda 58 yaşındaki bir erkek hasta rapor etmişlerdir. 150 gram orman gülü balı tüketen hasta baş dönmesi, halsizlik, bulantı ve baygınlık hissiyle acil servise başvuran hastada, hipotansiyon (80/50 mmHg) ve

bradikardi (38 atım/dk) gözlendiği belirtmişlerdir. Araştırmacılar, 1 mg atropin ile hastanın tedavi edildiğini ve iki gün sonra taburcu edildiğini bildirmişlerdir [117].

Eken (2004), orman gülü balı yedikten yaklaşık yarım saat sonra tüm vücudunda uyuşma olan 28 yaşında bir erkek hastanın (ilaç ya da alkol kullanımı olmayan) uyanık ve iletişime açık olduğunu, solunum ve dolaşımının normal olduğunu, ancak vital bulgularda; kan basıncının 89/51 mmHg, nabzının 48 atım/dk, solunum hızının 24 soluk/dk, oksijen satürasyonunun %92 ve vücut ısısının 36^{o}C olduğunu bildirmiştir. Hastaya tedavi için 2 lt izotonik sodyum klorür verildiğini, kan ve idrar tetkiklerinin ise normal seviyelerde olduğunu bildirmiştir. Sonuç olarak hastanın orman gülü balından zehirlendiği, tedavisi yapıldıktan kısa bir süre sonra (6 saat) sonra da taburcu edildiği bildirmiştir [118].

Özhan ve ark., (2004) 2002 yılında bal intoksikasyonu olan 19 vakayla retrospektif bir çalışma yapmışlardır. 19 vakanın 15 hastada sinüs bradikardi, 4 hastada AVB tespit ettiklerini bildirmişlerdir. 30-180 mg arasında bal yiyen hastaların tümü 2-9 saat arasında 0.5 mg atropine tedavisine cevap vermiş, 24 saat içerisinde de kan basınçlarının düzeldiği ve normale döndükleri bildirilmiştir [119].

Akıncı ve ark., (2007) 66 yaşındaki bir erkek hastanın orman gülü balı tükettikten kısa bir süre sonra baş dönmesi ve bilinç kaybı yaşadığını, hastanın kan basıncının 70/40 mmHg ve nabzının 35 atım/dk olduğunu bildirmişlerdir. Hastanın EKG'sinde sinüs bradikardi gözlendiğini, tedavisi için 2 mg atropin uygulandığını ve hastanın bu uygulama sonucunda kan basıncının 100/60, nabzının ise 68 atım/dk, troponin-I değerinin de 12.71 ng/ml olduğu bildirmişlerdir [99].

Orman gülü balı tükettikten sonra baş dönmesi ve bulantısı olan 46 yaşındaki bir erkek hastayı inceleyen İnci ve ark., (2007) hastanın sinüs bradikardisinin (28 atım/dk) olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı hastanın tansiyonunun da 80/50 mmHg olduğunu, yoğun bakımda 1 mg atropin ile tedavi edilip 24 saat sonra taburcu edildiğini bildirmişlerdir [25].

Orman gülü balı intoksikasyonu sonucu gelişen senkopu araştıran Tulmaç ve ark., (2008) 54 yaşında kardiyovasküler ve ilaç öyküsü olamayan bir erkek hastayı rapor etmişlerdir. 4-5 yemek kaşığı orman gülü balı yedikten sonra baş dönmesi ve solunum güçlüğü yaşayan hasta baygınlık geçirerek başını çarpıp bilincini kaybetmiştir. 1 mg atropin sülfat uygulanan hastanın kısa bir süre sonra normale döndüğünü bildirmişlerdir.

Araştırmacılar ayrıca bu zaman kadar orman gülü balından zehirlenme vakalarında her hangi bir ölümün olmadığını da vurgulamışlardır [120].

Demircan ise (2009), orman gülü balının cinsellik üzerine etkilerini 21 vaka üzerinde incelemiştir. Çalışmada 2002-2008 yılları arasında orman gülü balı yedikleri için zehirlenen 21 kişiyi incelemiş, zehirlenme belirtilerini ve tedavi yöntemini açıklamış, orman gülü balının cinsellik üzerine faydalı olduğunu bildirmiştir. Zehirlenen 21 kişinin hipotansiyon ve bradikardinin olduğunu, salivasyon, baş dönmesi, kusma ve boğaz yanması belirtilerinin olduğunu, tedavi olarak hastalara 1-0.5 mg atropin uygulandığını, bir hastanın da dopamin ile tedavi edildiğini ve hastaların 18-48 saat sonra taburcu edildiğini bildirmiştir. Orman gülü balının 41-60 yaşlarındaki 13 hastada cinsel gücü artırıcı etkilerinin olduğunu bildirmiştir [33].

Orman gülü balından 3-4 çorba kaşığı yedikten 2 saat sonra zehirlenen 51 yaşındaki erkek hastayı inceleyen Köseoğlu ve ark., (2009) hastanın baş dönmesi, bulantı, fenalık hissi ve baygınlık hali olduğunu bildirmişlerdir. Hastanın kan basıncının 80/50 mmHg, kalp atımının 45 atım/dk, ateşinin 36.80^{o}C ve solunumunun 32/dk olduğunu, biyokimyasal değerlerinde herhangi özel bir durumun olmadığını ve hastanın tedavisinde 2 mg atropin kullanıldığını ve hastanın 16 saat sonra taburcu edildiğini bildirmişlerdir [120].

Söğüt ve ark., (2009) 42 yaşındaki erkek hastanın 2-3 yemek kaşığı orman gülü balı yedikten 2 saat sonra baş dönmesi, halsizlik ve titreme şikayetlerinin olduğunu ancak geçmişinde kalp rahatsızlığı olmadığı halde EKG'sinde sinüs bradikardisinin görüldüğünü bildirmişlerdir. Şuuru açık olan hastanın 1 mg atropin ve izotonik sodyum klorür çözeltisiyle tedavi edildiğini, 24 saat sonra tüm bulguların normale döndüğünü bildirmişlerdir [97].

Nedeni saptanamayan toksik hepatit olgularda orman gülü balına dikkatin çekilmesini amaçlayan Çetin ve ark., (2009) göğüs ağrısı, bulantı, kusma ve terleme şikayetleri olan 43 yaşındaki erkek hastanın 10 yıldır insüline bağımlı diabetus mellitus öyküsünün olduğunu, bal tükettikten sonra şikâyetlerinin olduğunu ve klinik muayenede kalp hızının 88 atım/dk, kan basıncının 140/93 mmHg ve parmak ucu kan şekerinin de 210 mg/dl olduğunu, ayrıca hastanın taşikardisinin olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar hastanın atropin ile tedavi edildiğini ve tedavi sonucunda normale döndüğünü bildirmişlerdir [122].

Orman gülü balından 2-3 kaşık yediği için zehirlenen, baş dönmesi ve halsizlik şikayetler olan 60 yaşındaki erkek hastayı rapor eden İçme ve ark., (2010) 500 cc % 0.9 NaCl ile tedavisi yapılanan hastanın 7 saat sonra normale döndüğünü ve taburcu edildiğini bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar, orman gülü balında bulunan grayanotoksinin sodyum kanallarını bloke ederek kardiyak sistemde bradikardiye sebep olduğunu vurgulamış, orman gülü balının tüketiminde dozun önemli olduğunu bildirmişlerdir [123].

Hancı ve ark., (2010) 2006-2009 yılları arasında Zonguldak'ta orman gülü balı zehirlenme vakası bildirilen 72 olgu raporunun analizini yapmışlardır. Araştırmacılar, orman gülü balı zehirlenmesinin tipik belirtilerinin bulantı, kusma, fenalık hissi, baygınlık hissi, boğazda yanma, derin bradikardi, hipotansiyon, kramp tarzı karın ağrıları, salivasyon, kızarıklık, görme bulanıklığı veya geçici körlük, kaşınma hissi, baş dönmesi ve terleme olduğunu vurgulamışlardır. Tipik zehirlenme tablosunun gastrointestinal sistemde, kardiyak sistemde ve sinir sisteminde olduğu bildirmişlerdir. Orman gülü balında bulunan 18 grayanotoksinden GTX I'in kardiyak sistem üzerine en çok etki eden tipin olduğunu, GTX II'nin sinoatriyal düğümdeki spontan atımı baskılama özelliğine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Grayanotoksinin, sodyum kanallarına bağlanarak, bu kanalları inaktif hale getirdiğini bildirmişlerdir. Hancı, daha önceden sağlıklı olan ve açıklanamayan bradikardi ve hipotansiyon gibi bulguları olan olgularda orman gülü balı zehirlenmesinin akılda tutulması gerektiğini bildirmişlerdir [124].

Bayram ve ark., (2011) 36 yaşında bradikardi, hipotansiyon ve atrial fibrilasyonu olan bir erkek hastada, fibrilasyonun orman gülü balı zehirlenmesi ile ilişkili olduğunu ortaya koymuşlar; tedavinin atropin ve izotonik sodyum klorür ile yapıldığını bildirmişlerdir [125].

Yaylacı ve ark., (2011) orman gülü balından zehirlenen 63 yaşındaki kadın hastayı inceledikleri olguda, hastanın, orman gülü balı tükettikten yaklaşık 2 saat sonra baş dönmesi, bulantı, nefes darlığı ve terleme şikâyetleriyle acil servise başvurduğunu, hastanın klinik bulgularında kalp atımının 40 atım/dk, kan basıncının 60/40 mmHg olduğunu; hastanın izotonik sodyum klorür çözeltisi içinde verilen 1 mg atropin uygulaması ile normale döndüğünü ve 16. saatte taburcu edildiği bildirmişlerdir [126].

Alp ve ark., (2012) 79 yaşında bal tüketimini takiben zehirlenen erkek hastada, hastanın orman gülü balı yedikten yaklaşık 1 saat sonra fenalaştığını, kan basıncının 50/30 mmHg, kalp hızının 36 atım/dk ve solunum sayısının 28/dk olduğunu; 0.5 mg atropin uygulanan hastanın kısa bir süre sonra taburcu edildiğini bildirmişler; orman gülü balı tüketilmesinde zehirlenme şiddetinin doza bağlı olarak arttığını, bu nedenle orman gülü balınını bilinçli olarak tüketilmesi gerektiğini vurgulamışlardır [127].

Binnetoğlu ve ark., (2012) ise bir yemek kaşığı orman gülü balı yedikten sonra fenalaşan 46 yaşındaki bir erkek hastanın muayenesinde kan basıncının 80/50 mmHg, kalp atışının 40 atım/dk olduğunu ve kalbinde üfürümünün olmadığını bildirmişler; atropin uygulanmasını takiben hastanın 72 saat sonra normale döndüğünü ve taburcu edildiğini bildirmişlerdir [128].

Şahin ve ark., (2013) baş dönmesi olan 35 yaşındaki bir erkek hastayı rapo etmişler, hastanın bir tatlı kaşığı orman gülü balı tükettikten 1.5 saat sonra kusma, bulantı, baş dönmesi, halsizlik, ellerde uyuşma ve göz kararması şikayetlerinin olduğunu, tedavide hastaya 0.5 mg atropin uygulandığı ve 24 saat sonra da hastanın taburcu edildiği bildirilmiştir [129].

Atik ve ark., (2013) terleme, kusma, bulantı ve halsizlik şikayetleri olan, bradikardi ve hipotansiyon tespit ettikleri 5 hastadalarında 1 mg atropin tedavisi uyguladıklarını, hastalarının 12-24 saat arasında normale döndüklerini ve taburcu edildikleri bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar, orman gülü balından 30-180 mg tüketerek zehirlenen bu 5 hastada herhangi bir patolojik bulgunun olmadığını da bildirmişlerdir [130].

Yengil ve ark., (2013) orman gülü balından zehirlenen bir aileyi rapor etmişlerdir. 35 yaşındaki anne, 38 yaşındaki baba, 5 ve 10 yaşlarındaki iki kız çocuğu orman gülü balı tükettikten yaklaşık 2 saat sonra karın ağrısı, bulantı, baş dönmesi, halsizlik ve kusma şikâyetleri olan anne ve babada bradikardi ve hipotansiyon gözlendiğini, hastaların 1 mg atropin tedavisiyle normale döndüklerini bildirmişlerdir [131].

2. MATERYAL ve YÖNTEM

2.1. Bal Örneklerinin Toplanması

Çalışmada bal örnekleri Bartın, Şalpazarı, Göreli, Kastamonu, Rize, Düzce, Yığılca, Yığılca-Redifler bölgelerinden toplandı (Tablo 2.1.). Petek halinde alınan bal örnekleri süzüldü. Balın toplandığı yörenin adı, toplandığı tarih not edildi ve etiketlendi. Örnekler Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nde Biyoloteknoloji Laboratuarında analiz edilinceye kadar muhafaza edildi.

Tablo 2.1. Orman gülü bal örneklerinin toplandığı yöreler

Örnek no	Alındığı bölge
OG-1	Bartın
OG-2	Şalpazarı
OG-3	Sisdağı- Göreli (Trabzon)
OG-4	Kastamonu
OG-6	Rize
OG-7	Düzce
OG-8	Düzce
OG-9	Yığılca
OG-10	Yığılca-Redifler (Düzce)
OG-11	Düzce

OG: orman gülü

2.1.1. Bal Örneklerinin Preparatlarının Hazırlanması

Ballarda polen analizi Woodhouse yöntemi modifiye edilerek yapıldı [132]. Kavanozlar içerisine süzülmüş olarak konan ballar 40-45^{0}C'lık su banyosunda akışkan hale gelene kadar bekletildi. Bir baget yardımıyla bal iyice karıştırılarak homojen hale getirildi. Homojen hale gelen bal örneklerinden 5'er gram hassas terazide tartılarak steril tüp içerisine alındı. Tüp içerisine 10 ml distile su ilave edildi. Tüplerdeki bal ve suyu

homojen hale getirmek için tekrar 40-45^{0}C'lık su banyosunda bekletildi. Tüpler yavaş ve dikkatli bir şekilde ters düz edilerek balın erimesi sağlandı. Daha sonra tüpler 6000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi. 20 dakika sonra tüplerdeki suyu mikropipepet yardımıyla alındı ve üzerine 10 ml distile su ilave edilerek tüpler tekrar 6000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi. İkinci santrifüjden sonra alınan tüplerin suyu dikkatli bir şekilde mikropipetle çekildi. İğne ile yaklaşık olarak 1 cm^2'lık gliserin-jelatin alındı ve tüp içerisindeki çökeltinin bir miktarı alındı. Alınan örnek temiz bir lama alındı ve ısıtılmış hot-plate üzerinde eritildi. İğne yardımıyla örneğin dağılımı yapıldı ve üzerine lamel kapatıldı. Preparat etiketlenerek ters çevrilmek suretiyle kurutulmaya bırakıldı. Preparatlar incelenerek sayılan polenler bala kaynak oluşturan bitkiler açısından dominant (> %45), sekonder (%21-49), minor (%6-20) ve eser (%1-5) olarak sınıflandırıldı [132,133].

2.1.2. GTX'in Hazırlanışı

Yapılan bir projede 50 orman gülü balında bulunan GTX miktarı 1.33-14 mg/kg aralığında bulunmuştur [134]. Başka bir çalışmada ise bu aralık 0.377-6.882 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Bu veriler esas alınarak orman gülü ballarında bulunan GTX miktarı ortalama olarak hesap edilmiş, 1 mg GTX 2 ml izotonik sodyum klorürde çözülerek 0.015 mg/kg olacak şekilde verilmiştir [Şahin, basılmamış veri].

2.1.3. Safraninli Gliserin Jelatin Hazırlanması

Jelatin plaklar 2-3 saat distile suda bırakıldı. 1 ölçü jelatin 1.5 ölçü gliserin ile karıştırılarak, safranin ilave edildi. Küflenmeye engel olmak için %2-3 oranında asit fenik ilave edildi. Bu karışım 80°C'i kadar ısıtıldı. Belli bir kıvamda temiz petri kaplarına dökülerek soğumaya bırakıldı [135].

2.1.4. *Rhododendron* Polenlerinin Işık Mikroskobu ile Görüntülenmesi Yöntemi

Hazırlanan bal örneğinin preparatları Nicon Eclipse E400 marka ışık mikroskobuyla incelendi. Rhododendron polenlerini sayımı ve teşhisi için 10x büyütmeli oküler ve 24x24 mm'lik lameller kullanıldı. Preparatların mikroskop analizinde tüm lamel alanı taranarak ormangülü polenleri belirlendi ve sayımı yapıldı. Rhododendron poleni olmayanlar ise "diğer polenler" diye adlandırılarak familyaları belirlendi ve sayımları yapıldı. *Rhododendron* spp. polenleri Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji

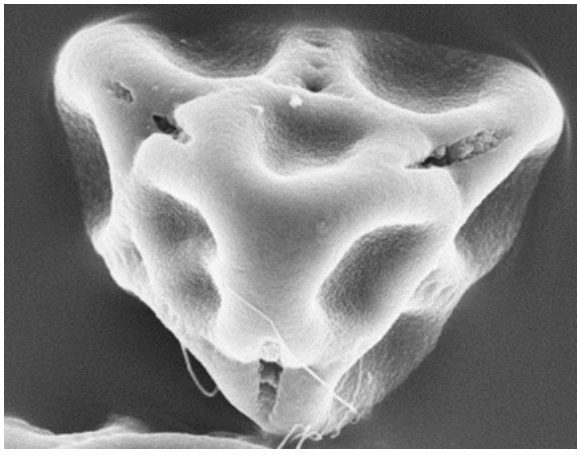
Bölümü laboratuarında bulunan bilgisayar donanımlı BH2 model Olympus marka ışık mikroskop ile fotoğraflandı.



Şekil 2.1. *Rhododendron* poleninin ışık mikroskopi görüntüsü (10 µm)

2.1.5. *Rhododendron* Polenlerinin Taramalı Elektron Mikroskobu ile Görüntülenmesi Yöntemi

Rhododendron polenlerinin Taramalı Elektron Mikroskobu çalışmaları için Erciyes Üniversitesi Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (TEKMER) 'nde bulunan Leo 440 marka Bilgisayar Kontrollü Dijital SEM (Scanning Electron Microscope) kullanıldı. Polenler doğrudan çift taraflı yapıştırıcı ile örnek tutucu aliminyum stub üzerine yapıştırıldı. Püskürtme cihazı (sputtering) ile altın kaplama işleminden sonra görüntüler bilgisayar ekranından incelendi ve *Rhododendron* polenlerinden en iyi olan görüntüler seçilerek kayıt edildi.



Şekil 2.2. *Rhododendron* poleninin Taramalı Elektron Mikroskobu görüntüsü

2.2. Ratlarda Toksisite Çalışmaları

2.2.1. Ratlarda Orman Gülü Balı ve GTX Uygulaması

Çalışmada ortalama 360 gr ağırlığında, 60 adet *Wistar albino* cinsi erkek rat kullanıldı. Ratlar Erciyes Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırmalar Merkezinde (DEKAM) ışıklandırması 12 saat aydınlık-12 saat karanlık (19:00-7:00 saatleri arası karanlık), havalandırması (% 60-70 nem), oda ısısı (20-24 ºC) kontrol edilen odalarda tutuldu. Araştırmada her grupta 12 rat bulundurulan 5 grup oluşturuldu.

1. gruptaki (kontrol grubu) ratlara 1 ml izotonik sodyum klorür çözeltisi gavajla mideye verildi. 2. gruptaki ratlara 0.015 mg/kg GTX III (1 mg GTX 2 ml izotonik sodyum klorür çözeltisinde çözüldü, her rata 1 ml şeklinde çözelti verildi) gavaj yoluyla verildi. 3., 4., ve 5. gruptaki ratlara OG-3 kodlu (6.892 μg GTX III / g bal) bal verilmiştir [Şahin, basılmamış veri]. Balın grayanotoksin III içeriği Komarova ve ark., (2009) belirtilen yönteme göre yapıldı. Belirtilen bu baldan 3. gruba 0.15 g/kg ca, 4. gruba 0.5 g/kg ca, 5. gruba ise 2.5 g/kg ca gavajla mideye verildi (Şekil 2.3).



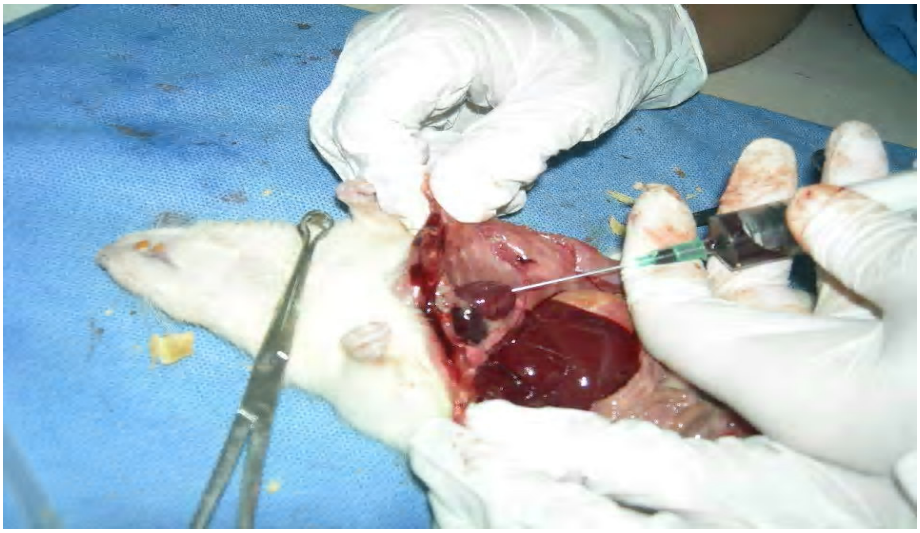
Şekil 2.3. *Wistar albino* ratlara bal verilmesi (gavaj)

Uygulamalardan 1 saat sonra tüm gruptaki ratlar ketamin (100 mg/kg) + ksilazin (20mg/kg) uygulaması ile anestezi edildi (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. *Wistar albino* ratlara anestezi uygulaması

Cerrahi uygulama öncesi ratlarda ayağı geri çekme ve göz kırpma refleksleri kontrol edildi. Anestezisiye giren ratlar steril skalplar üzerine yatırılırdı ve dört ekstremitesinden sabitlendi. Ratlara bistüri yardımı ile alt batın orta hattına kesi yapıldı ve makas yardımı ile cilt-cilt altı dokusu kesildi. Kesi toraksa kadar uzatılarak peritondan ayrılan cilt-cilt altı dokusu sağ ve sol tarafa tutturuldu. Göğüs kafesi açmak için, sternum alt ucundan ve sternumun her iki yanından kosto kondral bileşkeler boyunca yukarıya doğru kesi yapıldı. Ratların kalbinden 10ml'lik M enjektör ile 15 ml kan örneği jelli tüplere alındı (Şekil 2.5). Tüpler 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek serumları ependorf tüplere alındı. Serum örnekleri analiz zamanına kadar – 80 C'lik derin dondurucuda saklandı.



Şekil 2.5. Hayvanın kalbinden kan örneğinin alınması

Batın içi organlar makroskobik olarak gözlendi ve organlar çıkarıldı. Çıkarılan karaciğer, kalp, testis, dalak ve böbrek doku örnekleri % 10'luk formaldehit içerisine alındı. Diğer kısımlar etik koşullara uygun olarak tıbbi atık poşetine konuldu.



Şekil 2.6. Hayvanın dokularının alınışı

Kan örneklerinin biyokimyasal analizleri Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuarında yaptırıldı. Serum örneklerinde açlık glikozu, trigliserid, kolesterol, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol, kreatinin, ürik asit, P, Mg, Na, Cl, Ca, K, total bilirubin, GGT (GABA-glutamil transferaz), LDH (laktat dehidrogenaz), AST (aspartat transaminaz), ALT (alanin transaminaz), ALP (alkalen fosfotaz), total protein, CPK (kreatin fosfakinaz), kan gazları, pseudokolinesteraz ve tam kan sayımı analizleri yapıldı.

Doku örneklerinin analizleri ise Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuarında yapıldı. Dokuların histopatolojik incelenmesinde örnekler parafine gömüldü. Elde edilen parafin bloklarından 5-6 µm kalınlığında kesitler alındı ve hazırlanan preparatlar Periodic Ascid Schiff (PAS) boyaması yapılarak incelendi.

3. BULGULAR

3.1. Melissopalinolojik Bulgular

Karadeniz bölgesinin bazı bölgelerinden (Bartın, Şalpazarı, Göreli, Kastamonu, Rize, Düzce, Yığılca, Yığılca-Redifler) toplanan orman gülü balları polen analizleri için incelendi. Bala kaynak oluşturan bitkilerin dominant (>%45), sekonder (%21-49), minor (%6-20) ve eser (%1-5) miktarındaki katkısı saptandı [141]. *Rhododendron* polenleri dışında Fagaceae, Apiaceae, Asteraceae, Fabaceae, Rosaceae familyalarına ait polenler gözlendi. Analizlerde OG-1, OG-2, OG-3, OG-4 ve OG-6 kodlu balların orman gülü balı olduğu; OG-7, OG-8, OG-9, OG-10 ve OG-11 kodlu balların ise multifloral ballar olduğu sonucuna varıldı. Ratlarda toksisite çalışmasında en yüksek miktarda *Rhododendron* poleni içeren OG-3 kodlu orman gülü balı kullanıldı. Sayımlar sonucu elde edilen veriler tablolar halinde verildi (Tablo 3.1.).

Tablo 3.1. Karadeniz Bölgesinin bazı bölgelerinden toplanan orman gülü ve multifloral balların polen analiz sonucu

Kod	*Rhododendron* Polen sayısı	Diğer polen sayısı	Toplam polen	*Rhododendron* polen yüzdesi
O.G-1	623	445	1063	58.33
O.G-2	106	87	193	54.92
O.G-3	1579	788	2367	66.71
O.G-4	2960	1601	4561	64.89
O.G-6	840	705	1545	54.37
O.G-7	294	1505	1799	16.34
OG-8	97	473	570	17
OG-9	24	383	407	5.50
OG-10	45	355	400	11.25
OG-11	48	3741	3789	1.27

■O.G: Orman gülü

3.2.Ratlarda Biyokimyasal Bulgular

Analiz edilen biyokimyasal parametreler aşağıdaki tablolarda verildi.

Tablo 3.2. Kontrol ve deney gruplarındaki glukoz, trigliserit, kolesterol ve total protein seviyeleri

Gruplar [A]	Glukoz (mg/dL)	Trigliserit(mg/dL)	Kolesterol(mg/dL)	Total protein (g/dL)
Grup 1	295.71±23.70[abc]	122.86±20.66	59.57±4.57	5.63±0.15
Grup 2	333.00±22.38[c]	139.00±7.62	66.83±3.00	5.83±0.11
Grup 3	229.5±25.97[a]	144.83±13.51	66.67±2.16	5.67±0.16
Grup 4	246.17±31.92[ab]	123.67±18.34	61.33±2.08	5.85±0.18
Grup 5	325.14±26.03[bc]	145.71±9.63	66.43±3.40	5.56±0.13

[a,b,c] Aynı satırdaki farklı harfler farklı istatistiksel olarak farklılık gösteren grupları temsil etmektedir (P<0.05).

[A] Grup 1, kontrol; grup 2, 0.015 mg/kg GTX; grup 3, 0.15 g/kg OG; grup 4, 0.5 g/kg OG; grup 5, 2.5 g/kg OG (orman gülü balı).

Kontrol ve deney gruplarındaki glukoz, trigliserit, kolesterol ve total protein bulgularında trigliserit, kolesterol ve total protein seviyelerinde gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Ancak glukoz seviyesinde kontrol grubuna göre; grup 3 ve grup 4'te azalma görülürken, grup 2 ve grup 5'te artma görülmüştür (Tablo 3.2).

Tablo 3.3. Kontrol ve deney gruplarındaki ürik asit, AST, ALT, ALP ve LDH seviyeleri

Gruplar	Ürikasit (mg/dL)	AST (U/L)	ALT(U/L)	ALP (U/L)	LDH (U/L)
Grup 1	2.43±0.51	125.57±16.27	64.86±4.03	305.14±42.22	969.57±217.9[ab]
Grup 2	1.90±0.04	101.67±7.61	54.83±1.59	264.83±20.15	1043.33±96.8[ab]
Grup 3	2.05±0.16	123.00±7.12	66.67±5.47	361.50±42.50	758.29±78.6[a]
Grup 4	1.97±0.07	130.50±15.27	67.83±6.57	332.67±20.44	1056.83±68.5[ab]
Grup 5	2.34±0.25	95.71±4.50	63.14±2.60	314.86±21.60	1307.50±83.9[b]

[a,b,c] Aynı satırdaki farklı harfler farklı istatistiksel olarak farklılık gösteren grupları temsil etmektedir (P<0.05).

[A] Grup 1, kontrol; grup 2, 0.015 mg/kg GTX; grup 3, 0.15 g/kg OG; grup 4, 1.5 g/kg OG; grup 5, 2.5 g/kg OG.

Kontrol ve deney gruplarındaki ürik asit, AST, ALT, ALP ve LDH bulgularında ürik asit, AST, ALT ve ALP seviyelerinde gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Ancak LDH seviyesinde kontrol grubuna göre grup 3'te azalma görülürken, grup 2, 4 ve 5'te yükselme görülmüştür (Tablo 3.3).

Tablo 3.4. Kontrol ve deney gruplarındaki Ca, Na, P ve Cl sevileri

Gruplar	Ca (mmol/L)	Na (mmol/L)	P (mmol/L)	Cl (mmol/L)
Grup 1	10.41±0.23	134.86±3.01	9.73±0.50^{c}	97.43±2.23
Grup 2	10.08±0.14	138.50±1.61	9.37±0.53^{bc}	99.50±1.41
Grup 3	10.17±0.19	134.50±1.78	7.36±0.54^{a}	97.50±1.20
Grup 4	9.97±0.29	132.83±3.55	8.10±0.36^{ab}	98.00±2.52
Grup 5	10.30±0.24	133.43±1.72	9.54±0.35^{c}	98.14±1.26

^{a,b,c} Aynı satırdaki farklı harfler farklı istatistiksel olarak farklılık gösteren grupları temsil etmektedir ($P<0.05$).

^{A} Grup 1, kontrol; grup 2, 0.015 mg/kg GTX; grup 3, 0.15 g/kg OG; grup 4, 1.5 g/kg OG; grup 5, 2.5 g/kg OG.

Kontrol ve deney gruplarındaki Ca, Na, P ve Cl bulgularında Ca, Na ve Cl seviyelerinde gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Fakat P seviyesinde kontrol grubuna göre tüm gruplarda azalma görülmüştür (Tablo 3.4).

Tablo 3.5. Kontrol ve deney gruplarındaki Mg, K, BUN, Kreatin ve Total bilirubin

Gruplar	Mg(mmol/L)	K(mmol/L)	BUN (mg/dl)	Kreatin (mg/dL)	Total bilirubin (mg/dl)
Grup 1	1.41±0.90	6.53±0.41	15.00±1.21^{a}	0.55±0.02^{ab}	0.13±0.02^{a}
Grup 2	1.38±0.05	6.25±0.28	18.50±0.89^{b}	0.57±0.01^{b}	0.19±0.02^{b}
Grup 3	1.40±0.05	6.63±0.43	14.86±0.91^{a}	0.53±0.02^{ab}	0.20±0.01^{b}
Grup 4	1.30±0.04	7.10±0.29	15.00±0.58^{a}	0.51±0.02^{a}	0.18±0.02^{b}
Grup 5	1.40±0.04	6.59±0.29	18.00±0.73^{b}	0.53±0.01^{ab}	0.17±0.02^{ab}

^{a,b,c} Aynı satırdaki farklı harfler farklı istatistiksel olarak farklılık gösteren grupları temsil etmektedir ($P<0.05$).

^{A} Grup 1, kontrol; grup 2, 0.015 mg/kg GTX; grup 3, 0.15 g/kg OG; grup 4, 1.5 g/kg OG; grup 5, 2.5 g/kg OG.

Kontrol ve deney gruplarındaki Mg, K, BUN, Kreatin ve Total bilirubin bulgularında Mg ve K değerlerinde gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Fakat BUN, Kreatin ve Total bilirubin sevilerinde gruplar arasında farklılıklar gözlenmiştir. BUN seviyesinde kontrol grubuna göre grup 3 ve grup 4'te azalma, grup 2 ve 5'te yükselme görülmüştür. Kreatin seviyesinde kontrol grubuna göre grup 3, 4 ve 5'te azalma, grup 2'de artma gözlenmiştir. Total bilirubin seviyesin de ise kontrol grubuna göre tüm gruplarda yükselme gözlenmiştir (Tablo 3.5).

Tablo 3.6. Kontrol ve deney gruplarındaki HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, CPK ve Pseudokolinesteraz seviyeleri

Gruplar	HDL-kolesterol (mg/dL)	LDL-kolesterol (U/L)	CPK (U/L)	Pseudokolinesteraz (U/L)
Grup 1	23.43±0.84	15.26±2.80	899.57±53.38	241.14±5.96
Grup 2	25.33±1.02	13.70±1.00	1007.67±95.41	243.83±13.50
Grup 3	26.00±1.41	13.77±1.95	779.50±62.13	240.00±12.30
Grup 4	23.33±0.49	14.27±3.08	718.17±78.82	243.14±13.49
Grup 5	25.57±0.95	14.91±1.71	645.29±38.55	244.67±15.99

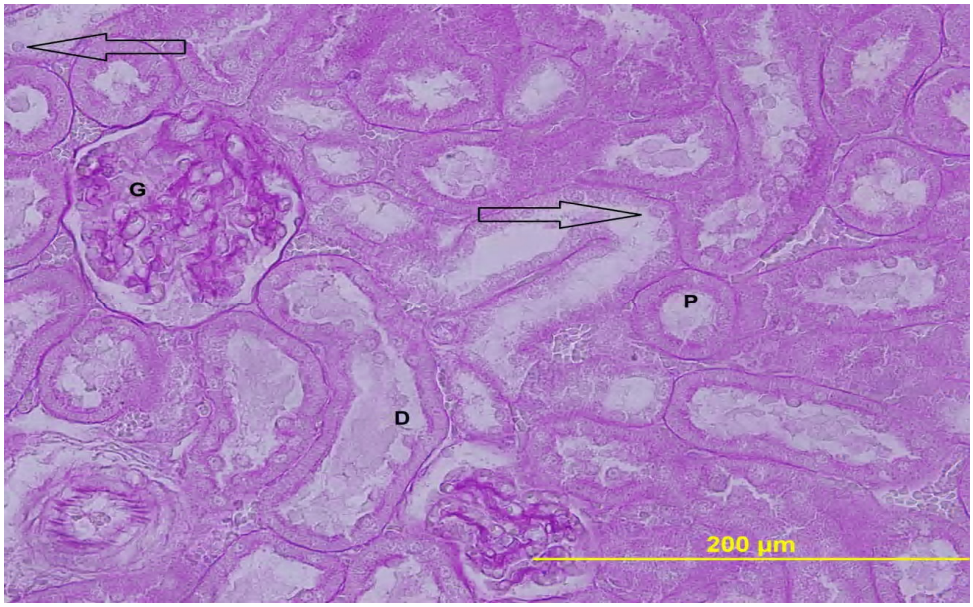
[a,b,c] Aynı satırdaki farklı harfler farklı istatistiksel olarak farklılık gösteren grupları temsil etmektedir ($P<0.05$).

[A] Grup 1, kontrol; grup 2, 0.015 mg/kg GTX; grup 3, 0.15 g/kg OG; grup 4, 1.5 g/kg OG; grup 5, 2.5 g/kg OG.

Kontrol ve deney gruplarındaki HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, CPK ve Pseudokolinesteraz bulgularında anlamlı farklılık gözlenmemiştir (Tablo 3.6).

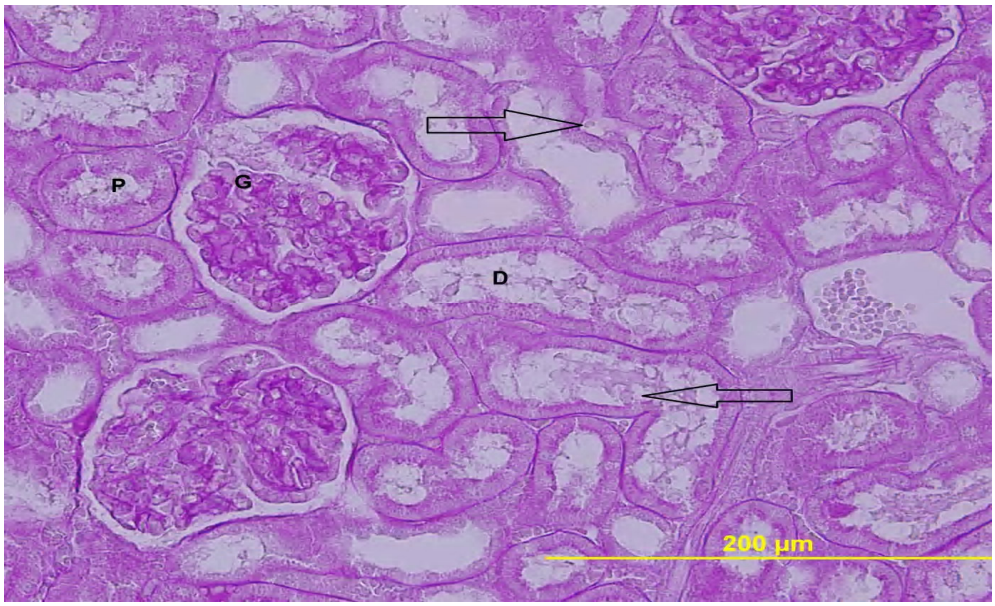
3.2. Ratlardaki Histopatolojik Bulgular

Böbrek dokularında histopatolojik bulgular değerlendirildiğinde grup 5'de, PAS boyaması yapılmış kesitler ışık mikroskobik düzeyde incelendiğinde glomerüllerin sağlıklı göründüğü izlendi. Ancak proksimal tubuluslarda lümen sınırlarını oluşturan kübik hücrelerin kısmi dejenerasyonuna bağlı olarak lümende genişleme; distal tubuluslarda ise belirgin hücre kaybı (ok işareti) gözlendi (Şekil 3.1.).



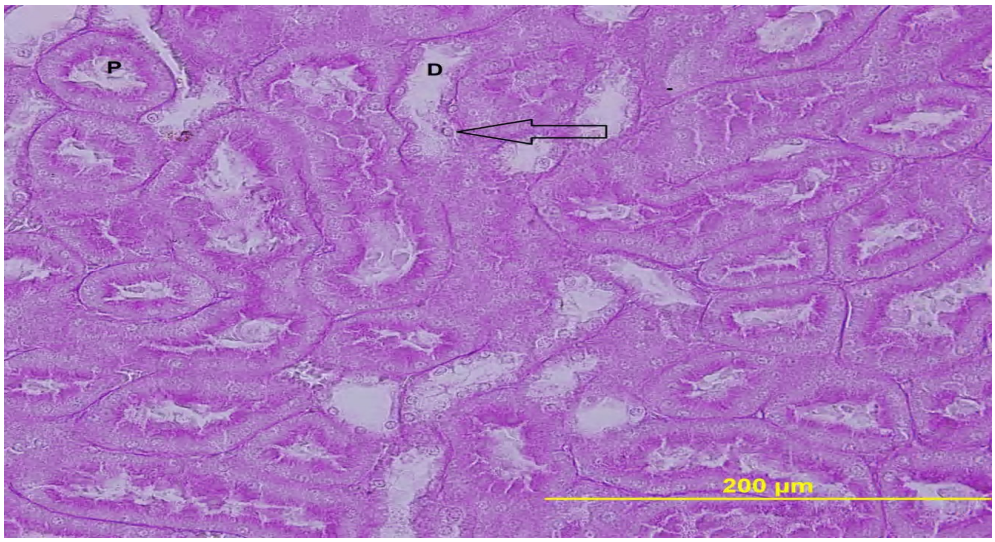
Şekil 3.1. X40 a4 pas1 (grup-5 böbrek dokusu) G: glomerül D: distal tubulus P:proksimal tubulus

Grup 4'de PAS boyalı böbrek kesitlerinde glomerüller sağlıklı yapıda izlenmekle birlikte özellikle distal tubuluslardaki hücre kaybının (ok işareti) azalarak devam ettiği görüldü (Şekil 3.2.).



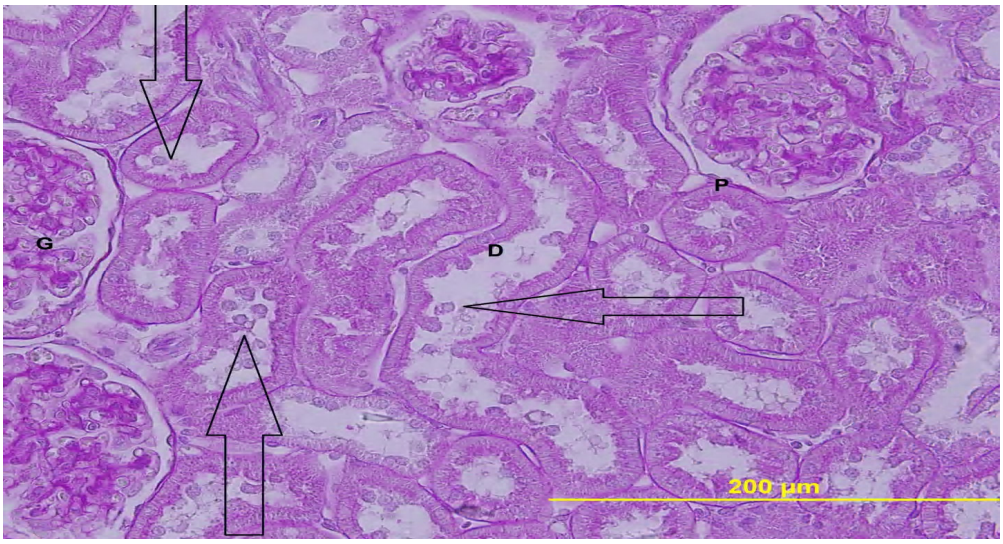
Şekil 3.2. X40 b7 pas1(grup-5 böbrek dokusu) G: glomerül D: distal tubulus P:proksimal tubulus

Grup 3'de, PAS boyası uygulanmış böbrek kesitlerinde glomerüller ve proksimal tubulus yapıları normal görünümdeydi. Ancak distal tubuluslardaki hücre kaybının (ok işareti) az da olsa devam ettiği görüldü (Şekil 3.3.).



Şekil 3.3. X40 c2 pas1(grup-5 böbrek dokusu) G: glomerül D:distal tubulus P:proksimal tubulus

Grayanotoksin (GTX) uygulanmış gruptaki (Grup 2) PAS boyalı böbrek kesitlerinde glomerüllerin sağlıklı bir yapıda olduğu izlendi. Ancak proksimal ve özellikle distal tubuluslarda belirgin hücre kayıpları (ok işareti) ve lümen içine dökülen hücre çekirdekleri gözlendi (Şekil 3.4.).



Şekil 3.4. X40 gtx2 pas1(grup-5 böbrek dokusu) G: glomerül D:distal tubulus P:proksimal tubulus

4. TARTIŞMA-SONUÇ

Türk halkı arasında "deli bal" olarak bilinen orman gülü balı Nepal, Brezilya, Japonya ve Türkiye'nin Karadeniz Bölgesinde üretilmektedir. Yüksek miktarda grayanotoksin içermesiyle bilinen bu bal fazla tüketilmesi durumunda tüketildikten yaklaşık 1 saat sonra fenalaşma hissi, karın ağrısı, baş dönmesi, halsizlik, aşırı terleme, mide bulantısı, kusma gibi zehirlenme belirtileri göstermekte, bradikardi ve hipotansiyona sebep olmaktadır. Bazı zehirlenmelerde de kordinasyon kaybı ve ilerleyen kas zayıflığı da görülmektedir [130]. Zehirlenmeye ait belirtiler grayanotoksinin hücre duvarındaki sodyum kanallarını bloke etmesiyle gerçekleşmektedir. Hücre zarında sodyum geçirgenliğinin artmasıyla repolarizasyon inhibe olmakta ve hücre membranı depolarizasyon süresi uzamaktadır. Sürekli depolarizasyon hali aksiyon potansiyelini azaltmakta ve sinüs nodu disfonksiyonuna yol açtığı bildirilmektedir [105,130].

Orman gülü balı zehirlenmesiyle ilgili çok sayıda vaka takdimi bulunmaktadır. Ülkemizde ilk araştırmalar 1938'de Bucak ve 1941'de Ungan tarafından yapılmıştır. Her iki araştırmacı da balları mikroskobik olarak incelemiş ve Rhododendron polenlerini tespit etmiştir. Araştırmacılar ballarda renk ayıracı olarak kullanılan andromedotoksini belirlemişlerdir. 1949'da Pulewka laboratuvar hayvanları üzerinde toksik balın etkilerini gözlemlemiş ve biyolojik araştırmalar yapmış, *R. luteum* ve *R. ponticum* ballarını diğer çiçek ballarıyla kıyaslamıştır [36]. Sütlüpınar, 1983 ile 1988 yılları arasında Kartal Hastanesine başvuran 11 bal zehirlenme vakasının teşhisi ve tedavisi incelenmiştir. Teşhiste balın mikroskobik incelenmesi yapılarak Rhododendron polenleri araştırılmış ve kromatografi yöntemi de uygulanarak balın analizi yapılmıştır. Hastalar 100 gram ve üzeri bal tüketmişlerdir. Zehirlenme belirtileri 30 dakika ve 2 saat arasında ortaya çıkmıştır. Hipotansiyon ve bradikardi gelişmiş ve hastaların tedavisinde glukoz, atropin ve eletrolit içerikli infüzyonlar uygulanmıştır [32].

Yavuz ise 1983-1986 yılları arasında Karadeniz Bölgesi'nde 23 bal zehirlenme vakası bildirmiştir. 23 hastanın yaşları 7 aylık bir bebek ile 61 yaş arasında değişiklik

göstermiştir. Hastaları tok bal tüketme oranı 2 çay kaşığı ile 5 yemek kaşığı arasında olmuştur. Hastalarda zehirlenme belirtileri yarım saat sonra ortaya çıkmış, bu belirtiler kusma, terleme, halsizlik, düşük tansiyon ve bradikardi şeklindedir. Elektrokardiyografide 16 hastanın % 63'ü bradikardiye, % 31'i birleşik ritim ve %6'sının tamamen atriyoventriküler blokaj ile % 6'sının Wolff-Parkinson-White sendromuna sahip olduğu bildirilmiştir. Serum, atropin ve vazopresör ilaçlar verilerek tedavi edilen hastalar, 1-2 gün gün içinde iyileşmiştir [136]. Elde edilen literatür bilgilerine göre orman gülü balı zehirlenmesinde tüketilen balın miktarı önemlidir. Toksikasyon dozla doğru orantılıdır.

Orman gülü balı zehirlenmesi, hayvanlarda da benzer belirtiler göstermektedir. Toksik bal ile ilgili yapılan deneysel çalışmalarda toksik bal verilen deney hayvanlarında, hızlı solunum, salivasyon ve bradikardi gösterdiği tespit edilmiştir. Grayanotoksin I ve III verilen hayvanlarda toksik bal zehirlenmesi belirtileriyle benzer şekilde bradikardi, hipotansiyon ve solunum depresyonu gözlenmiştir. Atropin verilen deney hayvanlarının kan basıncı kısmen düzenlenmiştir. Yapılan çalışmalarda grayanotoksin-I için LD_{50} değeri 1.28 mg/kg ve grayanotoksin-III için 0.908 mg/kg bulunmuştur. Bununla birlikte grayanotoksin-II 4 mg/kg üzerinde toksik etki göstermemiştir [137]. Onat ve ark., (1991) albino ratlara intraperitonal toksik bal ekstraktı enjekte etmişler (1-5 g bal/kg) ve doza bağlı hipotansiyonla bradikardi gözlemişlerdir. Bradikardi kontrole göre % 75'e ulaştığında ratlara atropin sülfat verilmiştir [98]. Aşçıoğlu (1996), grayanotoksinin ratların hepatik ve renal sistemleri üzerinde etkisini 3 aylık deneme süresi boyunca incelemiştir. Deney sonrasında idrar analizleri yapılmış, lökosit, pH, protein, ürobilinojen, glukoz, keton ve nitrit değerlerine bakılmıştır. Çalışma sonucunda ratların idrar analizlerinde idrarda protein (proteinüri), idrarda kan (hematüri) ve keton seviyesinde azalma olduğunu; GPT ve LDH seviyesinin ise arttığını bildirmiştir [102].

Araştırmada kullanılan bal örnekleri arıcıların ifadelerine göre toplanmıştır. Ancak yapılan polen analizinde rhododendron bal örneklerinin farklı oranlarda orman gülü poleni içerdikleri görülmüştür. Çünkü *Rhododendron* çiçeklerinin bal arılarınca ziyaret edilmesi arılık çevresindeki floral çeşitlilik ve yoğunluğa bağlıdır. Özellikle çevrede nektar kaynakları kıt olduğunda bu çiçeklerin nektarı toplanmaktadır. Bu nedenle orman gülü ballarının yüksek oranda polen içermesi başka bir deyişle bal arılarının yoğun olarak bu çiçeklerden nektar toplaması söz konusu değildir. Çünkü bu dönemde kestane ağaçları çiçek açmakta ve bal arısı tercihini bu yönde kullanmaktadır. Nitekim bu

araştırmada da örneklerin yarıya yakını multifloral özellik göstermiştir. Bu sonuç genel olarak orman gülü balı olarak ifade edilen her balın yüksek oranda *Rhododendron* nektarından oluştuğu ve yüksek oranda toksin içerebileceği düşüncesini doğrulamamaktadır.

Araştırmada kullanılan orman gülü balı dozları (0.15, 0.5 ve 2.5 g/kg/vücut ağırlığı) pratik olarak 70 kg bir insan için 7 g (bir çay kaşığı), 35 g (1-2 yemek kaşığı) ve yüksek doz olarak seçilen 175 g (7-8 yemek kaşığı) seçilmiştir. Pozitif kontrol grubu olarak planlanan GTX III verilen grupta doz, daha önce yapılan araştırmalarda çalışılan orman gülü ballarındaki ortalama GTX III miktarı (0.015 mg/kg) göz önünde bulundurularak seçilmiştir.

Biyokimyasal parametrelerden glikoz seviyesi kontrol grubuna göre grup 3 ve 4'te azalma gösterirken, grup 2 ve grup 5'te artış göstermektedir. Grup 3 ve 4'teki bu azalma Salman ve Akbaş'ın (2010) çalışmalarında belirtildiği gibi grayanotoksinin hipoglisemiye yol açtığı bilgisini doğrulamaktadır [138]. Uzun ve ark., (2013) da orman gülü balı ile zehirlenen bir çocuğun ele alındığı olgu sunumunda kan glikozu seviyesinin normal düzeyin altında olduğunu bildirmiştir [139]. Grup 2 ve 5'teki dozun kan glukoz seviyesinde artışa sebebiyet vermesi, grup 2'de 0.015 mg/kg dozda verilen grayanotoksinin ve grup 5'te yüksek düzeyde grayanotoksin içeren bal uygulanmasının sürrenal medulladan adrenalin salgılanmasına yol açması ve dolayısıyla kan glukoz seviyesinin yükselmesiyle açıklanabilir. Gündüz ve ark., (2006) da grayanotoksinin düşük dozlarda alındığında kalpte kolinerjik etkilerle bradikardi ve hipotansiyon yaptığını, yüksek dozlarda alınması durumunda sürrenal medulladan epinefrin salgılatarak taşikardi ve hipertansiyon oluşturduğunu bildirmişlerdir [9]. Yine Gündüz (2008) bir başka çalışamasında hayvanlarda kan glikoz düzeylerinde belirli değişiklikler olmasına rağmen, insanlarda kan glikoz düzeyinde, renal ve hepatik toksisitede önemli etkilerinin olmadığını bildirmiştir [7].

Laktat dehidrogenaz piruvatın laktata çevriminde rol alan bir enzimdir. Kanda yüksek seviyede olması özellikle kalp ve karaciğerde hasarın olduğunu göstermektedir [122]. Bu araştırmada LDH enzim seviyeleri grup 2, 4 ve 5'te kontrol grubuna göre artış gösterirken, grup 3'te azalma olmuştur. Grup 2'de grayanotoksinden, grup 4 ve 5'te verilen orman gülü balının içerdiği grayanotoksinin kısmen daha yüksek olmasından dolayı hücrelerde hasar meydana gelmiş, hücre kaybı histopatolojik incelemelerle de

gösterilmiştir. Çetin ve ark., (2009) orman gülü balı zehirlenmesi vakası ile ilgili olgu sunumunda da LDH enzim seviyesinin normal değerlerin üzerinde olduğu gözlenmiştir [122]. "Deli bal ile ilgili bir olgu raporunda hepatotoksisite yönünden değerlendirilen hastada total bilirubin seviyesinin 2,75 mg/dl ile normal değerlerin üzerinde olduğunu bildirmişlerdir [122]. Çalışmada deneme grupları total bilirubin seviyelerinde kontrol grubuna göre yükselme gözlenmiştir. Çalışma sonuçları Grayanotoksin III'ün doza bağlı olarak LDH düzeyini yükselttiğini göstermektedir. Çalışma gruplarındaki bu değişimler grayanotoksinin ve doğal grayanotoksin içeren orman gülü balının özellikle karaciğer üzerinde olumsuz etkilerinin olduğu düşüncesini desteklemekle birlikte, pek çok olgu sunumunda da değinildiği gibi bu etkinin geri dönüşümlü olabileceğini düşündürmektedir [20, 25, 28, 122].

Kan BUN seviyesindeki yükselmeler böbrek fonksiyon bozuklukları ile ilişkilendirilmektedir [102]. BUN seviyesi bakımından grup 3 ve 4'te kontrol grubundan farklı olmadığı ancak grup 2 ve 5'te kontrol grubundan daha yüksek bir değere sahip olduğu tespit edilmiştir. Grup 2 ve 5'te ratların maruz kaldığı grayanotoksin III miktarının fazla oluşu nedeniyle hafif şiddetli böbrek hasarının oluştuğu ve BUN değerlerinin yükseldiği düşünülmektedir. Eken (2004), orman gülü balı zehirlenmesi ile ilgili bildirdiği vaka takdiminde karaciğer ve böbrek fonksiyon testlerinin normal olduğunu bildirmiştir [118]. Bu durum maruz kalınan grayanotoksin düzeylerinin farklılığı ile ilişkilendirilebilir.

Kan serumunda kreatinin seviyesinin artması da böbrek fonksiyonlarının bozulduğuna işaret etmektedir. Böbrek fonksiyonlarındaki bozukluk böbrek perfüzyonundaki azalma, ya da alt üriner yollardaki tıkanmalara bağlı olarak ortaya çıkabileceği gibi ilaç ve zehirlere maruziyet durumunda da gözlenebilmektedir [102]. Çalışmada deneysel gruplardaki serum kreatinin seviyesinde kontrol grubuna göre önemli farklılıkların olmadığı gözlenmiştir. Böbrekteki histopatolojik bulgular incelendiğinde grup II, IV ve V'de böbrek tubullerinde yer yer hücre kayıplarının olduğu belirlenmiş olsa da, bu durumun normal sınırlarda olduğu gözlenmiştir. Belirtilen sonuçlar gerek tek başına verilen grayanotoksin III'ün (grup II), gerekse belirtilen dozlarda doğal grayanotoksin içeren bal uygulamalarının böbreklerde önemli bir değişime yol açmadığını göstermektedir.

Serum potasyumundaki ve fosfatındaki artış (hiperkalemi) hücre yıkımının arttığı ve böylece hücre içi potasyumun hücre dışı sıvılara geçtiği durumlarda gözlenmektedir. Çalışmamızda potasyum ve fosfat düzeylerinde kontrol grubuna göre deney gruplarında anlamlı farklılıklar olmadığı görülmüştür. Bu nedenle incelenen dozlarda kısmen hücre kayıpları olsa da orman gülü balının önemli oranda hiperkalemiye neden olmadığı söylenebilir.

Araştırma sonucunda grayanotoksinin ve orman gülü balının kullanılan dozlarında biyokimyasal ve histopatolojik parametreler üzerine hafif şiddette etkileri olduğu, mevcut araştırma sonuçları ile birlikte değerlendirildiğinde, değişimlerin geri dönüşümlü olabileceği düşünülmüştür.

Araştırmada saf grayanotoksin III'ün ve farklı oranlarda doğal grayanotoksin içeren orman gülü balının ratlarda biyokimyasal parametreler ve böbrek histopatolojisi üzerine her ne kadar hafif şiddetli etkilere yol açtığı bildirilse de, insanlarda orman gülü balı tüketiminde bilinçli olunmasının gerektiği söylenebilir. Konu ile ilgili yapılan çalışmalar ve bu çalışma sonuçları, grayanotoksinlerin farklı sistemler ve yapılar üzerinde de istenmeyen etkilere yol açabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle grayanotoksinin toksik etkileri ile ilgili daha kapsamlı çalışmaların yapılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKÇA

1. Türk Gıda Kodeksi, Türk Bal Tebliği. **http://2005.www.gkgm.gov.tr/mevzuat/kodeks/2005-49.htlm**, 25/07/2013.

2. Atrous, O.M., Oran, S.A., Al-Abbadi, S.Y., 2004. Chemical analysis and identification of pollen grains from different jordanian honey samples. **International Journal of Food Sience and Technology**, **39**:413-417.

3. Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R.,Gallmann, P., 2011. Honey as nutrient and functional food. **Journal of American College of Nutrition**, **27**:677-689.

4. Molan, P.C., 1992. The antibacterial activity of honey. 1. The nature of the antibacterial activity. **Bee World, 73**:5-28.

5. Molan, P.C., 1992. The antibacterial activity of honey. 2. Variation in the potency of the antibacterial activity**. Bee World, 73**:59-76.

6. Silici S., 2010. Characterization of volatile compounds of Rhododendron honey. **Mellifera, 10**:17-23.

7. Gündüz, A., Tatlı, Ö., Türedi, S., 2008. Geçmişten günümüze deli bal zehirlenmesi. **Türkiye Acil Tıp Dergisi, 8**:46-49.

8. Bölükbaşı, D.N., 2010. Delibalı. **http://www.duzce.edu.tr/dagem/.../Calistay_Sunum_10_DN_BOLUKBASI**, 13/08/2012.

9. Gündüz, A., Sayın, E., Baydın, A., Topbaş, M., Uzun, H., Türedi, S., Kalkan, A., 2006. Mad honey poisoning. **The American Journel of Emergency Medicine**, **24**: 595-598.

10. Karakaya A.E., 1977. Grayanotoxin content of the toxic honey and research on its relation with the Rhododendron. **Journel of Faculty of Pharmacy of Ankara, 7**:11-115.

11. Yilmaz O., Eser M., Sahiner A., Altintop L. And Yesildag O., 2006. Hypotension, bradycardia and syncope caused by honey poisoning. **Resuscitation, 68**:405-8.

12. Koca, I., Koca, A.F., 2007. Poisoning by mad honey: a brief review. **Food and Chemical Toxicology**, **45**:1315-1318.

13. Vural, E., 2003. Deli bal zehirlenmesi. **COBİD Tıp Dergisi**, **2**:3-12

14. Çeter T., Günay K., 2011. Rhododendron and mad honey. **Uludag Bee Journal**, **11**:124-129.
15. Davis P.H., 1978. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. *Rhododendron* L. (ed. P.F. Stevens), Edinburgh, 6: 90-94.
16. Metcalf. and Chalk L., 1979. Anatomy of the Dicotyledons, Systematic Anatomy of the leaf and stem: Vol. I. 2nd Ed. Clarendon Press, Oxford, 62 pp.
17. Heywood, V.H., 1978. Flowering Plants of the World. Oxford University Press, Oxford, 336 pp.
18. Davidian, H.H., 1989. The Rhododendron species. **Timber Press**, Portland Oregon.
19. Suzuki M., Ohba H., 1988. Wood Structural Diversity Among Himalayan Rhododendron. IAWA Bulletin, Leiden, n.s. vol. 9:317-326.
20. Gündüz, A., Sayın, E., Baydın, A., Topbaş, M., Uzun, H., Türedi, S., Kalkan, A., 2009. Does mad honey poising require hospital admission. **The American Journal of Emergency Medicine**, **27**:424-427.
21. Gündüz, A., Durmuş, I., Türedi, S., Nuhoğlu, I., Öztürk, S., 2007. Mad honey poisoning-related asystole. **The American Journal of Emergency Medicine**, **24**:592-593.
22. Başgül, A., 2003. Deli bal zehirlenmesi. **Yoğun Bakım Dergisi, 3**:33-36.
23. Hough, R.L., Crews, C., White, D., Driffield, M., Campbell, C.D., Maltin, C., 2010. Degradation of yew, ragwort and Rhododendron toxins during composting. **Science of the Total Environment**, **408**:4128-4137.
24. Cestele, S., Catterall, A.W., 2000. Molecular mechanisms of neurotoxin action on voltage-gated sodium channels. **Biochimie, 82**:883-892.
25. İnci, S., Gündoğdu, F., Değirmenci, H., Duman, H., Taş, H., 2007. A case of sinusal bradycardia by mad honey toxicity. **The Eurasian Journal of Medicine**, **39**:72-74.
26. Weiss, T.W., Smetana, P., Nurnberg, M., Huber, K., 2010. The honey man-second degree heart block after honey intoxication. **International Journal of Cardiology**, **142**:6-7.

27. Aşçıoğlu, M., Özesmi, Ç., Doğan, P., Öztürk, F., 1997. Effects of chronic grayanotoxin-I administration on hepatic and renal functions in rats. **Tohoku Journal of Experimental Medicine**, **179**:47-53.

28. Çağlı, K.E., Tüfekçioğlu, O., Şen, N., Aras, D., Topaloğlu, S., Başar, N., Pehlivan, S., 2009. Atrioventricular block induced by mad-honey intoxication. **Texas Heart Institute Journal, 36**:342-344.

29. Silici S., Uluozlu O.D., Tuzen M. and Soylak M. 2008. Assessment of trace element levels in Rhododendron honeys of Black Sea Region, Turkey. **Journal of Hazardous Materials, 156**:612-618.

30. Dilber, E., Kalyoncu, M., Yarış, N., Ökten, A., 2002. A case of mad honey poisoining presenting with convulsion: intoxication instead of alternative therapy. **Türk Journel Medicine Science, 32**:361-362.

31. Özesmi, Ç., Özesmi, M., Ersoy, A., Çoksevim, B., 1987. The action of andromedotoxin containing honey on the EEG and peripheric motor nevre conduction velocity in dogs. **Neuroscience Supolement, 36**:117-119.

32. Sütlüpınar, N., Mat, A., Satganoğlu, Y., 1993. Poisoining by toxin honey in Turkey. **Agriculture Toxicology**, **67**:148-150.

33. Demircan, A., Keleş, A., Bildik, F., Aygencel, G., Doğna, N.Ö., Gömez, H.F., 2009. Mad honey sex: therapeutic misadventures from an ancient biological weapon. **Annals of Emergency Medicine**, **54**:824-829.

34. Pekman A., 1993. Antika Anadolu Coğrafyası, (Geographica XII,XIII,XIV). Arkeoloji ve Sanat Yayınları, İstanbul, 403 pp.

35. Avcı M., 2004. Orman gülleri (*Rhododendron* L.) ve Türkiye'deki doğal yayılışı. **Coğrafya Dergisi**, **12**:13-29.

36. Silici, S., 2005. Toksik bal. **Hasad Gıda, 244**:21:29.

37. Terzioğlu S., Merev N., Anşin R., 2001. Astudy on Turkish *Rhododendron* L. (Ericaceae). **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, **25**:311-317.

38. Çeter T., Günay K., 2011. Rhododendron and Mad Honey. **Fotohttp://tr.wikipedia.org/wiki/Dosya:** ***Rhododendron smirnowii*** **1UME.jpg**, 17.10.2012.

39. Çeter T., Günay K., 2011. Rhododendron and Mad Honey. **Fotohttp://tr.wikipedia.org/wiki/Dosya:** ***Rhododendron caucasium*** **1UME.jpg**, 17.10.2012.

40. Çeter T., Günay K., 2011. Rhododendron and Mad Honey. **Fotohttp://tr.wikipedia.org/wiki/Dosya:** ***Rhododendron ungernii*** **1UME.jpg**, 17.10.2012.
41. Çeter T., Günay K., 2011. Rhododendron and Mad Honey. **Fotohttp://tr.wikipedia.org/wiki/Dosya:** ***Rhododendron ponticum*** **1UME.jpg**, 17.10.2012.
42. Çeter T., Günay K., 2011. Rhododendron and Mad Honey. **Fotohttp://tr.wikipedia.org/wiki/Dosya:** ***Rhododendron luteum*** **1UME.jpg**, 17.10.2012.
43. Wong J., Youde, E., Dickinson, B., Hale, M., 2002. Report of the Rhododendron feasibility study. School of agriculltural and forest sciences üniversity of wales. **Bangor gwynedd LL57 2UW UK**, 73 pp.
44. Plugge, P.C., Zaayer, H.G., 1889. Andromedotoxin. **American Journal of Pharmacy**, **34**:61-67.
45. Kan, T., Hosokawa, S., Nara, S., Oikawa, M., Ito, S., Matsuda, F., 1994. Total synthesis of (-)- grayanotoxin III. **Journal Organization Chemical, 59**:5532-5534.
46. Mirovich, V.M., Makarenko, S.P., Leventa, A.I., 1998. In: proceedings of the international convention "physiologobiochemical aspects of the study of medicinal plants". **Dedicated to the memory of V.G. minaeva (in Russian), Novosibirsk**, 40 pp.
47. Hikino, H., Ohta, T., Oruga, M., Ohizumi, Y., Konno, C., Takemoto, T., 1976. Structure- activity relationship of Ericaceous toxins on acute toxicity in mice. **Toxicology and Applied Pharmacology**, **35**:303-310.
48. Blinova , K.F., Karpovich, V.N., Sukkei, L.K., 1961. Proceedings of the 2nd all-ünion conference on pharmaceuticals. **Nauka, Moskow**, 74 pp.
49. Aleksandrova, M.S., 1975. Rhododendron of USSR natural flora (in Russian). **Nauka**, **Moscow**, 88 pp.
50. Zhekalov, A.N., 1995.Comparative characterization of pharmacological effectiveness of proparations from *Rhododendron adamsii*, Rehd. And *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. Et Maxim) Maxim during man's adaptation to conditions of mountain-desert area in Mongolia, **Rastitel'nye Resursy, 31**:87-91.

51. Belousov, M.V., Komissarenko, N.F., Berezovskaya, T.P., Tochkova, T.V., 1994. Contents of flavonoids and coumarin in Siberian and Far-Eastern species of the family Ericaceae. **Rastitel'nye Resursy Rastit**, **30**:44:47.

52. Andersen, O.M., Markham, K.R., 2006. Flavonoids: chemistry, biochemistry, and applications. **CRC press, Taylor&Francis group, Boca raton-London-New York**, 324 pp.

53. Anon, 1991. Medicines from the rainforest. **New Scientist,** 131:34.

54. Moerman, D., Native American ethnobotany database. Foods, drugs, dyes and fibers of native North American peoples. University of Michigan-dearborn. **http://www.umd.umich.edu/cgi-bin/herb**, 11/09/2012.

55. Rawal, R.B., Commercialisayion of aromatic and medicinal plants in Nepal. **http://www.fao.org/docrep/x533e/x5336e9j.htm**, 24/09/2012.

56. Kashiwada, Y., Yamazaki, K., Ikeshiro, Y., Yamagishi, T., Fujioka, T., Mihashi, K., Mizuki, K., Cosentino, L.M., Fowke, K., Morris-Natsche, S.L., Lee, K.H., 2001. Isolation of rhododaurichromanic acid B and the anti-HIV principles rhododaurichromanic acid A and rhododaurichromanic acid from *Rhododendron dauricum*. **Tetrahedron, 57**:1559-1563.

57. Cao, Y., Lou, C., Fang, Y., Ye, J., 2001. Determination of active ingredients of *Rhododendron dauricum* L. By capillary electrophoresis with electrochemical detection. **Journal of Chromatography, 943**:153-157.

58. Ho, L.K., Lin, W.N., 1995. Quercetin 5,4'-dimethyl ether from *Rhododendron ellipticum*. **Phytochemistry, 39**:463-464.

59. Chosson, E., Chabould, A., Chulia, A., Raynaud, J., 1998. Dihydroflavonol glycosides from *Rhododendron ferrugineum*. **Phytochemistry, 49**:1431-1433.

60. Fan, C.Q., Zhao, W.M., Ding, B.Y., Qin, G.W., 2001. Constituents from the leaves of *Rhododendron latoucheae*. **Fitoterapia, 72**:449-452.

61. Liu, Z.G., Pan, X.F., Chen, C.Y., Chen, J.J., 1990. Studies on the chemical constituents of *Rhododendron molle* G. Don. **Acta Pharmaceutica Sinica, 25**:830-833.

62. USRR State Pharmacopoeia, 1990. Xlth Ed., No. 2, Meditsina, Moscow, p. 324.

63. Merken, H.M., Beecher, G.R., 2000. **Journal Agriculture Food Chemical, 48**:573-577.

64. Justesen, U., Knuthsen, P., Leth, T., 1998. **Journal Chromatography A**, **799**:1-101.

65. Komarova, N.I., Rogachev, A.D., Chernyak, E.I., Morazov, S.S., Fomenko, V.V., Salakhutdinov, N.F., 2009. Quantitative HPLC determination of main flavonoid content of *Rhododendron adamsii* leaves and stems. **Chemistry of Natural Compounds, 45**:26-29.

66. Keller, S., Pachaly, P., Zymalkowski, F., 1970. Ursolic acid and uvaol as contents of *Rhododendron ponticum*. **Archiv der Pharmazie und Berichte der Deutschen Pharmazeutischen Geseilschatt, 303**:243-248.

67. Keller, S., Pachaly, P., Zymalkowski, F., 1970. Delta 10 (18)-acetylandromendenol, a new substance from *Rhododendron ponticum.* **Archiv der Pharmazie und Berichte der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft, 303**:249-255.

68. Keller, S., Pachaly, P., Zymalkowski, F., 1970. Sterines and triterpenes from *Rhododendron ponticum*. **Die Pharmazie, 25**:621-625.

69. Thieme, H., Walewskw, E., Winkler, H.J. 1969. Isolation of salidroside from leaves of *Rhododendron ponticumxcatawbiense*. **Die Pharmazie,** 24:783-785.

70. Takahashi H., Hirata, S., Minami, H., Fukuyama, Y., 2001. Triterpene and flavanone glycoside from *Rhododendron simsi.* **Phytochemistry, 56**:875-879.

71. Öztürk, O., Aydoğan, H.Y., Kahraman, Ö.T., Saygılı, N.I., Yılmaz, E., Eronat, A.P., Atayoğlu, T., Boyacıoğlu, D., Güven, E.Ç., Durmuş, E.F., Gedikli, T., 2012. Arı Ürünleri ve Sağlığımız. Bal-der arı ürünleri ile sağlıklı yaşam platformu derneği, İstanbul, 192 pp.

72. Doğaroğlu, M., Sunay, A.E., Samancı, T., 2012. Arı Ürünleri Üreticileri İçin İyi Hijyen Uygulamaları Rehberi. Bal-der arı ürünleri ile sağlıklı yaşam platformu derneği, İstanbul, 95 pp.

73. Erdoğan, Y., Dodoloğlu, A., 2005. Bal arısı kolonilerinin yaşamında polenin önemi. **Uludag Bee Journal, 5**:79-85.

74. Terzioğlu, S., Merev, N., Anşin, R., 2001. A study on Turkish *Rhododendron* L. **Turkish Journal Agriculture, 25**:311-317.

75. Karadal, F., Yıldırım, Y., 2012. Balın kalite nitelikleri, beslenme ve sağlık açısından önemi. **Erciyes Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 9**:197-209.

76. Bogdanov, S., 2011. Bees and their role in forest livelihoods. **Bee Product Science, 12**:81-88.

77. Siddiqui, I.R., 1970. The sugars of honey. **Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry, 25**:285-309.

78. Doner, L.W.,1977. The sugars of honey - a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture, 28:**443-456.

79. Heitkamp, K., 1984. Pro und kontra Honing- Sind Aussagen zur Wirkung des Honing "wissenschaftlich hinreichend gesichert"? **Schriften zur Oecotrophologie**, **47**:1-60.

80. Jordan, J., 2006. Research highlights from the literature. **Clinical Autonomic Research**, **16:**198-201.

81. Silici, S., Uluozlu, O.D., Tuzen, M., Soylak, M., 2008. Assessment of trace element levels in *Rhododendron* honeys of Black Sea Region, Turkey. **Journal of Hazardous Materials, 156**:612-618.

82. Bogdanov, S., 1997. Nature and origin of the antibacterial substances in honey. *Lebensmittel Wissenschaft [i.e.und] Technologie.Food science technology.* **Science Technologie Alimentaire, 30**:748-753.

83. Molan, P.C., 1992. The antibacterial activity of honey. 1. The nature of the antibacterial activity. **Bee World, 73**:5-28.

84. Molan, P.C., 1992. The antibacterial activity of honey. 2. Variation in the potency of the antibacterial activity**. Bee World, 73**:59-76.

85. Molan, P.C., 1997. Honey as an antimicrobial agent*,* In Mizrahi, A; Lensky, Y (eds) *Bee Products.* **Properties, Applications, and Apitherapy, Symposium Tel Aviv**: pp 27-37.

86. White, R.W., Subers, M.H., Schepartz, A.I., 1963. The identification of inhibited the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in honey glucose-oxidases system. **Biochimica et Biophysica Acta, 73**:57-70.

87. Dustmann, J.H., 1979. Antibacterial effect of honey. **Apiacta, 14**:7-11.

88. Cushine, T., Lamb, A., 2005. Antimicrobial activity of flavonoids**. International Journal of Antimicrobial Agents, 26**:343-356.

89. Mundo, M.A., Padilla-Zakour, O.I., Worobo, R.W., 2004. Growth inhibition of foodborne pathogens and food spoilage organisms by select raw honeys. **International Journal of Food Microbiology, 97**:1-8.

90. Yatsunami, K., Echigo, T., 1984. Antibacterial action of honey and royal jelly (japanisch). **Honeybee Science, 5**:125-130.

91. Zeina, B., Zohra, B.I., Al Assad, S., 1997. The effects of honey on Leishmania parasites: an in vitro study. **Tropical Doctor 27 Supplement, 1**:36-38.

92. Blasa, M., Canricci, M., Accorsi, A., Piacentini, M., Albertini, M., Piatti, E., 2006. Raw *Millefiori* honey is packed full of antioxidants. **Food Chemistry, 97**:217-222.

93. Perez, R.A., Iglesias, M.T., Pueyo, E., Gonzalez, M., De Lorenzo, C., 2007. Amino acid composition and antioxidant capacity of Spanish honeys. **Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55**:360-365.

94. Brudzynski, K., Miotto, D., 2011. The recognition of high molecular weight melanoidins as the main components responsible for radical-scavenging capacity of unheated and heat treated Canadian honeys. **Food Chemistry, 125**:570-575.

95. Piljac-Žegarac, J., Stipcevic, T., Belscak, A., 2009. Antioxidant properties and phenolic content of different floral origin honeys. **JAAS, 1**:43-50.

96. Marghitas, L., Dezmirean, D., Moise, A., Bobis, O., Laslo, L., Bogdanov, S., 2009 Physicochemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. **Food Chemistry, 112**:863-867.

97. Söğüt, Ö., Sayhan, M.B., Mordeniz, C., Gökdemir, M.T., Al, B., 2009. Mad honey poisoning: a case report and review of the literature. **Anatolian Journal of Clinical Investigation, 3**:100-102.

98. Onat, F.Y., Yeğen, B.C., Lawrence, R., 1991. Mad honey poisoning in man and rat. **Revolution Environment Health**, **9**:3-9.

99. Akıncı S, Arslan U, Karakurt K, Çengel A., 2007. An unusual presentation of mad honey poisoning: Acute myocardial infarction. **International Journal of Cardiology**, **129**:56-58.

100. Çağlı, K.E., Tüfekçioğlu, O., Şen, N., Aras, D., Topaloğlu, S., Başar, N., Pehlivan, S., 2009. Atrioventricular block induced by mad-honey intoxication. **Tex Heart Instution, 36**:342-344.

101. Aşçıoğlu, M., Özesmi, Ç., 1995. Grayanotoxin content of honey samples from Black Sea Region of Turkey. **Hamdard Medicus, 38**:42-47.

102. Aşçıoğlu, M., Özesmi, Ç., Doğan, P., Öztürk, F., 1996. Effects of chronic grayanotoxin-I administration on hepatic and renal functions on rats. **Tohoku Journal Express Medicus, 179**:47-53.

103. Aşçıoğlu, M., Özesmi, Ç., 1996. Effects of grayanotoxin-I on threshold intensity and compound action potential of frog sciatic nevre. **Journal Physiology and Pharmacology, 47**:341-349.

104. Kim, S.E., Shin, M.C., Akaike, N., Kim, C.J., 2010. Presynaptic effects of grayanotoxin III on excitatory and inhibitory nevre terminals in rat ventromedial hypothalamic neurons. **Neurotoxicology, 31**:230-238.

105. Narahashi, T., Seyama, I., 1974. Mechanism of nevre membrane depolarization caused by grayanotoxin I. **Journal Physiology and Pharmacology, 242**:471-487.

106. Maejima, H., Kinoshita, E., Seyama, I., Yamaoka, K., 2003. Distinct sites regulating grayanotoxin binding and unbinding to d4s6 of Na 1.4 sodium channel as revealed by ımproved estimation of toxin sensitivity. **The Journal of Biological Chemistery, 11**:9464-9471.

107. Holstege, D.M., Puschner, B., Le, T., 2001. Determination of grayanotoxins in biological samples by lc-ms/ms. **Journal Agriculture Food Chemical, 49**:1648-1651.

108. Zhao, L., Ge, J., Qiao, C., Zhang, H., Jiang, S., 2006. Separation and quantification of flavonoid compounds in *Rhododendron anthopogonoides* maxim by high-performance liquid chromatography. **Acta Chromatographica, 20**:135-146.

109. Poon, W.T., Ho, C.H., Yip, K.L., Lai, C.K., Cheung, K.L., Sung, R.Y.T., Chan, A.Y.W., Mak, T.W.L., 2008. Grayanotoxin poisoning from *Rhododendron simsii'in* an infant. **Hong Kong Medicus Journal, 14**:405-407.

110. Gündüz, A., Kalkan, A., Türedi, S., Durmuş, İ., Türkmen, S., Ayaz, F.A., Ayar, A., 2012. Pseudocholinesterase levels are not decreased in grayanotoxin (mad honey) poisoning in most patients. **The Jornal of Emergency Medicine, 10**:1-6.

111. Ertürk, Ö., Karakaş, F.P., Pehlivan, D., Nas, N.,2009. The antibacterial and antifungal effects of Rhododedron derived mad honey and extracts of four Rhododendron species. **Turkish Journal Biology, 33**:151-158.

112. Taşdemir, D., Demirci, B., Demirci, F., Dönmez, A.A., Baser, K.H.S., Rüedi, P., 2003. Analysis of the volatile components of five Turkish Rhododendron species by headspace solid-phase microextraction and gc-ms. **Verlag der Zeitschrift für Naturforschung, Tubingen, 58**:797-803.

113. Esen, D., Yıldız, O., Kulaç, Ş., Sarginci, M., 2008. Controlling *Rhododendron* spp. in the Turkish Black Sea Region. **Enstitute of Chartered Foresters, 79**:177-184.

114. Merev, N., Yavuz, H., 2000. Ecological wood anatomy of Turkish *Rhododendron* L. İntraspecific variation. **Turkish Journal Botany, 24**:227-237.

115. Gerengi, H., Göksu, H., 2012. Deli balın %3.5 NaCl ortamında al-2007 alaşımının korozyonu üzerindeki etkisi. pp.42-43. 26. Ulusal Kimya Kongresi.

116. Güven, Ö., Öztürk, N., Koçyiğit, E., Büyüköztürk, K., 1989. Antibakteriyel bir madde olan balın intoksikasyonu ve tedavisi. **ANKEM Dergisi, 3**:535-542.

117. Çiçek, D., Gemici, K., Eryılmaz, U., Cordan, J., 2004. Karadeniz delibalı ve andromedotoksin zehirlenmesi: nodal ritimli bir hasta. **Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 30**:61-62.

118. Eken, C., 2004. Grayanotoksin zehirlenmesi. **Türkiye Acil Tıp Dergisi, 4**:76-77.

119. Özhan, H., Akdemir, R., Yazıcı, M., Gündüz, H., Duran, S., Uyan, C., 2004. Cardiac emergencies caused by honey ingestion: A single centre experience doi. **Emergency Medicine Journal, 21**:742–744.

120. Tulmaç, M., Ebinç, H., Doğru, M.T., Şahin, Ö., 2008. Deli bal intoksikasyonu sonucu gelişen senkop**. Karadeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 10**:44-45.

121. Köseoğlu, Z., Kösenli, Ö., 2009. Güney bölgesinde kuzeyli bir toksin: deli bal zehirlenmesi. **Akademik Acil Tıp Dergisi, 8**:57-59.

122. Çetin, N.G., Marçıl, E., Kıldıran, M., Öğüt, S., 2009. Deli bal ile hepatotoksisite. **Türkiye Acil Tıp Dergisi, 9**:84-86.

123. İçme, F., Çevik, Y., 2010. Deli bal zehirlenmesi: olgu raporu. **Akademik Acil Tıp Olgu Sunumları Dergisi, 2**:33-36.

124. Hancı, V., Bilir, S., Kırtaç, N., Akkız, S., Yurtlu, S., Turan, İ.Ö., 2010. Zonguldak bölgesinde deli bal zehirlenmesi: yetmiş iki olgunun analizi. **Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Dergisi, 38**:278-284.

125. Bayram, N.A., Keleş, T., Durmaz, T., Dogan, S., Bozkurt, E., 2011. A rare cause of atrial fibrillation: mad honey intoxication. **The Journal of Emergency Medicine, 10**:1-3.

126. Yaylacı, S., Ösken, A., Olt, S., Temiz, T., Tamer, A., Gündüz, H., 2011. Hipotansiyon ve bradikardi etiyolojisinde deli bal zehirlenmesi. **Sakarya Medical Journal, 2**:73-75.

127. Alp, A., Şappak, S., Sezer, S.D., Çolak, C., Özbakkaloğlu, M., 2012. Geriatrik hasta grubunda nadir bir senkop nedeni: deli bal intoksikasyonu. **Turkish Journal of Geriatrics, 15**:115-118.

128. Binnetoğlu, E., Dindar, S., Şengül, E., Ay, N.K., 2012. Mad honey poisoning ; how much observe. **Abant Medical Journal, 1**:32-34.

129. Şahin, A.S., Topal, M., Öztürk, N.K., Karslı, B., 2013. Olgu sunumu: deli bal zehirlenmesi. **CausaPedia, 233**:1-3.

130. Atik, D., Şeliman, B., 2013. Bradikardi tespit edilen hastalarda deli bal zehirlenmesinin sorgulanması. **Türkiye Acil Tıp Dergisi, 13**:1-3.

131. Yengil, E., Akhan, M.M., Yengil, Y., Öztürkoğlu, H.E., Şilfeler, İ., Karakuş, A., 2013. Deli bal ile zehirlenen bir aile: olgu sunumu. **TAHUD, 3**:134-136.

132. Wodehouse, R.P., 1935. Pollen Grains, **Mc Grew Hill**. New York.

133. Erdtman, G., 1969. Handbook of palynology morphology, taxonomy, ecology, an introduction to the study of pollen grains and spores, **Hafner Publish**, New York.

134. Yavuz, R., Kurtoğlu, A.B., 2013. Orman gülü bitkisinden elde edilen deli balın grayanotoksin içeriğinin saptanması ve tüketim olanaklarının araştırılması. Düzce İl Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü, Marka /11-05/AR-GE/KAGM-0035.

135. Cabi, E., 2005. Trakya Bölgesindeki Gramineae Familyasına Ait Bazı Türlerin Polen Morfolojisinin İncelenmesi ve Polen Ektrelerinin Hazırlanması.

Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Edirne,42 s.

136. Yavuz, H., Özel, A., Akkuş, I., Erkul, I., 1991. Honey poisoning in Turkey. **Lancet, 337**:789-790.

137. Moran, N.C., Dresel, P.E., Perkins, M.E., Richardson, A.P., 1954. The pharmacological actions of andromedotoxin, an active principle from Rhododendron maximum. **Journal Pharmacology Experimental Ther, 110**:415-432.

138. Salman, C., Akbaş, M., 2010. Grayanotoksin intoksikasyonundan kaynaklanan bradikardi, hipotansiyon ve hipoglisemi. **Türkiye Klinikleri Anesteziyoloji ve Reanimasyon Dergisi, 8**:64-68.

139. Uzun, H., Sarı, I., Güneş, C., Kocabay, K., Şenses D.A., Kandiş, H., 2013. Deli bal zehirlenmesine bağlı bradikardi ve hipotansiyon gelişen çocuk olgusu. **Türk Pediatri Arşivi Dergisi, 48**:53-54.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Zeliha DOĞAN
Uyruğu: Türkiye (TC)
Doğum Tarihi ve Yeri: 4 Nisan 1985, Boğazlıyan
Medeni Durumu: Bekâr
Tel: +90 352 437 95 41
GSM: +90 554 378 42 06
e-mail: zlhdgn_38@hotmail.com
Yazışma Adresi: Yenidoğan Mh. Fatih Cd. Eraslan Sit C Blok No:6 38280 Talas/KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji	
Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji	2013
Lisans	Erciyes Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji	2010
Lise	Talas Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi, Kayseri	2006

YABANCI DİL

İngilizce

YAYINLAR

2012, Doğan Z, Karaman K, Pollen Analysis of Rhododendron Honeys from Black Sea Rregion, The First Turkish Congress, Expo and Workshops on Honey and Honeybee Products with International Participation, 2012, Kayseri.

PROJELER

SEMPOZYUM DÜZENLEME PROJESI, ULUSLARARASI, FBS-11-3605, Araştırmacı, The First Turkish Congress, Expo and workshops on honey and honeybee products with ınternational Participation

YAPTIĞI TEZLER

Yüksek Lisans, 2013, "Bal Zehirlenmesi ve Ratlarda Toksitenin Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi", Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji**.**