



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**İNDOMETAZİN İLE OLUŞTURULAN GASTRİK
MUKOZAL HASARINA VİTAMİN C, VİTAMİN E,
β-KAROTEN VE SELENYUMUN ETKİLERİ**

İsmet Burcu TÜRKYILMAZ

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Programı

Danışman

Prof.Dr. Refiye YANARDAĞ

Haziran 2009

İSTANBUL



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**İNDOMETAZİN İLE OLUŞTURULAN GASTRİK
MUKOZAL HASARINA VİTAMİN C, VİTAMİN E, β -
KAROTEN VE SELENYUMUN ETKİLERİ**

İsmet Burcu TÜRKYILMAZ

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Programı

Danışman

Prof.Dr. Refiye YANARDAĞ

Haziran 2009

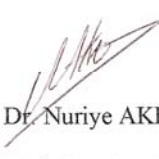
İSTANBUL

Bu çalışma 03/07/2009 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı Biokimya programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi


Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ (Danışman)

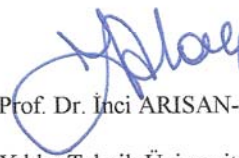
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi
Kimya Bölümü Biyokimya Anabilim Dalı


Prof. Dr. Nuriye AKEV

İstanbul Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı


Prof. Dr. Ayşen YARAT

Marmara Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi
Biyokimya Bilim Dalı


Prof. Dr. İnci ARISAN-ATAÇ

Yıldız Teknik Üniversitesi
Fen Edebiyat Fakültesi
Kimya Bölümü
Biyokimya Anabilim Dalı


Yard. Doç. Dr. Özlem SAÇAN

İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi
Kimya Bölümü Biyokimya Anabilim Dalı

Bu alışma **İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin T-2246** numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Lisans ve Yüksek Lisans öğrenimim sırasında yardımlarını esirgemeyen ve tez çalışmalarım boyunca değerli fikirlerinden ve tecrübelerinden yararlandığım, her aşamada yakın ilgi ve desteğini gördüğüm danışman hocam, Sayın Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çeşitli aşamalardaki yardımlarından, ilgi ve desteğinden dolayı, Sayın Yrd. Doç. Dr. Özlem SAÇAN'a çok teşekkür ederim. Çalışmalarım esnasında yardımlarını aldığım ve her zaman desteklerini hissettiğim Ar. Gör. Dr. Sevim TUNALI'ya, Ar. Gör. M. Mutluhan DÖĞER'e ve Ar. Gör. Bertan B. BAYRAK'a teşekkür ederim.

Çalışmamın uygulama kısmını destekleyen İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliği'ne teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım boyunca ilgi ve desteğini esirgemeyen aileme, teşekkürü bir borç bilirim.

Haziran, 2009

İsmet Burcu TÜRKYILMAZ

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
TABLO LİSTESİ	vi
KISALTMALAR	vii
ÖZET	ix
SUMMARY	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL KISIMLAR.....	3
2.1. MİDE.....	3
2.1.1. Midenin Asid Salgısının Düzenlenmesi	4
2.1.1.1. Asetilkolin	4
2.1.1.2. Gastrin	4
2.1.1.3. Histamin	5
2.1.2. Midenin Asid Salgısının Evreleri	6
2.1.2.1. Sefalik Uyarılar	6
2.1.2.2. Gastrik Uyarılar	6
2.1.2.3. İntestinal Uyarılar	6
2.1.3. Mide Özsuyu.....	6
2.1.4. Mideyi Koruyan Faktörler	7
2.1.4.1. Mukus	7
2.1.4.2. Bikarbonat	7
2.1.4.3. Mukozal Kan Akımı.....	8
2.1.4.4. Hücre Yenilenmesi	8
2.1.4.5. Prostaglandinler	8
2.1.5. Mukozaya Zarar Verici Faktörler	9
2.1.6. Gastrik Ülserin En Sık Görülen Nedenleri	9

2.1.7. Gastrik Ülserin Görülme Sıklığının Arttığı Hastalıklar	9
2.1.8. Gastrik Ülser Tedavisinde Kullanılan İlaçlar	10
2.1.8.1. Ranitidin	10
2.2. PEPTİK ÜLSER	11
2.3. DENEYSEL ÜLSER MODELLERİ	12
2.3.1. NSAİİ'lar ile Oluşturulan Gastrik Ülser Modelleri	13
2.3.2. Kimyasal Maddeler ile Oluşturulan Gastrik Ülser Modelleri	13
2.3.3. Stresle Oluşturulan Gastrik Ülser Modelleri	13
2.4. SİKLOOKSİJENAZLAR.....	13
2.5. SERBEST RADİKALLER VE ÜLSER İLİŞKİSİ	14
2.6. ANTİOKSİDAN SİSTEMLER	16
2.6.1. Askorbik Asid	17
2.6.2. α -tokoferol.....	19
2.6.3. β -karoten	20
2.6.4. Selenyum.....	21
2.7. NONSTEROİDAL ANTİİNFLAMATUAR İLAÇLAR	23
2.7.1. Analjezik Etkileri	25
2.7.2. Antipiretik Etkileri	26
2.7.3. Antiinflamatuvar Etkileri	26
2.7.4. İndometazin	26
3. MATERYAL VE METOD	29
3.1. MİDE DOKU HOMOJENİZATLARININ HAZIRLANMASI	30
3.2. KANDA GLUTATYON TAYİNİ	31
3.3.SERUMDA ASPARTAT AMİNO TRANSFERAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ.....	32
3.4.SERUMDA ALANİN AMİNO TRANSFERAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ.....	34
3.5. SERUMDA ALKALİ FOSFATAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ	35
3.6. DOKUDA SİYALİK ASİD MİKTARI TAYİNİ	36
3.7. DOKUDA MUSİN MİKTARI TAYİNİ	39
3.8. DOKUDA HEKSOZAMİN MİKTARI TAYİNİ	40
3.9. DOKUDA LİPİD PEROKSİDASYONU MİKTARI TAYİNİ	41
3.10. DOKUDA PROTEİN KARBONİL MİKTARI TAYİNİ	43
3.11. DOKUDA LAKTAT DEHİDROJENAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ	45
3.12. DOKUDA KATALAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ.....	46
3.13.DOKUDA GLUTATYON-S-TRANSFERAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ.....	47
3.14. DOKUDA TOTAL PROTEİN MİKTARININ TAYİNİ.....	49

3.15. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	51
4. BULGULAR	52
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	61
KAYNAKLAR	71
ÖZGEÇMİŞ	85

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1.1	: Midenin Bölümleri.....	3
Şekil 2.1.1.3.1	: Gastrin, Histamin ve Asetilkolinin Salgı Mekanizmasındaki Rollerini	5
Şekil 2.1.8.1.1	: Ranitidin.....	11
Şekil 2.2.1	: Peptik Ülserlerin Neden Olduğu Kanamalar	12
Şekil 2.6.1	: Reaktif Oksijen Türleri ile Enzimatik Antioksidanlar Arasında Oluşan Reaksiyon Şeması.....	17
Şekil 2.6.1.1	: Askorbik Asid.....	18
Şekil 2.6.1.2	: Vitamin C- Vitamin E Etkileşimleri.....	19
Şekil 2.6.2.1	: E vitamini	20
Şekil 2.6.3.1	: β -karoten	21
Şekil 2.6.4.1	: Seleyumun Organizmadaki Dönüşümü.....	22
Şekil 2.7.1	: NSAİİ Sınıfı İlaç Formülleri	24
Şekil 2.7.4.1	: İndometazin.....	27

TABLO LİSTESİ

Tablo 4.1	:Deney ve Kontrol Grubu Sıçanların Kan Glutasyon Değerleri	52
Tablo 4.2	:Deney ve Kontrol Grubu Sıçanların Serum AST, ALT ve ALP Aktiviteleri Değerleri	53
Tablo 4.3	:Deney ve Kontrol Grubu Sıçanların Mide Dokularının Siyalik Asit Değerleri.....	55
Tablo 4.4	:Deney ve Kontrol Grubu Sıçanların Mide Dokularının Musin ve Heksozamin Değerleri	56
Tablo 4.5	:Deney ve Kontrol Grubu Sıçanların Mide Dokularının LPO ve PC Değerleri.....	57
Tablo 4.6	:Deney ve Kontrol Grubu Sıçanların Mide Dokularının LDH ve CAT Aktivite Değerleri	58
Tablo 4.7	:Deney ve Kontrol Grubu Sıçanların Mide Dokularının GST Aktivite Değerleri.....	59

KISALTMALAR

ALP	Alkali Fosfataz
ALT	Alanin Amino Transferaz
AST	Aspartat Amino Transferaz
cAMP	Siklik Adenozin Monofosfat
CAT	Katalaz
CDNB	1-Klor-2,4-Dinitrobenzen
COX	Siklooksijenaz
DNA	Deoksiribo Nükleik Asid
DNPH	2,4-Dinitro Fenil Hidrazin
DTNB	5,5'-Ditio-bis- (2-nitro) Benzoik Asid
ECL	Enterokromafine benzer hücreler
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asid
GSH	Glutasyon
GST	Glutasyon-S-Transferaz
GPx	Glutasyon Peroksidaz
H⁺/K⁺ ATPaz	Hidrojen-Potasyum Adenozin Trifosfataz
HPETE	Hidroperoksi Yağ Asidleri
LTB₄	Lökotrien B ₄
LPO	Lipid Peroksidasyonu
MDA	Malondialdehid
MPO	Miyeloperoksidaz
NADH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NOS	Nitrik Oksit Sentetaz
NSAİİ	Non-Steroida Antiinflatuar İlaçlar
·OH	Hidroksil Radikali
O₂⁻	Süperoksid Anyonu

ROO[·]	Peroksid Radikali
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
RNS	Reaktif Nitrojen Türleri
PAF	Trombosit Aktive Edici Faktör
PC	Protein Karbonil
PG	Prostaglandin
PGD	Prostaglandin D
PGE	Prostaglandin E
PGG₂	Prostaglandin G ₂
PGH₂	Prostaglandin H ₂
PGI₂	Prostaglandin I ₂
SOD	Süperoksid Dismutaz
SSS	Santral Sinir Sistemi
TBA	Tiyobarbütirik Asid
TCA	Trikloro Asetik Asid
TxA₂	Tromboksan A ₂
TxB₂	Tromboksan B ₂
TPE	1,1,3,3 Tetra Etoksi Propan
VIP	Vazoaktif İntestinal Peptid

ÖZET

İNDOMETAZİN İLE OLUŞTURULAN GASTRİK MUKOZAL HASARINA VİTAMİN C, VİTAMİN E, β -KAROTEN VE SELENYUMUN ETKİLERİ

Non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ), ağrı, ateş ve inflamasyon gibi durumlarda yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Bu ilaçlar, gastrointestinal sistemde gastrik mukozal erozyonlar, ülserler, kanama ve perforasyonlar gibi yan etkilere neden olmaktadır. Gastrointestinal mukozal hasarlar, deneysel olarak, stres, indometazin, rezerpin, alkol, asidler, bazlar veya iskemi-reperfüzyon ile oluşturulmaktadır. NSAİİ ile oluşturulan gastrointestinal hasarların oluşmasındaki temel sebeplerden biri de reaktif oksijen türleridir. Reaktif oksijen türleri, lipidler, protein ve nükleik asidler gibi biyokimyasal yapılarda hasar oluşturmaktadır. Antioksidan enzimleri de içeren antioksidan savunma sistemleri ve bunlara ait bileşikler, toksik ve hastalıklara neden olan reaktif oksijen türlerini önlemede önemlidir. Bu çalışmanın amacı, indometazinle oluşturulan gastrik hasara karşı vitamin C, vitamin E, β -karoten ve selenyumun kombinasyonunun gastroprotektif etkisini incelemektir. Bu çalışmada, Sprague-Dawley erkek sıçanlar kullanıldı. Rasgele seçilen sıçanlar, altı gruba ayrıldı. I. Grup; dokunulmamış sıçanlar olarak belirlendi. II. Grup sıçanlara; vitamin C (100 mg/kg), vitamin E (100 mg/kg), β -karoten (15 mg/kg) ve sodyum selenat (0.2 mg/kg) 3 gün süre ile aynı saat ve dozda, oral olarak verildi. III. Grup sıçanlar, indometazin (25 mg/kg) verilen sıçanlardı. IV. Grup sıçanlara; indometazin verilmesinden 2 saat önce, vitamin C (100 mg/kg), vitamin E (100 mg/kg), β -karoten (15 mg/kg) ve sodyum selenat (0.2 mg/kg) aynı doz ve süre ile oral olarak verildi. V. Grup sıçanlar, 3 gün süre ile aynı saat ve dozda, oral olarak ranitidin (150 mg/kg) verilen sıçanlardı. VI. Grup sıçanlara; indometazin verilmesinden 2 saat önce, ranitidin (150 mg/kg) aynı süre ve dozda oral olarak verildi. İndometazin verilmesinden 6 saat sonra, bütün hayvanlar eter anestezisi altında kesildi. İndometazin verilmesi ile birlikte, kan glutatyon, doku musin, heksozamin miktarları ve glutatyon-S-transferaz aktivitesinde azalma meydana gelirken, serum aspartat amino transferaz, alanin amino transferaz ve alkali fosfataz aktiviteleri ile doku siyalik asid, lipid peroksidasyonu ve protein karbonil miktarları ve laktat dehidrojenaz, katalaz aktivitelerinde bir artış meydana geldi. Vitamin C, vitamin E, β -karoten ve selenyum ile ranitidin verilmesi, bu etkiyi tersine çevirdi. Bu sonuçlardan, vitamin C, vitamin E, β -karoten ve selenyumun mide koruyucu etkisini, oksidatif hasarı indirgemesi nedeni ile meydana getirdiği söylenebilir.

SUMMARY

THE EFFECTS OF VITAMIN C, VITAMIN E, β -CAROTENE AND SELENIUM ON INDOMETHACIN-INDUCED GASTRIC MUCOSAL DAMAGE

Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) are widely used in the treatment of pain, fever and inflammation. These drugs have some side effects especially on the gastrointestinal tract such as gastric mucosal erosions, ulcerations, bleeding and perforations. The gastrointestinal mucosal lesions are experimented by stress, indomethacin, reserpine, ethanol, acids, bases or ischemic-reperfusion. Reactive oxygen species (ROS) play a vital role in the mucosal lesion associated with NSAID induced gastrointestinal damage. ROS damaged numerous biochemical structures particularly lipids, proteins and nucleic acids. Antioxidant defense systems and their components, including antioxidant enzymes, foods and drugs are important in preventing the toxic and disease causing effects of oxygen-derived free radicals. The purpose of the present study was to investigate the gastroprotective effects of combination of vitamin C, vitamin E, β -carotene and selenium against indomethacin-induced gastric injury in rats. In this study, male Sprague-Dawley rats were used. The rats were randomly distributed into 6 groups. Group I; intact animals. Group II; control animals receiving vit.C (100 mg/kg), vit.E (100 mg/kg), β -carotene (15 mg/kg) and sodium selenate (0.2 mg/kg) for 3 days, orally, daily. Group III, Rats receiving 25 mg/kg indomethacin. Group IV; animals receiving vit.C , vit.E , β -carotene and sodium selenate for 3 days (in the same dose and time) , 2 h prior to the administration of indomethacin. Group V; control animals receiving 150 mg/kg ranitidine. Group VI; animals receiving ranitidine for 3 days, 2 h prior to the administration of indomethacin. At 6 h after the indomethacin administration all the animals were sacrificed expose to ether. The administration of indomethacin caused a decrease in the levels of blood glutathione, tissue mucin and hexosamine content and glutathione-S-transferase activity and an increase in the serum aspartat amino transferase, alanin amino transferase and alkaline phosphatase activities, tissue lipid peroxidation and protein carbonil content, lactate dehydrogenase, catalase activities. Treatment with vitamin C, vitamin E, β -carotene, selenium and ranitidine revised these effects. These results suggested that the gastroprotective effect of vitamin C, vitamin E, β -carotene and Se can be attributed to its reducing effect on the oxidative damage.

1. GİRİŞ

Asid-peptik aktivite ile karşılaşan özofagus, mide ve duodenumda oluşan yaralara peptik ülser adı verilir. Hastalığı meydana getiren faktörler; asid sekresyonu ve koruyucu mukoza bariyerindeki bozukluklara ek olarak genetik yatkınlık (irsiyet), stres [1], kortizon türü ilaçlar [2], sigara [3], alkol [4-7], kafein [2], aspirin [2, 8], fenil butazon [2] ve indometazin gibi Non-Steroidale Antiinflatuar İlaçlar (NSAİİ) [9-11], *Helicobacter pylori* [12, 13] ve *Herpes simplex* virüsüdür [14]. Gastrik mukozal hasarı tanımlamak için, deneysel olarak birçok model geliştirilmiştir. Bu hasar, asetik asid [15], etanol [5, 16, 17], rezerpin [18], amonyak [19], metakolin [20] gibi çeşitli ajanların yanı sıra iskemi-reperfüzyon [21], elektrokoagülasyon [22] gibi bazı deneysel modeller kullanılarak da oluşturulabilir.

Gastrik mukozal hasarı meydana getiren en önemli sebeplerden biri, romatizmal hastalıkların tedavisinde kullanılan Non-Steroidale Antiinflatuar İlaçlardır. NSAİİ'lar; antipiretik, antiinflatuar ve analjezik özelliklerinden dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu ilaçların uzun süreli kullanımları esnasında, gastrointestinal sistemde pek çok yan etkileri tespit edilmiştir. Bunlardan en önemlileri ve en çok rastlananları hazımsızlık, mide ülseri, kanama ve duodenal ülserdir. NSAİİ'ların sebep olduğu bu yan etkilerin temel sebebi ise; prostaglandinlerin sentezinde rol oynayan siklooksijenaz enziminin inhibe edilmesi olarak gösterilmektedir [23]. Bunun yanı sıra gastrointestinal mukozaya lökosit infiltrasyonunun artması [24], reaktif oksijen türleri (ROS) ve biojen aminlerin salınımlarının artması da [25], diğer sebepler arasında gösterilmektedir.

Gastrik mukozal hasarın önlenmesinde endojen ve eksojen bir çok faktör rol oynamaktadır. Bu faktörler; prostaglandinler [13], nitrik oksid [26], melatonin [27], adenozin [28], glutatyon, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glutatyon-S-transferaz, süperoksit dismutaz ve katalaz enzimleri ile, askorbik asid (vitamin C), α - tokoferol (vitamin E), β - karoten ve selenyum [29] gibi antioksidan sistemler olarak

sayılabilir.

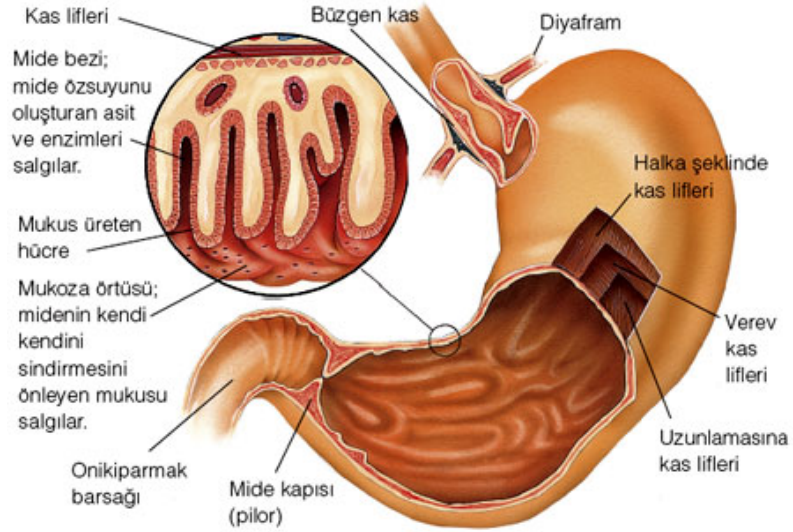
Antioksidanlar, serbest radikallerle reaksiyona girerek hücrelere zarar vermelerini önlerler. Bu özellikleriyle hücrelerin anormalleşme ve sonuç olarak tümör oluşturma risklerini azalttıkları gibi, hücre yıkımını da azalttıkları için, daha sağlıklı ve yaşlılık etkilerinin minimum olduğu bir yaşam sürdürmemizi sağlarlar.

Bu çalışmamızda, indometazin ile oluşturulan gastrik mukozal hasara karşı ilk defa kombine olarak verilen vitamin C, vitamin E, β - karoten ve selenyumun koruyucu etkilerinin olup olmadığı biyokimyasal yöntemlerle araştırılmıştır.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. MİDE

Sindirim sisteminin önemli bir kısmını oluşturan mide, mide mukozası ile kaplı kaslardan oluşmuş, oldukça geniş bir torbadır [30] (Şekil 2.1.1). Temel görevleri, yiyecekleri depolayarak ince bağırsağa birden girişlerini engellemek, H^+ iyonlarının pepsinojeni aktive ederek pepsini oluşturması ve böylece pepsinin salgılanmasıyla proteinlerin sindiriminin başlamasıdır. Mide, mukoza, submukoza, muskularis eksterna ve seroza olmak üzere birbirleriyle ilişkili dört katmandan oluşmaktadır. Fonksiyonel olarak da gastrik mukoza, oksintik bez ve pilorik bez olarak ikiye ayrılmaktadır [31].



Şekil 2.1.1 Midenin Bölümleri [32].

Midenin fundus bölgesinin derin kısımlarında yer alan oksintik bezler, H^+ ve Cl^- salgılanmasında rol oynar [33]. Pilora yakın kısımda ise, mukus ve gastrin hormonunu salgılar [34].

Pariyetal yani oksintik hücrelerde, midenin asid salgısı yapılır. Karbonik anhidraz tarafından katalize edilen bir reaksiyon sonucu su ve CO₂ moleküllerinin birleşmesiyle karbonik asit (H₂CO₃) oluşur. Yine aynı enzimin katalizörlüğü ile, karbonik asid, bikarbonat (HCO₃⁻) ve hidrojen iyonuna (H⁺) ayrılır. H⁺ iyonu, pariyetal hücrenin mide içine bakan tarafındaki bir aktif transport mekanizması ile mide içine salgılanır ve hücre buna karşılık mide lümeninden K⁺ alınır. ‘Proton Pompası’ denilen bu mekanizmanın esasını, H⁺/K⁺ ATPaz enzimi oluşturur. H⁺ iyonu lümeninde yine ortama pariyetal hücreden gelen Cl⁻ iyonu ile birleşip HCl’i meydana getirir [34].

2.1.1. Midenin Asid Salgısının Düzenlenmesi

Midenin asid salgısının düzenlenmesinde asetilkolin, gastrin ve histamin gibi endojen kimyasal maddelerin rolü olduğu bildirilmiştir [33].

2.1.1.1. Asetilkolin

Asetilkolin; bir nörotransmitter olup, vagus sinirinin en uçlarındaki sinir hücrelerinden çıkar ve asid salgısını başlatır. İnsanın iştah açıcı bir gıdayı görmesi, koklaması, çiğnemesi hatta bu gıdayı düşünmesi bile vagus sinirini uyarak salgı faaliyetlerini arttırır. Asetilkolin gastrik salgıyı üç şekilde arttırır:

1. G hücrelerini uyarıp gastrin salgısını arttırır.
2. Enterokromaffin benzeri hücreleri (ECL) M1 reseptörü üzerinden uyarıp histamin çıkmasına sebep olarak etki eder.
3. Pariyetal hücre üzerindeki M3 reseptörünü direkt etki ile uyarak etki eder [34].

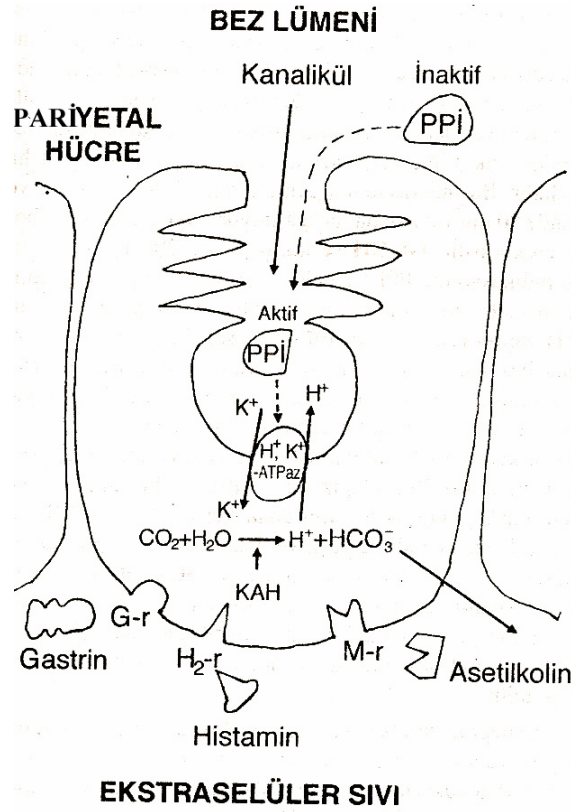
2.1.1.2. Gastrin

Midede asid salgısının artmasında en büyük etkendir. Kolinerjik uyarı, gastrinin asid salgılatma fonksiyonunu kuvvetlendirir ve gastrin kuvvetli asit-stimulan etkisini, pariyetal hücrelerin civarında bulunan ECL hücrelerine bağlanarak ve bu hücreleri

stimule ederek histamin ortaya çıkmasını sağlayarak gerçekleştirir. Gastrin salınımı bilhassa proteinli besinler ile başlar [34] (Şekil 2.1.1.3.1).

2.1.1.3. Histamin

Vücudun birçok yerinde bulunan hücrelerde oluşmasına rağmen, midedeki yapım yeri ECL hücreleridir. Midedeki diğer hücrelere kıyasla, ECL hücrelerinin çok fazla olmamasına karşın bunların mide asid salgısında en önemli rolü oynadıkları bilinmektedir. Gastrin, asetilkolin, katekolamin, vazoaaktif intestinal peptid (VIP) histamini arttırırken, somatostatin, prostaglandinler, ‘Transforming Growth Factor’ ler histamin salınımı inhibe ederler [34,] (Şekil 2.1.1.3.1).



Şekil 2.1.1.3.1. Gastrin, histamin ve asetilkolinin salgı mekanizmasındaki rolleri [36].

2.1.2. Midenin Asid Salgısının Evreleri

2.1.2.1. Sefalik Uyarılar

Sefalik uyarılar, midenin asid salgısının sadece vagus siniri ile uyarılarak oluřturulma safhasını teřkil eder ve yiyeceğın dűřünűlmesi, gűrűlmesi ve ağıza alınması gibi durumlarda ortaya çıkar [33]. Bu fazda asetilkolin, histamin ve gastrin, pariyetal hűcre zarındaki özel reseptörlerini uyararak asid sekresyonuna sebep olurlar. Midenin salgı cevabı ilk otuz dakikada tepe noktasına çıkar ve bu etki iki-ű saat devam eder [34].

2.1.2.2. Gastrik Uyarılar

Besinin mideye girmesi ile başlayan bu sűrete, mide mukozasında, lokal refleksler aracılığı ile, asid ve gastrin salgısı ile mide motilitesi aktive edilmiş olur. Protein, alkol, kalsiyum, magnezyum, alűminyum, organik asidler (asetik asid), safra tuzları ve antrumun alkalizasyonu, gastrinin salgılanmasını arttırır [33,34].

2.1.2.3. İntestinal Uyarılar

Midenin boşalması sonucu mide içeriğinin duodenuma gelmesi, duodenumda gerilmeye, pH'ın dűřmesi ise osmolitenin artmasına neden olur. Bu değişiklikler de, ince bağırsağıya yönelik intestinal uyarıları başlatır [33].

2.1.3. Mide  zsuyu

Mide özsuyu, bir çok organik ve anorganik maddelerden oluşan kompleks bir sıvıdır. Saydam ve renksizdir. Mide  zsuyunun içinde, yutulan tükürük, ince bağırsaktan yukarıya mideye çıkan bağırsak sıvıları, safra, safra asidleri, pankreas enzimleri, kan proteinleri, laktik asid, inorganik ve organik maddeler, intrinsik faktörler ve elektrolitler

bulunur. Bazal şartlarda, yani hiçbir ilaç alınmadığı, hiçbir uyarıcı etken olmadığı zaman, insan midesi 24 saatte 1,5 ile 2 L mide özsuyu salgılar ve bu suyun içindeki her maddenin görevleri vardır [34]:

1. Hidrojen İyonu : Pepsinojeni pepsine çevirir ve antibakteriyel olarak dışarıdan gelen bakterilere karşı bir bariyer oluşturur.
2. Pepsin : Proteinleri ve peptidleri parçalar.
3. Mukus : Epitel hücrelerini kaplayarak asid ve pepsinden etkilenmelerini engeller. Alınan katı besinlere de bulaşarak kayganlaştırıcı görev yapar.
4. İntrinsik Faktör : Vitamin B₁₂'ye bağlanarak onun bağırsaklardan emilebilir bir hale gelmesini sağlar.

2.1.4. Mideyi Koruyan Faktörler

2.1.4.1. Mukus

Mukus, mukozal savunmada mukozayı peptik ülserle karşı korumada çok önemlidir. Mide mukusu, mide mukozası epitelyumunun ve mide bezlerinin mukus hücreleri tarafından salgılanır. Mukus salgılanması, mekanik irritasyonlar ve kolinerjik stimülasyon ile uyarılır. Mide mukusunun kalınlığı, E serisindeki prostaglandinler tarafından artırılır, aspirin dahil NSAİİ'lar tarafından inhibe edilir [36].

2.1.4.2. Bikarbonat

Bikarbonat, mide ve duodenumdaki yüzey epitel hücreleri ve duodenumdan salgılanır. Bikarbonatın büyük bir kısmı, lümene erişmesine rağmen, sekrete edilen bu bikarbonatın büyük bir kısmı mukusun altında veya içerisinde kalır. Normal koşullarda, hidrojen iyonları bikarbonat tarafından nötrale edilir. Lümen ve yüzey epitel hücreleri arasında bir pH gradienti kurulmuştur [36].

2.1.4.3. Mukozal Kan Akımı

Mide ve duodenumun mukozalarının yüksek metabolik aktiviteleri ve esas oksijen gereksinimi, normal kan akımının devam ettirilmesi ile sağlanır. Azalması halinde, luminal hidrojenin geri difüzyonu başlar ve böylece gastrik mukozal hasar meydana gelir.

2.1.4.4. Hücre Yenilenmesi

Hücreler sabit olarak ölürler ve yerlerine yeni hücreler geçer. Mukozanın devamlılığı için bu sistemde, kaybolan hücreler ile yenilenen hücreler arasında bir denge vardır, bu düzenin bozulması mukozal hasara neden olur.

2.1.4.5. Prostaglandinler

Endojen prostaglandinler, mukozal savunma sisteminin oluşmasında önemli elemanlardan biridir. Mide mukusunun ve duodenumdan bikarbonat iyonunun salgılanmasını stimule ederler. Prostaglandinlerin metabolizma için yararları şu şekilde sıralanabilir [9, 33].

- 1- PGE₁, PGE₂ ve prostasiklinler midenin asid salgısını güçlü bir şekilde inhibe ederler.
- 2- Gerek bazal salgılanmayı ve gerekse çeşitli faktörler tarafından (yemek, vagal stimülasyon, gastrin, histamin, kafein ve insulin gibi) stimule edilmiş salgıyı azaltırlar. Mide ve bağırsakta mukus salgısını ve pankreasın dış salgısını arttırlar.
- 3- Hücre koruyucu etki sağlarlar. Bu etki şu etmenlere dayalıdır:
 - a- Mukus salgısının artması
 - b- Mukozal HCO₃⁻ salgısının artması
 - c- Mukoza bariyerinin negatif elektrik potansiyelinin arttırılması sonucu H⁺ nin geri difüzyonunun azaltılması
 - d- Mukozal kan akımının arttırılması
 - e- Mukoza epitelinin rejeneratif kapasitesinin arttırılması
 - f- Epitel hücrelerinin lizozom membranlarında stabilitesinin pekiştirilmesi

4- PGE₁ ve PGE₂ bronş düz kaslarını gevşetirler ve bronkodilatasyon yaparlar. PGF₂ α ise bronkokonstriksiyon yapar.

5- PGE₁ ve PGD₂'ler, trombositlerin agregasyonunu güçlü bir şekilde inhibe ederler. Siklik endoperoksidler, PGE₂ ve tromboksan A₂ ise trombosit agregasyonunu güçlü bir şekilde stimüle ederler.

2.1.5. Mukozaya Zarar Verici Faktörler

Mide asid salgısında rol oynayan asetilkolin, histamin, gastrin gibi endojen maddelerin yanı sıra, safra tuzları [37, 38], etil alkol [39], kafein [2], aspirin, diğer NSAİİ'lar ve *Helicobacter pylori* sayılabilir.

2.1.6. Gastrik Ülserin En Sık Görülen Nedenleri

Gastrik ülserin ortaya çıkmasında önemli rol oynayan faktörler şu şekilde sıralanabilir [33, 34]:

- 1- NSAİİ'lar
- 2- *Helicobacter pylori*
- 3- Zollinger-Ellison Sendromu
- 4- Aşırı alkol ve sigara tüketimi
- 5- Stres
- 6- Hipertansiyon
- 7- Glukokortikoid ilaç tedavisi
- 8- Kemoterapi
- 9- Vasküler yetmezlik

2.1.7. Gastrik Ülserlerin Görülme Sıklığının Arttığı Hastalıklar

- 1- Reflü özofajit
- 2- Zollinger-Ellison sendromu
- 3- Karaciğer sirozu
- 4- Kronik böbrek yetmezliği

2.1.8. Gastrik Ülser Tedavisinde Kullanılan İlaçlar [33]

1- *Asid salgısını azaltan ilaçlar* : Bu gruptaki ilaçlar, proton pompası inhibisyonunu gerçekleştiren ilaçlardır.

- a- Histamin H₂- reseptör blokerleri (Ranitidin, Famotidin, Simetidin)
- b- Proton pompası inhibitörleri (Omeprazol, Lansoprazol, Pantoprazol, Rabeprozol, Esomeprazol)
- c- Antimuskarinik ilaçlar
- d- Somatostatin

2- *Antasid ilaçlar*: Ortamdaki asidi, kimyasal reaksiyonlarla nötralize eden ilaçlardır.

- a- Alüminyum Bileşikleri (Alüminyum hidroksid, Alüminyum karbonat)
- b- Magnezyum Bileşikleri (Magnezyum oksid ve hidroksid, Magnezyum trisilikat, Magnezyum Karbonat)
- c- Kalsiyum Bileşikleri (Kalsiyum Karbonat)
- d- Sodyum Bikarbonat

3- *Koruyucu tabaka oluşturan ilaçlar*: Sukralfat ve kolloidal bizmut bileşikleri, bu sınıf ilaçlara dahildir.

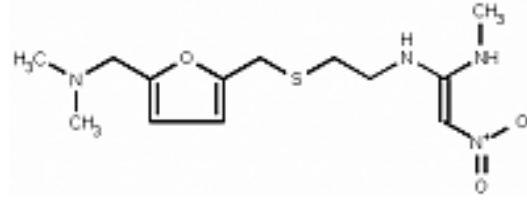
4- *Sitoprotektif İlaçlar*: Ağızdan etkili olabilen metillenmiş PGE serisi maddelerden ‘Misoprostol’ bu sınıf ilaçlara örnek olarak verilebilir.

5- *Helicobacter pylori’yi inhibe eden ilaçlar*: Bu sınıf ilaçlara, tetrasiklin ve amoksisilin örnek olarak verilebilir.

2.1.8.1. Ranitidin

Gastrik ülser tedavisinde kullanılan ilaçlardan, *asid salgısını azaltan ilaçlar* sınıfına giren ranitidin, güçlü bir histamin H₂ reseptör antagonistidir. Histamin ve simetidin molekülünde bulunan imidazol halkası yerine furan halkası içerir (Şekil 2.1.8.1.1). Ranitidin, gerek bazal gerekse alınan gıdaların stimüle ettiği gastrik sekresyonu kuvvetle inhibe eder. Bu inhibitör etkisinin niteliği simetidininkine benzer, ancak kitlesi itibariyle ondan 5-10 kez daha güçlüdür, bundan dolayı dozu simetidininkine göre daha azdır. Pepsin sekresyonunu etkilemez, ancak mide sıvısının hacmindeki azalma ile

orantılı olarak pepsin debisi azalır. Yan etkiler olarak, diyare, bulantı, kusma, abdominal ağrı veya rahatsızlık ve nadiren pankreatit oluşabilir. Lökopeni, granülositopeni, trombositopeni ve diğer H_2 blokerleriyle olduğu gibi nadiren taşikardi ve bradikardi görülebilir. Nadiren baş ağrısı, deri döküntüsü, yorgunluk hissi veya baş dönmesi gibi belirtiler görülebilir. Plazma kreatinin değerlerinde ve serum transaminaz düzeylerinde hafif yükselmeler meydana gelebilmekte, ancak bu belirtiler kural olarak tedavi sürdürüldüğünde kaybolmaktadır.



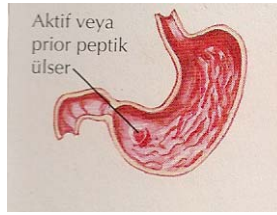
Şekil 2.1.8.1.1. Ranitidin.

Pariyetal hücrelerde H_2 reseptörlerinin histamin ve benzeri maddelerle aktivasyonu, adenilil siklaz enzimini stimule eder ve hücre içinde cAMP düzeyini arttırır. Histaminin yaptığı hidrojen iyonu salgısındaki artma ile cAMP düzeyindeki artma arasında yakın bir paralellik bulunduğu ve cAMP'ın histaminin asid salgılanmasında yaptığı artmaya aracılık ettiği bulunmuştur. Histamin H_2 reseptör blokerleri, histaminin adenilil siklaz üzerindeki etkisini inhibe eder ve pariyetal hücrelerde cAMP düzeyini düşürürler.

2.2. PEPTİK ÜLSER

Peptik ülser genel olarak; gastroduodenal mukozal savunma mekanizmaları ile mukoza için zararlı faktörlerin bastırılması arasındaki dengenin bozulması sonucu oluşan durum olarak tarif edilir. Peptik ülser, mide ve duodenum ülseri için kullanılan ortak addır [40]. Ülser oluşumunun epidemiyolojik faktörleri yaş, coğrafi konum ve mevsim farklılıklarıdır. Mide ülseri, Avrupa'da Kuzey Amerika'ya göre çok daha sık görülür.

Yaşlılarda gençlere göre, erkeklerde kadınlara göre mide ülseri görülme riski yüksektir [41], sonbahar ve kış aylarında daha sık ortaya çıktığı saptanmıştır [42]. Gastrik mukoza sürekli olarak birçok zararlı etmene maruz kalmaktadır [43]; travma, stres, sepsis, hemorajik şok, sigara, alkol, kafein ve adrenal kortikoidler [2], NSAİİ'lar, iskemi-reperfüzyon, *Helicobacter pylori* gibi faktörler ile dengenin bozulması sonucu meydana gelen hasarın boyutu, muskularis mukozadan submukozaya ve daha derinlere inerek artar (Şekil 2.2.1).



Şekil 2.2.1. Peptik ülserlerin neden olduğu kanamalar[32].

Helicobacter pylori, kronik gastrit ve peptik ülser hastalıklarına yol açmasıyla bilinen, gastrik mukoza tabakalarında veya midenin epitelyum dış tabakasına yapışık halde bulunan spiral şeklinde, mikraerofilik, gram negatif bir bakteridir [12, 32, 36].

Yaklaşık olarak, duodenal ülserlerin % 90'ına ve gastrik ülserlerin % 80'ine yakın bir kısmının nedenidir. Bu bakteri ile kronik infeksiyon mide mukozasının asidlere karşı olan doğal savunmasını zayıflatarak, mide asidinin nötralleşmesini sağlar, böylece hasarın meydana gelmesi için kendine yaşam alanı oluşturur [33].

Dünya nüfusunun yaklaşık % 50'sinin midesinde *Helicobacter pylori*'nin varlığı tahmin edilmiştir. Türkiye'de görülme sıklığı ise % 70-80 civarındadır [33, 36].

2.3. DENEYSEL ÜLSER MODELLERİ

Ülser, sık görülen bir hastalıktır. Günümüzde yaygın bir biçimde ülser vakalarına rastlanması, araştırmacıları çeşitli ülser modelleri oluşturmaya yönlendirmiş ve bu konuyla ilgili çeşitli başlıklar altında deney hayvanları üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Bu nedenle, klinikte kullanımları için yeni ilaçların geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

2.3.1. NSAİİ'lar ile Oluşturulan Gastrik Ülser Modelleri

Analjezik, antipiretik ve antiinflamatuvar etkilerinden dolayı oldukça yaygın bir biçimde kullanılan NSAİİ'lar, hastalar üzerinde göstermiş oldukları yan etkilerinin ciddi boyutlarda zarar vermelerinden dolayı inceleme konusu olarak seçilmiştir.

Aspirin, indometazin, flurbiprofen, ibuprofen, tolfenamik asid, naproksen, diklofenak gibi NSAİİ'lar, oral, intraperitoneal, intramasküler, subkutan ve parenteral yollarla verilerek deneysel ülser oluşturulmuştur [8, 25, 44].

NSAİİ'ların oluşturdukları gastrik ülserin nedenlerinden biri siklooksijenaz enzimlerini inhibe ederek prostaglandin sentezini azaltmalarındır [45]. Ayrıca, serbest oksijen radikallerini arttırdıkları da bilinmektedir.

2.3.2. Kimyasal Maddeler ile Oluşturulan Gastrik Ülser Modelleri

Pek çok madde, mide mukozasında toksik etki oluşturmaktadır. NSAİİ'lar haricinde de bazı kimyasal maddelerle ülser modelleri oluşturulmuştur. Etanol [6, 39, 46] ve hidroklorik asid [16] bu kimyasalların içinde en çok tercih edilenlerdir. Temeldeki mekanizma serbest radikallerin oluşması ve buna bağlı olarak hücre membranında hasar meydana gelmesidir. Lipid peroksid değerlerinin arttığı, endojen antioksidanların miktarında azalma olduğu bilinmektedir [16].

2.3.3. Stresle Oluşturulan Gastrik Ülser Modelleri

Stresle oluşturulan gastrik ülserlerdeki temel mekanizma, mide mukozasını koruyucu ve zedeleyici faktörler arasındaki dengenin bozulmasına dayanmaktadır.

2.4. SİKLOOKSİJENAZLAR

NSAİİ'ların ve indometazinin gastrointestinal sistemde oluşturdukları hasarın temel sebebi, araşidonik asidden prostaglandinlerin sentezlenmesinde rol oynayan

siklooksijenaz (COX) enziminin inhibisyonudur. COX enzimi iki izoformu şeklinde bulunmaktadır : COX-1 ve COX-2. Konstitutif (yapısal) formu olan COX-1, mide, böbrek tübülleri, damar endoteli, kalp ve trombositlerde bulunurken [30]; indüklenebilir form olan COX-2 ise normal koşullar altında belirlenemeyen ama inflamasyon gibi durumlarda hızlı bir şekilde aktif hale geçen bir enzimdir [46]. Her iki enzim; COX-1 ve COX-2, endoperoksid prostaglandin yani PGG_2 ve PGH_2 'lerin sentezlerinin başlangıcı için uygun aktif katalitik merkezler içerirler. Bu merkezlerde yer alan kısımlar, büyük oranda lipofiliktir ve amfifilik kısımlar enzimin endoplazmik retikulumun üst kısmına bağlanmasını sağlar.

Hasar meydana geldiğinde, araşidonik asid gibi öncül yağ asitleri, bu enzimlere, siklik yapının oluşumunu sağlayan radikal ve tirozinin bulunduğu 385. pozisyondaki geniş lipofilik kısım tarafından bağlanırlar [47]. COX-1 ve COX-2 enzimlerinin her ikisi de, 120. pozisyonda polar arginin molekülünü içerir ve non-selektif inhibitörler her iki enzimin aktivitesini basit bir sterik engelleme ile bu noktada durdururlar. Bu iki enzim arasında yüksek oranda benzerlik mevcuttur: Amino asitlerinin % 61'i aynıdır ve genel olarak % 84'ü benzerlik göstermektedir. Aralarında fark oluşmasının nedeni, belirli pozisyonlarda farklı amino asitlerin yer almasıdır. COX-1 enziminde 523. pozisyonda izolösin bulunurken, COX-2 enziminde valin bulunmaktadır. İzolösin ve valin amino asitlerinin arasındaki yapısal fark, tek bir metil grubundan kaynaklanmakta, bu metil grubu da COX-2 de aktif bölgede fazladan bir boşluk yaratmaktadır. Diğer bir farklılık, COX-1 enziminde fenilalanin, COX-2 enziminde lösin bulunmasıdır, bu fark COX-2 enziminin üst kısmında geniş bir hareket alanı sağlamaktadır. İki arasındaki en önemli farklılık NSAİİ'lerin COX-1 enzimini reversibl olarak bağlamasıdır [48].

2.5. SERBEST RADİKALLER VE ÜLSER İLİŞKİSİ

In vivo sistemlerde, serbest radikal üretimi gerek patolojik koşullarda, gerekse fizyolojik metabolizmada sürekli olan bir olaydır. Serbest radikaller, bir veya birden fazla çiftleşmemiş elektronu olan moleküller olarak tanımlanabilirler [49]. Oksijen kullanan her organizmada, gerçekleşen reaksiyonların bir sonucu olarak serbest radikaller üretilmektedir. Hem oksijen kaynaklı serbest radikaller (ROS) hem de azot kaynaklı

serbest radikaller (RNS), biyolojik sistemlerde çift taraflı rol oynarlar, yani hem yararlı etkileri hem de zararlı etkileri vardır. Serbest radikaller, yüksek konsantrasyonlarda oluştukları takdirde, membran lipidleri, protein ve nükleik asitlerin yıkımına yol açabilecek şekilde zararlı olabilmektedirler. Bu etkileri de antioksidan enzimlere ek olarak non-enzimatik antioksidan sistemler sayesinde dengelenmektedir [50, 51].

Serbest radikaller, genel olarak kararlı değildirler ve çok reaktiftirler. Süperoksid, hidroksil, peroksil, alkoksil ve hidroperoksil radikalleri, serbest radikaller olarak bilinmektedir. Bunlardan süperoksid radikali, oksijen molekülünün bir elektron içerdiği durumlarda meydana gelir ve normalde fagositoz esnasında bakterinin tahribi amacıyla makrofajlar tarafından üretilir. Buna ek olarak serbest radikallerin diğer kaynakları, nötrofiller, eozinofiller, mikrozomlar ve peroksizomlardır [52, 53].

Serbest radikallerin eksojen kaynakları ise, çevresel faktörler ve ksenobiyotiklerdir. Çevresel faktörler, direkt olarak etki edebildiği gibi indirekt olarak, hücrelerde reaktif oksijen türlerini oluşturarak da etki edebilmektedirler. Klorlanmış bileşikler, metal iyonları, radyasyon ve barbitüratlar, ksenobiyotiklere örnek olarak verilebilir ve bu bileşiklerin de oksidatif stres ve hasarı başlattığı bilinmektedir [52].

Plazma membranı serbest radikal reaksiyonlarının kritik bir bölgesidir. Ekstrasellüler olarak üretilen serbest radikaller diğer hücre bileşenleri ile reaksiyona girmeden önce plazma membranını geçmek zorundadır. Bu geçiş esnasında, serbest radikallerin oluşturacağı hasardan çok çabuk etkilenecek olan membrandaki fosfolipidlerin, glikoproteinlerin, gliseridlerin ve sterollerin bünyesinde bulunan ve doymamış yağ asitleri ile okside olabilen transmembran proteinler, toksik maddeleri üreten reaksiyonlara maruz kalmış olacaklardır. Lipid peroksidasyonu veya membran permeabilitesi, intrasellüler metabolik olayların inhibisyonu gibi çeşitli durumlar oluşacaktır [54].

Lipooksijenaz ve siklooksijenaz gibi plazma membranı ile bağlantılı olan enzimler ve mikrozomlar tarafından serbest radikallerin üretimi, bu enzimlerin esas substratı olan araşidonik asidin metabolizması ile de yakından ilişkilidir. Araşidonik asid metabolizması, reaktif oksijen metabolitlerinin önemli bir kaynağıdır [54].

Prostaglandin sentezi esnasında hidroksil radikali veya diğer radikallerin üretimi, COX'ın feed-back regülasyonuna yol açar, prostaglandin sentezinin hız ve süresini etkilerler. COX enzimi, ksénobiyotikleri daha toksik ürünlere metabolize etme yeteneğine sahiptir [55].

Reaktif oksijen metabolitleri, fosfolipaz aktivasyonu ile PGE₂, PGF₂, 6-keto PGF_{1α} ve TXB₂ sentezini gerçekleştirirler. PGE₂ ve I₂ adenilat siklazı inhibe ederek cAMP sentezini arttırırlar ki, süperoksid de cAMP sentezini arttırıcı etkiye sahiptir [56].

2.6. ANTiOKSiDAN SiSTEMLER

Canlılarda kimyasal süreçler, özellikle de oksidlenme, serbest radikallerin oluşmasına neden olur. Yüksek derecede reaktif olan serbest radikaller farklı moleküller ile kolaylıkla reaksiyona girebilir ve böylece canlı hücrelere zarar verebilirler.

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için çeşitli savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar antioksidan savunma sistemleri veya kısaca antioksidanlar olarak bilinirler. Antioksidan moleküller endojen ve eksojen kaynaklı yapılar olup, oluşan oksidan moleküllerin neden olduğu hasarı hem hücre içi hem hücre dışı savunma ile etkisiz hale getirirler. Bu özellikleriyle hücrelerin farklılaşma ve sonuç olarak tümör oluşturma risklerini azalttıkları gibi, hücre yıkımını da azalttıkları için, daha sağlıklı ve yaşlılık etkilerinin minimum olduğu bir yaşam sürdürmemizi sağlarlar [57].

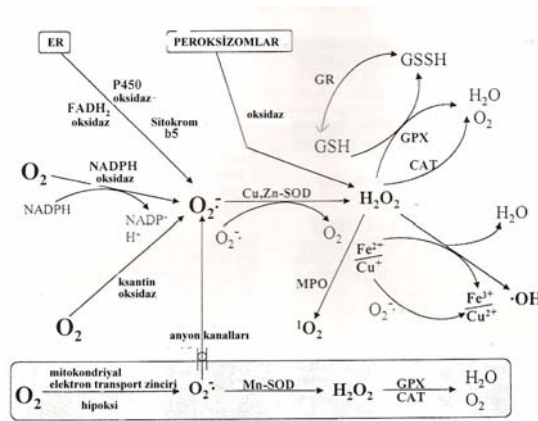
Antioksidan sistemleri, şu başlıklar altında toplayabiliriz [29, 52]:

- 1- Enzimatik antioksidanlar: SOD, CAT, GPx [58, 59]
- 2- Non-enzimatik antioksidanlar : Vitamin C [58, 60], vitamin E [60], Karotenler [58], Vitamin A [58], Selenyum [61]
- 3- Tiol antioksidanlar : Glutasyon [58], Tioredoksinler [62], Flavonoidler [63]

Reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS); UV ışınları yoluyla veya atmosferde meydana gelen kirlilikle meydana gelebildikleri gibi, metal katalizli reaksiyonlar sonucunda veya mitokondri meydana gelen elektron transport reaksiyonları sonucunda oluşabilmektedirler. Reaktif oksijen türlerinin düşük dozlarda bulunması aslında birçok biyokimyasal süreçte vazgeçilmez unsur olarak görülse de, bunların yüksek dozlarda bulunmaları veya yeterli oranda ortamdan uzaklaştırılamamaları, oksidatif stresin başlaması için yeterli bir sebeptir.

Vitaminlerin antioksidan etkileri, okside glutatyonda artışın önlenmesi ve reaktif oksijen türlerinin neden olduğu oksidatif DNA hasarının belli işareti olan mitokondride DNA azalması ile meydana çıkar [64].

Reaktif oksijen türlerine örnek olarak, hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$), süperoksit anyonları ($\text{O}_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksitleri (H_2O_2) verilebilir. Reaktif oksijen türleri ile enzimatik oksidanlar arasında oluşan reaksiyonlar, Şekil 2.6.1’de gösterilmiştir.



Şekil 2.6.1. Reaktif oksijen türleri ile enzimatik antioksidanlar arasında oluşan reaksiyon şeması [65]

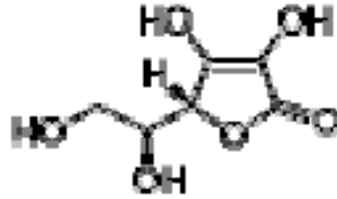
2.6.1. Askorbik Asid (Vitamin C)

Suda çözünen vitaminler sınıfına giren askorbik asid, immun sistemde görev alan güçlü bir antioksidan ve serbest radikal yakalayıcısıdır [66]. Epidemiyolojik çalışmalar,

günlük vitamin C alımının gastrik tümör oluşumu riskini azalttığını göstermiştir [67].

Vitamin C, glukozun bir türevidir (Şekil 2.6.1.1) ve birçok hayvan bu vitamini sentezleyebilir. İnsan ve bazı hayvan gruplarında (kuşlar, balıklar, omurgasızlar), L-gulonolakton oksidaz enziminin eksikliğinden dolayı sentezlenememektedir. Vitamin C, reversibl olarak oksidasyona ve redüksiyona kolaylıkla girebilmektedir [68]. Vitamin C'nin vücutta rol oynadığı bazı metabolik olaylar şu şekilde sıralanabilir:

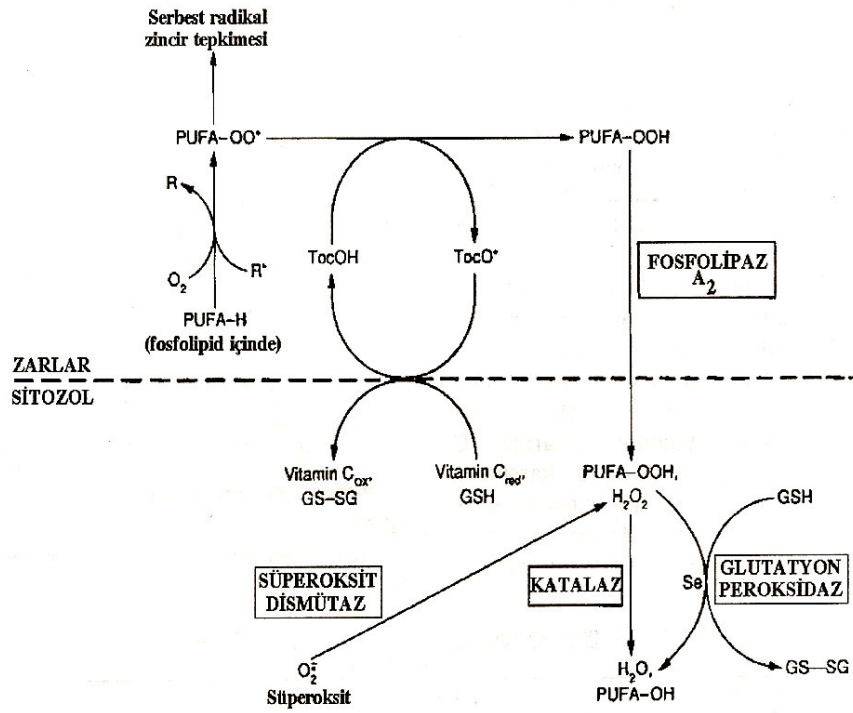
- kollajen sentezi
- tirozin yıkımı
- tirozinden adrenalin sentezi (dopamin β -hidroksilaz basamağı)
- safra asidi oluşumu
- demir emilimi
- pek çok metal kofaktörün indirgenmiş halde tutulması [53, 69]



Şekil 2.6.1.1. Askorbik Asid

Vitamin E ile sinerjik ilişkisi, bu vitamini 'tokoferol radikal formu'ndan tekrar oluşturmaya dayanmaktadır ve böylece vitaminin serbest radikal yakalama kapasitesi muhafaza edilmiş olur [70].

Biyolojik sistemlerde bu iki vitaminin ilişkisi aşağıdaki şema ile gösterilmektedir [69] (Şekil 2.6.1.2). Ortalama ihtiyaç günde 60 mg/gün kadardır [71]. Vitamin C eksikliğinde skorbüt hastalığı meydana gelir.

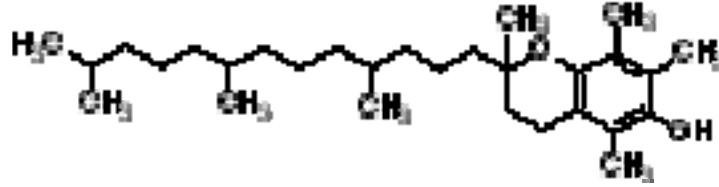


Şekil 2.6.1.2. Vitamin C- Vitamin E etkileşimleri [36]

2.6.2. α -Tokoferol (E vitamini)

Yağda çözünen vitaminler sınıfında yer alan vitamin E, *in vitro* olarak hücre antioksidan sistemlerinde serbest radikal yakalayıcısı olarak görev yapmaktadır. Doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu başlayan zincir reaksiyonları durdurmakta ve böylece serbest radikal başlangıçlı DNA hasarını da önlemektedir [66, 69, 70, 72]. Vitamin E, kendi fenolik hidrojenini, çoklu doymamış yağ asidinin bir peroksil serbest radikale transfer edebilir, bu suretle radikal zincir reaksiyonu kırılmış, hücresel ve subsellüler

membran fosfolipidlerinde doymamış yağ asidi peroksidasyonu önlenmiş olur [73, 74] (Şekil 2.6.1.2 ve Şekil 2.6.2.1). Ayrıca, vitamin A gibi çeşitli bileşiklerin oksidasyonunu önlemek için, vitamin E'ye ihtiyaç duyulmaktadır [75].

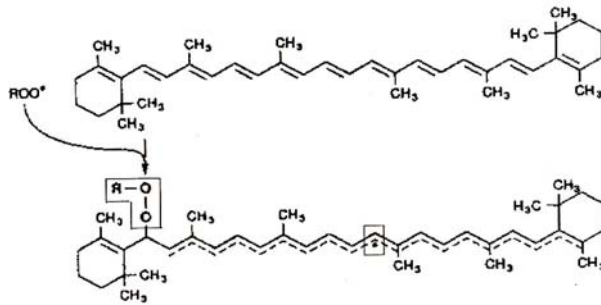


Şekil 2.6.2.1 E vitamini

Absorbe edilmiş vitamin E, lenfatik sistem boyunca bir lipoprotein kompleksi olarak taşınır [74]. E vitamini eksikliğinde görülen en belirgin kimyasal özellik, bu vitaminin doymamış yağ asidlerinin otooksidasyonu üzerine inhibe edici etkisidir.

2.6.3. β -Karoten

Vitamin A öncül maddesi olan β -karoten, birçok yeşil sebzede bulunan bir karotenoiddir [76]. Gastrik hasarda koruyucu olarak da birçok literatürde rapor edilen β -karoten [76, 77], yüksek dozlarda toksik etki göstermemesinden dolayı, lipofilik olmasıyla gastrointestinal sistemde kolay absorbe edilebilmesi ve intraselüler antioksidan özelliğiyle retinoidlere çevrilebilmesiyle [76] *in vitro* sistemlerde son derece önemli bir molekül olarak bilinmektedir. Vitamin A, ince bağırsak mukoza hücrelerinde uzun zincirli yağ asidleri ile tekrar esterleştirilir ve lenfatik sisteme şilomikronların bir bileşeni olarak verilir. Bu bileşenler halinde de karaciğerde depolanır.



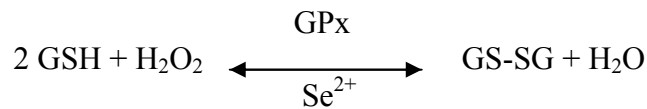
Şekil 2.6.3.1. β -karoten [69]

β -karotenin bir peroksi radikali ile olan reaksiyonu Şekil 2.6.3.1’de gösterilmektedir. β -karoten düşük oksijen derişimlerinde etkili olduğundan, daha yüksek oksijen derişimlerinde olan vitamin E’nin antioksidan niteliklerini tamamlar. Ortalama günlük ihtiyaç, yetişkin bir erkek için, yaklaşık 1000 μ g, kadınlarda ise 800 μ g retinoldür.

2.6.4. Selenyum

Selenyumun memeliler için esansiyel eser elementlerden biri olduğu, Schwarz ve Flotz tarafından 1957 yılında keşfedilmiştir. Selenyumun, bir immün sistem modülatörü olduğu kadar, antioksidan etkiye de sahip olduğu bilinir [78, 79]. Peroksidlerin yok edilmesinde, çift elektronlu detoksifikasyon işlemine duyulan ihtiyaç, selenyuma olan ihtiyacı arttırmıştır [65]. Aynı zamanda, hayvan deneylerinde kansere karşı koruyucu olarak kullanılmıştır [80]. Selenyum, kimyasal reaksiyonlarda selenosistein adı verilen ve bilinen diğer yirmi amino asitten daha farklı bir işleve sahip olan bir molekül modeli ile rol oynamaktadır. Selenosistein, selenoproteinlerle birlikte reaksiyon verdiğinde dokuları ve membranları oksidatif strese karşı korumakta ve hücrelerin redoks potansiyellerini kontrol etmektedir. Bilinen en önemli selenoproteinler ve görevleri şu şekilde sıralanabilir [65]:

-*Glutasyon Peroksidazlar*: H_2O_2 giderilmesi, lipid&fosfolipid hidroperoksidlerinin giderilerek membran stabilitesinin sağlanması, eikosanoid sentezinin yapılması, inflamasyonun düzenlenmesi



-*15 kDa selenoprotein* : Endoplazmik retikulumda protein regülasyonunun düzenlenmesi, karsinomaya karşı prostat hücrelerinin korunması

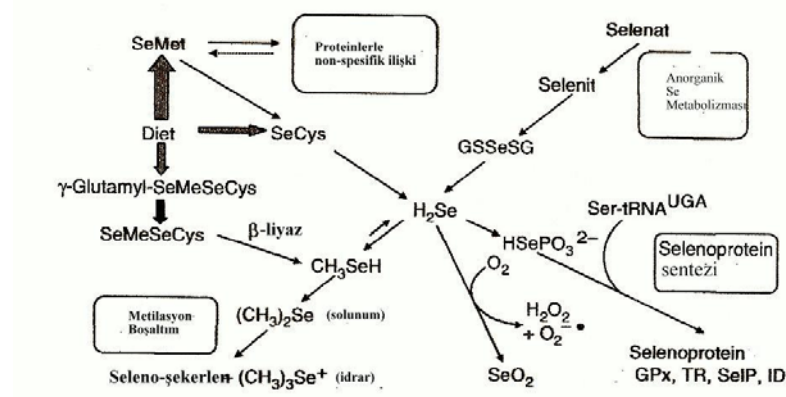
- *Selenoprotein P* : Plazmada bulunur, antioksidan ve taşıyıcı fonksiyonları,

peroksinitrit yakalayıcısı

- *Tioeredoksin redüktazlar* : İntraselüler redoks potansiyelinin korunması, antioksidan sistemlerin yeniden düzenlenmesi, DNA sentezinde nükleotidlerin indirgenmesi

Selenyumun anti-kanser mekanizmalarındaki rolü, metil selenol (CH_3SeH) ile oluşmaktadır. Metil selenolün *in vitro* sistemlerdeki öncülü, metil seleninik asid ($\text{CH}_3\text{SeO}_2\text{H}$) hücre döngüsünde progresyonu, kanser hücrelerinde apoptozisi ve yeni kan damarlarının yapımını engelleyerek tümörlerin gelişip metastaz yapmasını engellemektedir [65] (Şekil 2.6.4.1).

Fakat yararlı etkilerinin yanında, bu elementin aşırı dozlarda alınması, kusma ve diyare ile birlikte gastrointestinal irritasyona sebep olmaktadır. Aynı zamanda aşırı alımı, beyinde hasara, hemolize, karaciğerde nekrozise ve hatta ölümlere bile yol açabilmektedir [80]. Günlük ihtiyaç, erişkin kadınlarda 60, erkeklerde 70 $\mu\text{g/gün}$ olarak verilmektedir [71].



Şekil 2.6.4.1. Selenyumun organizmadaki dönüşümü [65].

2.7. NON-STEROİDAL ANTIİNFLAMATUAR İLAÇLAR

Non-Steroida Antiinflatuar İlaçlar (NSAİİ), analjezik, antipiretik ve antiinflatuar özelliklerinden dolayı günümüzde oldukça yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. İlaç bağımlılığı yapmadıklarından, uyuşukluk ve bilinç bulanıklığı şeklinde nitelenen narkoz hali oluşturmadıklarından dolayı ağırlı hastaların çoğunda tercihen kullanılırlar. Ayrıca son çalışmalar, NSAİİ'lar ankilozan spondilit hastalığında hafifletici bir rol oynadığını, Alzheimer hastalığı ile göğüs, kolorektal, akciğer, gırtlak, prostat ve ağız kanserlerinin tedavisinde veya önlenmesinde etkili olduğunu göstermiştir [81]. Çeşitli kanserlerin tedavilerindeki bu etkileri, apoptozisi stimule etmelerine ve habis (kötü huylu) tümörlerin büyümesini ve gelişmesini baskılamaya yardımcı olan iki mekanizma ile anjiyogenezini inhibe etmelerine dayanmaktadır [82]. Buna karşın; bu grup ilaçların büyük çoğunluğu, grup etkisi olarak gastrointestinal sistemde basit bir dispepsiden (hazımsızlık) ölümle sonuçlanabilen mide perforasyonuna kadar çeşitli boyutlarda yan etkiler oluşturabilmekte ve önemli kardiyovasküler risk meydana getirebilmektedirler [33].

NSAİİ'lar kimyasal yapılarına göre dokuz ana sınıfta incelenmektedir [33]:

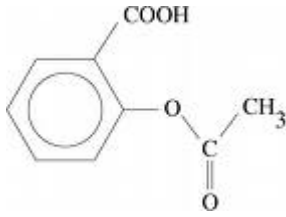
- 1- Salisilatlar : Aspirin, Sodyum Salisilat, Salisilik Asid, Mesalazin (5-Aminosalisilat) ve benzerleri
- 2- Para-Aminofenol Türevleri: Parasetamol (Asetaminofen)
- 3- Pirazolon Türevleri: Propifenazon, Aminopirin, Metamizol Sodyum (Dipiron)
- 4- Profenler (Fenil Propiyonik Asid Türevleri) : İbuprofen, Naproksen, Fenbufen, Tiaprofenik Asid, Ketoprofen, Fenoprofen Kalsiyum, Flurbiprofen, İndoprofen, Zomepirak
- 5- Fenil Asetik Asid Türevleri : Diklofenak Sodyum, Nabumeton, Fenklofenak
- 6- İndol Asetik Asid Türevleri : İndometazin, Tolmetin, Ketorolak, Trometamol, Sulindak
- 7- Fenamik Asid Türevleri : Mefanamik Asid, Flufenamik Asid, Etofenamat, Tolfenamik Asid

8- Oksikamlar & Diğer İlaçlar : Piroksikam, Tenoksikam, Prokuazon, Azapropazon, Metotrimoprazin

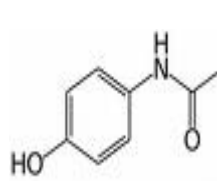
9- COX-2 İnhibitörleri :

a- COX-2' nin Özgül İnhibitörleri : Selekoksisib, Valdekoksisib, Etorikoksisib

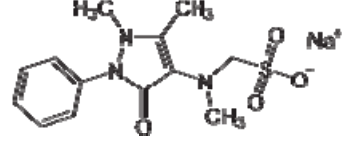
b- COX-2'nin Görece Seçici İnhibitörleri : Etolodak, Meloksikam, Nimesulid



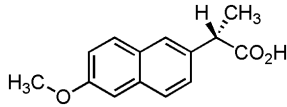
Aspirin



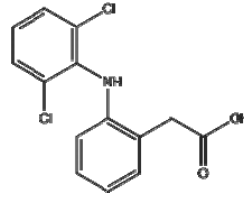
Parasetamol



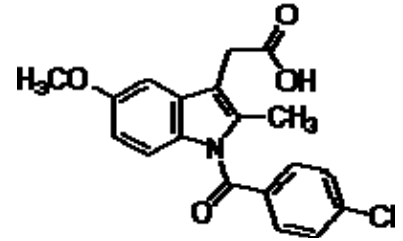
Metamizol Sodyum



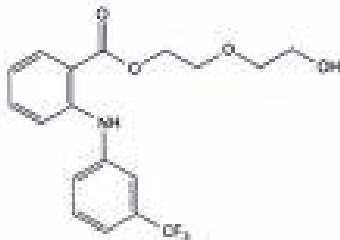
Naproksen



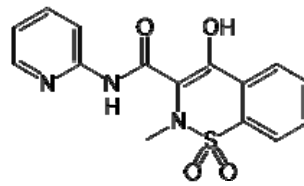
Diklofenak Sodyum



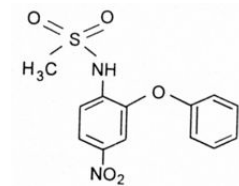
İndometazin



Etofenamat



Piroksikam



Nimesulid

Şekil 2.7.1. NSAİİ sınıfı bazı ilaçların formülleri [33].

NSAİİ sınıfına ait bazı ilaçların formülleri Şekil 2.7.1'de gösterilmiştir. NSAİİ'lerin lokal etkileri asidik özelliklerine bağlıdır. İndometazin ve aspirin, her ikisi de zayıf birer asid olmakla beraber, kuvvetli asidik ortamda her ikisi de non-iyonize halde

bulunmakta, lipidlerde çözünebilmekte ve böylece hızlıca absorbe edilecek şekillerine dönüşerek gastrik mukozal bariyeri kırarak duruma gelmektedirler [83]. Ayrıca pKa değerinin düşmesiyle birlikte, mitokondriyal oksidatif fosforilasyonu da baskılamakta ve hücrel yaşamı tehdit etmektedirler [47]. Oksidatif fosforilasyonun azalması ile mukozal geçirgenlik artar ve buna bağlı olarak asidik sıvının geri difüzyonunda artış meydana gelir [84]. Bunlara ek olarak, NSAİİ'lerin epitelyal HCO_3^- sekresyonunun azaltılması, mukus sentezi ile sekresyonunun ve yüzey hidrofobitesinin azaltılmasında da [85] rol oynadıkları belirtilmektedir.

NSAİİ'lerin asidik sınıflarının iritan etkilerini azaltmak için yapılan kimyasal modifikasyonlar, serbest asidik karboksil grupları üzerindeki çalışmaları içermektedir, çünkü bu gruplar toksik etkinin nedeni olarak kabul edilmektedir. Serbest karboksil gruplarının esterleşmeleri, tıpkı metil aspirin gibi, antiinflamatuar etkinin değişmeden kalırken, NSAİİ'lerin intragastrik uygulamalarda daha az ülserojenik etki gösterdiği kanıtlanmıştır [86]. Ayrıca kiral düzenlemeler ve enterik kaplamalar da yine bu sınıf ilaçların gastrointestinal sisteme yan etkilerinin azaltılması yönündeki çalışmalardan bazılarıdır. Bu yaklaşımla ilacın midede absorpsiyonu engellenmekte, sanki bir pro-ilac gibi formüle edilmesiyle mide mukozasıyla aktif ilaç arasındaki bağ önlenmektedir [47].

2.7.1. Analjezik Etkileri:

Ağrı-yapıcı kimyasal veya mekanik etkenlerin periferde prostaglandinlerin sentezini arttırdığı ve periferik aferent sinir uçlarının ağrı uyarılarına karşı duyarlılığını arttırdıkları bilinmektedir; pek çoğunda bulunan ortak bir özellik, dokularda araşidonik asidden prostaglandinlerin ve diğer bazı eikozanoidlerin oluşmasını katalize eden siklooksijenaz enzimlerini inhibe etmeleridir.

Hiperalezik etkenlerin duyuşal sinir uçlarında adenilat siklazı aktive ederek cAMP düzeyini yükselttikleri ve sinir ucuna Ca^{2+} girişini arttırdıkları saptanmış ve hiperalezik etkinin hücrel düzeyde bu temele dayandığı ileri sürülmüştür.

Santral sinir sisteminde (SSS), nöronların eksitasyonu sonucu sinir uçlarına veya nöron gövdelerine Ca^{2+} girişinin artması bu yerlerde prostaglandinlerin sentezini ve

salıverilmesini arttırır. Omurilikte prostaglandin düzeyinin artması, periferden gelen duyuşal sinir uçlarındaki sinapslarda nöromediyatörlerin (nöropeptidler) salıverilmesini arttırır. Yani, analjezik etkilerini, SSS ağrı ile ilgili sinapslarda prostaglandin etkinliğini azaltmak suretiyle yaptıkları ileri sürülmüştür.

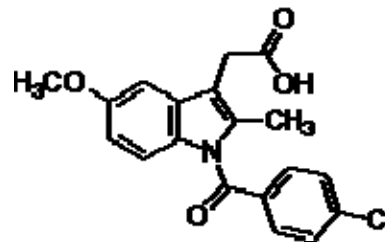
2.7.2. Antipiretik Etkileri

Vücut temperaturünün immünolojik etkileşmeye bağılı olarak yükselmesi diye kısaca tanımlanan ateş (pirezis) infeksiyon hastalıklarının en önemli bir belirtisidir. Antipiretik ilaçlar, ateş şeklindeki hipertermide yükselmiş olan ateşi düşürürler ve normale döndürürler. Normal vücut temperaturünü düşürmezler.

2.7.3. Antiinflatuar Etkileri

Ağrı yapıcı etkenler, dokuda tahriş ve zedelenme meydana getirirken, immünolojik reaksiyonlar; lokal araşidonik asidden prostasiklin ve prostaglandinlerin sentezini arttırırlar. Bu sırada siklik endoperoksidler denilen PGG_2 ve PGH_2 maddelerinin, tromboksan A_2 (TxA_2) ve trombosit aktive edici faktörün (PAF, asetil-gliseril eter fosforilkolin) oluşumu artar. Ayrıca iltihaplı dokuda, araşidonik asitten lipooksijenaz enzimleri tarafından oluşturulan hidroperoksi yağ asidlerinin (HPETE, HETE) ve lökotrienlerin (LTB_4 , LTC_4 , LTD_4 ve LTE_4) miktarı da artar.

2.7.4. İndometazin



Şekil 2.7.4.1. İndometazin [33].

Sistematik adı, 1-(4-klorobenzoil)-5-metoksi-2-metil-3-indolasetik asid olan indometazin, analjezik, antipiretik ve antiinflamatuvar etkisi olan bir ilaç olup formülü Şekil 2.7.4.1’de verildi. Ağızdan alınan 50 mg indometazin, 600 mg aspirin ile aşağı yukarı eşit derecede analjezi yapar. Antiinflamatuvar etkisi naprokseninkine eşit veya daha fazladır. Yan etkilerinin fazlalılığı nedeniyle sadece ankilozan spondilit, osteoartrit ve romatoid artrit gibi romatizmal hastalıklarda, akut gut artritinde ve bursit, tendinit ve travmatik sinovit gibi durumlarda kullanılması tavsiye edilmektedir. İlacın vazokonstriktör etkisi de vardır [33].

Deneysel çalışmalarda, indometazinin çeşitli endojen maddelerin yaptığı kapiler permeabilite artmasını önleyebildiği gösterilmiştir. Söz konusu etkiler, kısmen prostaglandin sentezini inhibe etmesine bağlıdır. Ayrıca, sitotoksik nitelikteki aktif oksijen radikallerini bağlayarak inaktive eder. İndometazin, *in vitro* olarak fosfodiesterazı güçlü bir şekilde inhibe eder ve intrasellüler cAMP konsantrasyonunu yükseltir. cAMP’ın polimorf çekirdekli lökositler ile makrofajlarda lizozom membranını stabilize ettiği ve trombositlerde fosfolipidlerin araşidonik aside dönüşmesini inhibe ettiği bir varsayım olarak ileri sürülmüştür. Bu nedenle, indometazinin hücrelerde cAMP düzeyini yükseltmesi antiinflamatuvar etkisinin oluşmasına katkıda bulunabilir [87].

Ağız yolundan alındığında gastrointestinal kanaldan çabuk ve tam absorbe edilir. Plazmada yarılanma ömrü iki saat kadardır, fakat bu değerden beklenene göre daha uzun etkinlik gösterir. Bunun nedeni, kısmen dokularda toplanması ve plazmadan kaybolan ilacın yerine dokudan plazmaya indometazin salıverilmesidir [88, 89].

Yan Etkileri : Sık olarak baş ağrısı, baş dönmesi ve mide barsak bozuklukları yapar. Gastrointestinal kanaldaki tahriş edici etkisi nedeniyle yaptığı bozukluklar arasında bulantı, kusma, dispepsi ve diyare vardır, baş dönmesi, konfüzyon, uyuşukluk, hallüsinasyonlar ve senkop yapabilir. İndometazin tedavisi sırasında sık görülen bir yan etki türü de santral sinir sistemi ile ilgili olandır. Konvülsiyonlara ve epilepsililerde nöbetlere neden olabilir. Korneada retina bozukluğu yapabilir. Gastrit, gizli kanama ve mide ülseri meydana getirebilmektedir. Ayrıca, özofagus, duodenum ve ince barsakta da ülser yapabilmektedir. Seyrek olarak da toksik hepatit yaptığı bildirilmiştir. Böbrek

fonksiyonunu bozabilir; bu durum böbreklerde prostaglandin sentezininin inhibe edilmesine bağlıdır. Böbrek kan akımını azaltabilir. Su ve tuz retansiyonu ve bunlara bağlı ödem yapabilir. Kan üre azotunda ve kreatinin düzeyinde geçici artma yapar. Çocuklarda indometazinin infeksiyonlara karşı reaksiyonunu bozabildiği ve ani ölüm yapabildiği bildirilmiştir, bunun üzerine çocuklarda kullanılmasından vazgeçilmiştir [33]. İndometazin, gastrointestinal yan etki oluşturmada en tehlikelilerin başında gelmektedir. Mide mukozasını bozar ve PGI_2 ve PGE_2 sentezini inhibe eder. İndometazin, bu nedenle mide hasarı oluşturulmasında, deney hayvanlarında tercihen kullanılmaktadır [83].

Çalışmamızda, indometazin ile oluşturulan gastrik mukozal hasara karşı ilk defa kombine olarak verilen vitamin C, vitamin E, β -karoten ve selenyumun koruyucu etkilerinin olup olmadığı biyokimyasal olarak incelenmiştir.

3. MALZEME VE YÖNTEM

Bu çalışma, İ.Ü. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun, 13.02.2008 tarih ve 21 sayılı izni ile yapılmıştır. Çalışmamızda, İ.Ü. Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden (DETAE) temin edilen 2,5-3 aylık 48 adet Sprague-Dawley erkek sıçanlar kullanıldı. Deney süresince hayvanlar pellet yem ve çeşme suyu ile beslendi. Rasgele seçilen ve deney öncesinde yem verilmeyen sıçanlar 6 gruba ayrıldı.

Grup 1 : Kontrol grubu	(n=8)
Grup 2: Kontrol+Antioksidan grubu (Vit. C + Vit. E + β - karoten + Na ₂ SeO ₄)	(n=8)
Grup 3: İndometazin ile mide hasarı oluşturulan deney grubu	(n=8)
Grup 4: İndometazin+Antioksidan grubu (Vit. C + Vit. E + β - karoten + Na ₂ SeO ₄)	(n=8)
Grup 5: Kontrol+Ranitidin grubu	(n=8)
Grup 6: İndometazin+Ranitidin grubu	(n=8)

1. grubu oluşturan sıçanlar kontrol grubu sıçanlardı.

2. grubu oluşturan sıçanlara 3 gün süre ile oral olarak her gün 09.00-10.00 saatleri arasında vitamin C (100 mg/kg/gün), vitamin E (100 mg/kg/gün), β -karoten (15 mg/kg/gün), sodyum selenat (Na₂SeO₄) (0,2 mg/kg/gün), birbiri ardına oral olarak verildi.

3. grubu oluşturan sıçanlar akut gastrik lezyon oluşturmak amacıyla, oral olarak, sadece 25 mg/kg tek doz indometazin verilen sıçanlardı.

4. gruba ait sıçanlara vitamin C (100 mg/kg/gün), vitamin E (100 mg/kg/gün), β -karoten (15 mg/kg/gün), sodyum selenat (Na₂SeO₄) (0,2 mg/kg/gün) aynı doz ve sürede birbiri ardına oral yoldan verildikten 2 saat sonra akut lezyon oluşturmak amacıyla, tek doz olarak, 25mg/kg indometazin verildi.

5. gruba ait sıçanlara 3 gün süre ile oral olarak her gün 09.00-10.00 saatleri arasında 150 mg/kg ranitidin verildi.

6. gruba ait sıçanlara ise ranitidin aynı doz ve sürede verildikten 2 saat sonra akut lezyon oluşturmak amacıyla sıçanlara tek doz oral olarak 25 mg/kg indometazin verildi.

Deneylerden bir gün önce 18 saat süre ile aç bırakılan sıçanlardan, 3. grup sıçanlar indometazin verilmesinden 6 saat, 4. ve 6. grup sıçanlar ise antioksidan, ranitidin ve indometazin uygulamalarından 8 saat sonra kesildiler. 2. ve 5. grubu oluşturan sıçanlar ise vitamin C, vitamin E, β -karoten ve selenyum ve ranitidin verilmesinden 2 saat sonra, 1. grup sıçanlar ile birlikte kesildiler. Eter anestezisi ile bayıltılan sıçanlardan steril enjektör ile kalp kanları ve mide doku örnekleri alındı. Mide dokuları derin dondurucuda -86 °C'de deneylerin yapılacağı güne kadar saklandı.

3.1. MİDE DOKU HOMOJENİZATLARININ HAZIRLANMASI

Deneyin yapılacağı güne kadar -86 °C'de saklanan mide dokuları, deneyin yapılacağı günden bir gün önce, -20 °C'ye alındı ve dokular +4 °C'de bir gece bekletildi. Mide doku örnekleri serum fizyolojik ile yıkanıp temizlendikten sonra süzgeç kağıdı ile kurutularak tartıldı. Dokular bir makas yardımı ile küçük parçalara ayrıldı. Gerekli miktarda serum fizyolojik ile cam homojenizatörde çok çabuk olarak homojenize edilerek % 10'luk (v/w) çözeltileri hazırlandı. Homojenizatlar 20000 x g'de 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlarda lipid peroksidasyonu, protein karbonil, siyalik asid ve protein miktarları ile katalaz, laktat dehidrojenaz ve glutatyon-S-transferaz aktiviteleri tayin edildi.

3.2. KANDA GLUTATYON TAYİNİ [90]

Kanda glutatyon Ellman yöntemine göre tayin edildi [90]. Metodda Ellman ayıracı (DTNB: 5,5'-ditio-bis- (2-nitro) benzoik asid) ile sülfidril gruplarının reaksiyonu sonucunda oluşan sarı renkli ürünün absorbanşı, spektrofotometrede 412 nm'de okundu.

Kullanılan Çözeltiler:

Çöktürme Çözeltisi	: 1,67 g metafosforik asid, 0,2 g Na ₂ EDTA (veya K ₂ EDTA) ve 30 g NaCl metal iyonları içermeyen destile suda çözülerek 100 mL'ye tamamlandı. Çözelti +4 °C'de 3 hafta dayanıklıdır.
%1 Sodyum Sitrat Çözeltisi	: 1 g sodyum sitrat, destile suda çözülerek 100 mL'ye tamamlandı. Bu çözelti belirtme reaktifi hazırlanırken kullanıldı.
Belirtme Reaktifi	: 40 mg 5,5'-ditio-bis- (2-nitro) benzoik asid (DTNB), %1 sodyum sitrat çözeltisinde çözülerek 100 mL'ye tamamlandı. Çözelti +4 °C'de 13 hafta dayanıklıdır.
0.3 M Sodyum Sekonder Fosfat Çözeltisi	: 4.2588 g sodyum sekonder fosfat anhidrit tuzu destile suda çözüldü ve 100 mL'ye destile su ile tamamlandı.
Glutatyon Standart Çözeltisi	: 100 mg glutatyon (GSH) destile suda çözüldü ve 100 mL'ye tamamlandı. Bu stok çözeltiden 10, 15, 20, 30, 45, 60 mg GSH / 100 mL olacak şekilde glutatyon standartları hazırlandı ve bu standartlar yardımıyla glutatyon standart eğrisi çizildi.

Deneyin Yapılışı:

İçine 1,9 mL destile su konulmuş deney tüpüne 0.1 mL kan ilave edilerek hemoliz edildi. 5 dakika sonra tüpün üzerine 3 mL çöktürme çözeltisi ilave edilerek karıştırıldı. Proteinlerin çökmesi için beklendi ve mavi bantlı süzgeç kağıdından kağıt ıslatılmadan süzüldü.

Diğer yandan 8 mL fosfat tamponu konulmuş tüplerin üzerine berrak süzüntüden 2 mL ilave edildi, tüpler çalkalandı. Tüplere 1 mL belirtme reaktifi katıldı.

Kör; 8 mL sodyum sekonder fosfat çözeltisi üzerine 2 mL seyreltik çöktürme çözeltisi (3 mL çöktürme çözeltisi + 2 mL destile su) ve 1 mL belirtme reaktifi ilave edilerek hazırlandı.

Standart için ise 1,9 mL destile su konulmuş tüpler üzerine 0,1 mL glutatyon standartlarından ilave edildi, işlemlere yukarıdaki gibi devam edildi. Tüplerde oluşan sarı rengin absorbansı 412 nm'de spektrofotometrede köre karşı okundu. Kanda glutatyon miktarı standart eğri yardımıyla hesaplandı.

3.3. SERUMDA ASPARTAT AMİNO TRANSFERAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ [91]

Serumda aspartat amino transferaz (AST) aktivitesi tayini için Reitman ve Frankel metodu kullanıldı. Serumda AST, L-aspartik asitten ve α -ketoglutarik asitten okzalasetik asid ve L-glutamik asid meydana getirir. Okzalasetik asidin, 2,4-dinitrofenilhidrazinle verdiği renk, spektrofotometrede değerlendirilerek enzim aktivitesi tayin edildi [91].

Kullanılan Çözeltiler:

AST Substratı : 1.50 g K_2HPO_4 , 0.20 g KH_2PO_4 (0.1 M fosfat tamponu), 0.030 g α -ketoglutarat (2 mM), 1.32 g L-aspartik asid (0.1 M) tartılarak ayrı ayrı destile

su ile çözüldü ve hacmi destile su ile 70 mL'ye tamamlandı. pH ölçüldü ve pH 7.4 olana kadar 0.4 N NaOH'ten damla damla karışıma ilave edildi ve destile su ile hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

1 mM Kromojen Çözeltisi

(2,4-dinitrofenil hidrazin)

: 20 mg 2,4-dinitrofenil hidrazin, 1 N HCl'de çözüldü, hacmi aynı çözelti ile 100 mL'ye tamamlandı.

1 N HCl Çözeltisi

: 8.28 mL derişik HCl alındı ve hacmi 100 mL'ye destile su ile tamamlandı.

0.4 N NaOH Çözeltisi

: 16 g NaOH destile suda çözülerek hacmi 1L'ye destile su ile tamamlandı.

2 mM Piruvat Çözeltisi

: 22 mg sodyum piruvat, destile suda çözüldü ve hacmi destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

Çözeltilerin Dayanıklılığı:

NaOH ve kromojen çözeltilerinin kapakları iyi kapatılırsa süresiz olarak dayanıklıdır. ALT substratı ve piruvat çözeltisi +4°C'de saklanır. Bu iki çözeltiye iki aydan fazla dayanması için birkaç damla kloroform ilave edilir.

Deneyin Yapılışı:

Tampon çözeltiden 1 mL alındı ve üzerine 0.2 mL serum ilave edildi. Tüpler karıştırıldı ve bir saat 37 °C su banyosunda inkübe edildi. Üzerine 1 mL kromojen çözeltisi ilave edildi ve karıştırıldı. 20 dakika oda temperaturünde bekletildi. 10 mL NaOH çözeltisi ilave edildi ve karıştırıldı. 5 dakika sonra 546 nm'de köre karşı absorbanlar ölçüldü. Standart eğri yardımıyla U/L cinsinden numunedeki AST aktivitesi tayin edildi. Kör deney için 1.2 mL destile suya 1 mL kromojen ve 10 mL NaOH çözeltisi ilave edildi.

3.4. SERUMDA ALANİN AMİNO TRANSFERAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ [91]

Serumda alanin amino transferaz (ALT) aktivitesi tayini için Reitman ve Frankel metodu kullanıldı [91]. Serumda ALT, DL-alanin ve α -ketoglutarik asidden piruvik asid ve L-glutamik asid meydana getirir. Piruvik asidin, 2,4-dinitrofenilhidrazinle verdiği renk, spektrofotometrede değerlendirilerek enzim aktivitesi tayin edildi.

Kullanılan Çözeltiler:

ALT Substratı : 1.50 g K_2HPO_4 , 0.20 g KH_2PO_4 (0.1 M fosfat tamponu), 0.030 g α -ketoglutarat (2 mM), 1.78 g DL-alanin (0.2 M), tartılarak ayrı ayrı destile su ile çözüldü ve hacmi destile su ile 70 mL'ye tamamlandı. pH ölçüldü ve pH 7.4 olana kadar 0.4 N NaOH'ten damla damla karışıma ilave edildi ve destile su ile hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

1 mM Kromojen Çözeltisi (2,4-dinitrofenil hidrazin) : 20 mg 2,4-dinitrofenil hidrazin, 1 N HCl'de çözüldü, hacmi aynı çözelti ile 100 mL'ye tamamlandı.

1 N HCl Çözeltisi : 8.28 mL derişik HCl alındı ve hacmi 100 mL'ye destile su ile tamamlandı.

0.4 N NaOH Çözeltisi : 16 g NaOH destile suda çözülerek hacmi 1L'ye destile su ile tamamlandı.

2 mM Piruvat Çözeltisi : 22 mg sodyum piruvat, destile suda çözüldü ve hacmi destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

Çözeltilerin Dayanıklılığı:

NaOH ve kromojen çözeltilerinin kapakları iyi kapatılırsa süresiz olarak dayanıklıdır. ALT substratı ve piruvat çözeltisi +4 °C'de saklanır. Bu iki çözeltiye iki aydan fazla dayanması için birkaç damla kloroform ilave edilir.

Deneyin Yapılışı:

Tampon çözeltiden 1 mL alındı ve üzerine 0.2 mL serum ilave edildi. Tüpler karıştırıldı ve yarım saat 37 °C su banyosunda inkübe edildi. Üzerine 1 mL kromojen çözeltisi ilave edildi. Karıştırıldı ve 20 dakika oda temperaturünde bekletildi. 10 mL NaOH çözeltisi ilave edildi ve tekrar karıştırıldı. 5 dakika sonra 546 nm'de köre karşı absorbanslar ölçüldü. Standart eğri yardımıyla U/L cinsinden numunedeki ALT aktivitesi tayin edildi. Kör deney için 1.2 mL destile suya 1 mL kromojen ve 10 mL NaOH çözeltisi ilave edildi.

3.5. SERUMDA ALKALİ FOSFATAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ [92]

Serumda alkali fosfataz aktivitesi, Walter yöntemine göre tayin edildi [92]. Alkali fosfataz enzimi substrat olarak kullanılan p-nitrofenil fosfatı ortamın pH'ına bağlı olarak p-nitrofenol'e hidroliz etmektedir. Meydana gelen ürünün 405 nm'de verdiği absorbans spektrofotometrik olarak değerlendirilir .

Kullanılan Çözeltiler:

0.1 HCl Çözeltisi : 0.828 mL derişik HCl alındı ve hacmi 100 mL'ye destile su ile tamamlandı.

Tampon Çözelti : 1.052 g dietanolamin, 8 mL 0.1 N HCl, 46.4 mg 4-nitrofenilfosfat 85 mL destile

suda çözüldü. 0.1 N HCl ile pH'ı 9.8'e ayarlandı. Daha sonra hacmi destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

0.05 N NaOH Çözeltisi

: 0.2 g NaOH biraz destile suda çözüldü ve hacmi 100 mL'ye destile su ile tamamlandı.

Deneyin Yapılışı:

Numune, standart ve kör tüpleri aşağıdaki gibi hazırlandı.

Reaktifler	Numune	Kör
Tampon Çözelti	2 mL	2 mL
Destile Su	-	0.05 mL
Serum	0.05 mL	-
Vortekste karıştırılır ve oda temperaturünde 30 dakika inkübe edilir.		
NaOH Çözeltisi	10 mL	10 mL

Absorbanslar, spektrofotometrede 405 nm'de köre karşı okundu.

Alkali Fosfataz aktivitesi, aşağıdaki denkleme göre hesaplandı.

$$\text{Alkali Fosfataz Aktivitesi (U/L)} = \text{Absorbans} \times 434$$

3.6. MİDE DOKUSUNDA SİYALİK ASİD MİKTARI TAYİNİ [93]

Mide dokusunda siyalik asid miktarı, Lorentz metoduna göre tayin edildi [93]. Siyalik asid, periyodik asid oksidasyonuna uğrayarak, β -formil pürivik asit oluşur. Bu bileşik, 2 mol tiyobarbütirik asid ile reaksiyona girerek, 546 nm'de maksimum absorbans veren

renkli bir bileşik oluşturur. Bu ürün, stabil değildir. Bu nedenle sikloheksanon fazına çekilir.

Kullanılan Çözeltiler:

1.617 mM Siyalik Asid Standardı	: 0.005 g siyalik asid 10 mL destile suda çözüldü.
155 mM NaCl Çözeltisi	: 0.905 g NaCl 100 mL destile suda çözüldü.
6.7 mM H₂SO₄ Çözeltisi	: 0.356 mL derişik H ₂ SO ₄ , 100 mL'ye destile su ile tamamlandı.
0.2 M Sodyum Meta Periyodat Çözeltisi	: 4.277 g sodyum meta periyodat tuzu, 9 mol/L'lik H ₃ PO ₄ çözeltisi ile çözülerek hacmi, bu çözelti ile 100 mL'ye tamamlandı.
1.54 M Sodyum Meta Arsenit Çözeltisi	: 20 g sodyum meta arsenit, 7.102 g Na ₂ SO ₄ tuzu ile birlikte 0.266 mL/100 mL'lik H ₂ SO ₄ çözeltisi ile çözüldü ve hacmi bu çözelti ile 100 mL'ye tamamlandı.
Tiyobarbütirik Asid Çözeltisi	: 0.533 g TBA, 7.102 g/100mL'lik Na ₂ SO ₄ çözeltisi içinde çözüldü.

Deneyin Yapılışı:

Kör, numune ve standart tüpleri aşağıdaki gibi hazırlandı.

Reaktifler	Kör	Numune	Standart
Süpernatant	-	25 µL	-
Destile Su	25 µL	-	-
Standart	-	-	25 µL
NaCl	250 µL	250 µL	250 µL
6.7 mM H₂SO₄	750 µL	750 µL	750 µL
80 °C’de 60 dakika bekletilir ve oda temperaturünde su ile soğutulur.			
Sodyum Meta Periyodat	250 µL	250 µL	250 µL
20 dakika oda temperaturünde bekletilir.			
Sodyum Meta Arsenit	1 mL	1 mL	1 mL
İyodun rengi gidinceye kadar karıştırılır.			
TBA	2.5 mL	2.5 mL	2.5 mL
15 dakika 95 °C’de kaynatılır ve oda temperaturünde soğutulur.			
Siklohekzanon	5 mL	5 mL	5 mL

Tüpler 10 dakika santrifüje edildikten sonra, absorbansları 546 nm’de köre karşı okundu. Aşağıdaki formül yardımı ile mide dokusunun siyalik asid miktarı µmol/g protein olarak hesaplandı.

$$C_{\text{örnek}} \text{ (mmol/L)} = (\Delta A_{\text{örnek}} \times C_{\text{standart}}) / \Delta A_{\text{standart}}$$

$$\text{Siyalik Asid (µmol/g protein)} = \mu\text{mol siyalik asid/ g protein}$$

3.7. MİDE DOKUSUNDA MUSİN MİKTARI TAYİNİ [94]

Metod, musindeki heksoz bileşiklerinin belirlenmesi amacıyla, spektrofotometrik olarak, derişik sülfürik asidli ortamda karbohidratların orsinol ile verdiği renk reaksiyonuna dayanır [94].

Kullanılan Çözeltiler:

2 N HCl Çözeltisi : 16.57 mL derişik HCl, 100 mL'ye destile su ile tamamlandı.

%1 Fosfotungstik Asid Çözeltisi : 1 g fosfotungstik asid, 100 mL destile suda çözüldü.

4 N NaOH Çözeltisi : 16 g NaOH, 100 mL destile suda çözüldü.

% 1.6 Orsinol Çözeltisi : 0.16 g orsinol monohidrat, 10 mL destile suda çözüldü.

%60 H₂SO₄ Çözeltisi : 33.27 mL derişik H₂SO₄, 100 mL'ye destile su ile tamamlanır.

%95 Etil Alkol

Belirli bir miktar tartılan mide dokusu, peptid bağlarının açığa çıkması için 1 mL 2N HCl ve 1 mL %1 fosfotungstik asid çözeltileri ile 4 saat boyunca kaynar su banyosunda bekletildi. Bunun ardından hidrolizat, 4N NaOH ile nötralize edildi ve 1:10 oranında %95'lik etil alkol ile seyreltili.

Kör, numune ve standart tüpleri aşağıdaki tabloda belirtildiği gibi hazırlandı.

Reaktifler	Kör	Numune	Standart
Hidrolizat	-	0.25 mL	-
Destile Su	0.25 mL	-	-
Standart	-	-	0.25 mL
Orsinol	0.25 mL	0.25 mL	0.25 mL
% 60 H ₂ SO ₄	2 mL	2 mL	2 mL

Karışım 10 dakika boyunca kaynar su banyosunda tutuldu, buzda soğutuldu. Köre karşı absorbans 425 nm’de okundu ve standart eğri yardımıyla mide dokusunun musin miktarı hesaplandı.

3.8. MİDE DOKUSUNDA HEKSOZAMİN MİKTARI TAYİNİ [94]

Gastrik dokuda heksozamin miktarı, modifiye edilmiş Winzler metoduna göre tayin edildi [94]. Belirli miktar tartılan mide dokusu, peptid bağlarının açığa çıkması için 1 mL 2N HCl ve 1 mL %1 fosfotungstik asid çözeltileri ile 4 saat boyunca kaynar su banyosunda bekletildi. Bunun ardından hidrolizat, 3N NaOH ile nötralize edildi ve 10 mL’ye destile su ile seyreltilti.

Kullanılan Çözeltiler:

Asetilaseton Çözeltisi : 1 mL Asetilaseton, 0.5 M Na₂CO₃ çözeltisi ile 50 mL’ye tamamlandı.

Ehrlich Ayıracı : 0.8 g p-dimetilaminobenzaldehid, 30 mL metanol ve 30 mL derişik HCl’de çözüldü.

Glukozamin HCl Standardı : 10 mg glukozamin hidroklorür, 10 mL destile suda çözüldü. Bu çözelti stok çözeltidir ve bu çözeltiden konsantrasyonları 5, 10, 20, 40 ve 50

$\mu\text{g/mL}$ olacak şekilde seyreltmeler yapılarak standart çözeltiler hazırlandı.

Deneyin Yapılışı:

Numune, kör ve standart tüpleri, aşağıdaki tabloda belirtildiği gibi hazırlandı.

Reaktifler	Kör	Numune	Standart
Asetilaseton Çözeltisi	1 mL	1 mL	1mL
Destile Su	1 mL	-	-
Hidrolizat	-	1 mL	-
Standart	-	-	1 mL
Vortekslenen tüpler 15 dakika kaynar su banyosunda bekletilir. Ardından soğutulur.			
%95 Etil alkol	5 mL	5 mL	5 mL
Ehrlich Ayıracı	1 mL	1 mL	1 mL
Son hacim %95'lik etil alkol ile 10 mL ye tamamlanır.			

Absorbanslar spektrofotometrede 530 nm'de köre karşı okundu. Standart eğri grafiğinden yararlanılarak mide dokusunun heksozamin miktarı hesaplandı.

3.9. MİDE DOKUSUNDA LİPİD PEROKSİDASYONU MİKTARI TAYİNİ [95]

Lipid peroksidasyonu Ledwozyw metoduna [95] göre tayin edildi. Başlıca malondialdehid (MDA) olmak üzere lipid peroksid ürünleri, tiyobarbutirik asid (TBA) arasındaki reaksiyon sonucu oluşan pembe-kırmızı rengin absorbansı spektrofotometrik olarak değerlendirildi. TBA ile reaksiyona girerek aynı rengi veren suda çözünür maddeler fosfotungstik asid- H_2SO_4 sistemi ile çöktürülerek uzaklaştırıldı.

Kullanılan Çözeltiler:

1.22 M TCA Çözeltisi

(0,6 M HCl deki)

: 49.8339 g trikloroasetik asid 0.6 M HCl de çözöldü ve hacmi 250 mL ye 0.6 M HCl ile tamamlandı.

0.6 M HCl Çözeltisi

: 12.43 mL derişik HCl, 250 mL'ye destile su ile seyreltildi.

1 M NaOH Çözeltisi

: 4 g NaOH destile suda çözöldü ve hacmi 100 mL'ye destile su ile tamamlandı.

Tiyobarbütirik Asid Çözeltisi

: 500 mg TBA, 6 mL 1 M NaOH ve 69 mL bidestile suda çözöldü.

Standart Çözeltisi

: (4,4 nmol/mL 1,1,3,3-tetra etoksi propan), 0.1 mL 1,1,3,3-tetra etoksi propan 100 mL'ye destile su ile seyreltildi.

Deneyin Yapılışı:

Numune, standart ve kör tüpleri aşğıdaki gibi hazırlandı.

Numune, standart ve kör tüpleri hazırlandıktan sonra vortekste iyice karıştırıldı. 30 dakika kaynar su banyosunda ağızlarına bilye kapatılarak bekletildi. Daha sonra soğutulup üzerine 2 mL n-butanol eklenip 40-50 kez alt üst edildi ve 10 dakika santrifüj edildi. Butanol fazı alınarak 532 nm'deki absorbands, köre karşı okundu. Mide dokusunda LPO miktarı aşğıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\text{nmol MDA/mg protein} = (N_{\text{abs}} / St_{\text{abs}}) \times (4.4/P) \times 100$$

4,4 : Standart Çözeltisi (nmol/mL TEP)

P: % mg cinsinden doku protein miktarı

Reaktifler	Kör	Numune	Standart
Süpernatant	-	0.5 mL	-
TCA (1.22 M)	2.5 mL	2.5 mL	2.5 mL
Tüpler vortekste karıştırılır ve 15 dakika beklenir			
Standart	-	-	0.5 mL
Bidestile Su	0.5 mL	-	-
TBA	0.75 mL	0.75 mL	0.75 mL

3.10. MİDE DOKUSUNDA PROTEİN KARBONİL MİKTARI TAYİNİ [96]

Doku protein karbonil miktarı, spektrofotometrik olarak, 2,4-dinitrofenilhidrazinin karbonil gruplarıyla reaksiyona girerek 2,4-dinitrofenilhidrazonu oluşturmaya bağlı olarak belirlendi [96]. 2,4-dinitrofenilhidrazin, metal katalizli oksidasyona uğramış olan proteinler için bir belirteçtir.

Kullanılan Çözeltiler:

10 mM DNPH Çözeltisi : 0.1981 g DNPH, 2.5 M HCl'de çözüldü ve hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

2.5 M HCl Çözeltisi : 51.81 mL derişik HCl 250 mL'ye destile su ile seyreltilti.

% 20 TCA Çözeltisi : 20 g TCA destile suda çözülerek hacmi 100 mL'ye destile su ile tamamlandı.

6 M Guanidin HCl Çözeltisi : 57.318 g guanidin hidroklorür destile suda çözülerek hacmi 100 ml ye tamamlandı.

Etil Alkol-Etil Asetat Çözeltisi : 1 kısım % 96'lık etil alkol ile 1 kısım etil asetat çözeltileri karıştırıldı.

Deneyin Yapılışı:

Numune ve kör tüpleri aşağıdaki tabloda belirtilen şekilde hazırlandı.

Reaktifler	Kör	Numune
Süpernatant	0.5 mL	0.5 mL
10 mM DNPH	-	2 mL
2.5 M HCl	2 mL	-
Tüpler 1 saat oda temperaturünde, karanlıkta inkübe edildi, 15 dakikada bir vorteksle karıştırıldı.		
% 20 TCA	2.5 mL	2.5 mL

Tüpler 5 dakika buzun içinde bekletildikten sonra 5 dakika santrifüj edildi. Üst kısım atıldı ve dipteki çökelti 3 kez 2 mL etil alkol-etil asetat (1:1) karışımı ile yıkandı. Son çökelti ise 1 mL 6 M guanidin HCl ile muamele edildi, karışım 37°C'de 10 dakika inkübe edildi. Numunenin absorbansı köre karşı 370 nm'de okundu. Mide dokusunda protein karbonil miktarı, aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

Protein Karbonil Miktarı (nmol/mg protein) = Abs x 90.9 /mg protein

3.11. MİDE DOKUSUNDA LAKTAT DEHİDROJENAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ [97]

Mide dokusunda laktat dehidrojenaz (LDH) aktivitesi, Burtis metoduna göre tayin edildi [97]. LDH, EDTA içeren Tris-HCl pH 7.4 tamponunda, NADH varlığında, piruvatın laktata dönüşümü katalizler (37°C). NADH'ın oksidasyonu, 339 nm'de absorbans azalmasıyla takip edilir.



Kullanılan Çözeltiler:

56 mM Tris-HCl +

5.6 mM EDTA Tamponu

: 1.6959 g Tris ve 0.5211 g EDTA az miktarda destile suda çözüldü. 1N HCl ile pH 7.4'e ayarlandı ve son hacim destile su ile 250 mL'ye tamamlandı.

170 µM NADH Çözeltisi

: 0.0130 g NADH (disodyum tuzu, trihidrat) 100 mL 56 mM Tris-HCl- EDTA tamponunda çözülür. +4 °C'de 3 gün dayanıklıdır.

14 mM Piruvat Çözeltisi

: 0.0037 g sodyum piruvat tartılır, 25 mL destile suda çözülür.

Deneyin Yapılışı:

Kör ve numune tüpleri, aşağıdaki tabloda belirtildiği gibi hazırlandı.

Reaktifler	Kör	Numune
56 mM Tris-EDTA-NADH	2 mL	2 mL
Süpernatant	-	50 µL
Karıştırılıp 37 °C’de 5 dakika inkübe edilir.		
Piruvat (önceden 37 °C de ısıtılmış)	250 µL	200 µL

Tüpler karıştırılıp 1 dakika daha, 37 °C’de inkübe edilir ve absorbans değişimi 3 dakika boyunca 339 nm’de spektrofotometrede okundu.

Mide dokusunun LDH aktivitesi aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı.

$$\text{Laktat Dehidrojenaz (U/L) Aktivitesi} = \frac{\Delta A / dk}{6.3 \times 10^{-3}} \times \frac{2.250}{0.05} \times f$$

f= Seyreltme Katsayısı

$$\text{LDH Aktivitesi (U/L)} = \Delta A / dk \times 7143$$

$$\text{LDH Spesifik Aktivitesi (U/g protein)} = \text{LDH aktivitesi} / \text{g protein}$$

3.12. MİDE DOKUSUNDA KATALAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ [98]

Mide dokusundaki katalaz (CAT) aktivitesi, Aebi yöntemine göre tayin edildi [98]. Yöntem, H₂O₂’nin katalaz enzimi vasıtasıyla H₂O’ya dönüşümü sağlanırken meydana gelen absorbans azalmasının 240 nm’de ölçülmesi esasına dayanmaktadır.

Kullanılan Çözeltiler:

Serum Fizyolojik : 9 g NaCl destile suda çözülerek hacmi 1 L'ye destile su ile tamamlandı.

30 mM H₂O₂ : 258 µL %35'lik H₂O₂ , 50 mM pH 7 fosfat tamponu ile hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

Deneyin Yapılışı:

Kör ve numune tüpleri, aşağıdaki tabloda belirtildiği gibi hazırlandı. Absorbans 240 nm'de 1 dakika sonra okundu. Aşağıdaki formül yardımı ile enzim aktivitesi hesaplandı.

Reaktifler	Kör	Numune
Süpernatant	-	0.5 mL
Serum Fizyolojik	0.5 mL	-
30 mM H ₂ O ₂	2 mL	2 mL

$$\text{Katalaz Aktivitesi (U/mL)} = \frac{S_L - S_{LB}}{0.0436} \times (2.5/0.5)$$

$$\text{Katalaz'ın Spesifik Aktivitesi} = \text{Katalaz Aktivitesi} / \text{mg protein}$$

3.13. MİDE DOKUSUNDA GLUTATYON-S-TRANSFERAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ [99]

Glutatyon-S-transferaz (GST) aktivitesi, Habig metoduna göre tayin edildi [99]. Yöntem, GSH ve 1-klor-2,4-dinitrobenzen (CDNB)'in konjugasyonu sonucu oluşan ürünün 340 nm'de, spektrofotometrik olarak, ölçülmesi esasına dayanır.

Kullanılan Çözeltiler:**0.2 M Potasyum Fosfat Tamponu
(pH 6.5)**

: 3.4836 g K_2HPO_4 tuzu destile suda çözülerek hacmi 100mL ye tamamlanır. 5.4436 g KH_2PO_4 tuzu destile suda çözülerek hacmi 200 mL ye tamamlanır. 3 kısım K_2HPO_4 çözeltisi ile 7 kısım KH_2PO_4 çözeltisi karıştırılır.

60 mM Glutasyon Çözeltisi

: 0.01843 g GSH, 1 mL destile suda çözülür.

60 mM 1-Klor-2,4-dinitrobenzen Çözeltisi: 0.1215 g CDNB, 10 mL mutlak alkolde çözülür.

Deneyin Yapılışı:

Kör ve numune tüpleri, aşağıdaki tabloda belirtildiği gibi hazırlandı.

Reaktifler	Kör	Numune
Destile Su	0.5 mL	-
Süpernatant	-	0.5 mL
0.2 M Potasyum Fosfat Tamponu	1.5 mL	1.5 mL
60 mM GSH	0.05 mL	0.05 mL
60 mM CDNB	0.05 mL	0.05 mL
Destile Su	0.9 mL	0.9 mL

Kör ve numune yukarıdaki gibi hazırlandıktan sonra vortekste iyice karıştırıldı. Absorbanslar, spektrofotometrede 340 nm’de 3 dakika süre ile takip edildi.

Hesap: GSH ve CDNB nin konjugasyonu sonucu oluşan ürün için saptanmış olan ekstinksiyon katsayısı $9.6 \text{ mM}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ kullanıldı. Enzimsel konjugasyon sonucundan, enzimsel olmayan konjugasyon değeri çıkarıldı ve sonuçlar; ünite/ mg protein olarak belirlendi.

$$\text{GST Aktivitesi (U/mL)} = (N_{\text{abs3}} - N_{\text{abs1}} / 3) \times 0.0625$$

$$\text{Spesifik GST Aktivitesi} = \text{GST Aktivitesi} / \text{g protein}$$

3.14. MİDE DOKUSUNDA TOTAL PROTEİN TAYİNİ [100]

Mide dokusunda protein miktarı tayini için Lowry metodu kullanıldı [100]. Proteinlerin yapısındaki aromatik halka ihtiva eden amino asitler Folin reaktifi (fosfo molibdo tungstik asid) ile mavi renk verirler. Bu reaksiyon amino asitlerin fosfo molibdo tungstik asid asidi indirgemeleri esasına dayanır. Oluşan rengin spektrofotometrede verdiği absorbans şiddeti ile protein konsantrasyonu doğru orantılıdır.

Kullanılan Çözeltiler :

A Reaktifi : % 2 Na_2CO_3 (0.1 N NaOH içerisinde)
 0.1 N NaOH : 4 g NaOH tartıldı, bidestile suda çözülerek hacmi 1 L’ye tamamlandı.
 % 2 Na_2CO_3 : 2 g Na_2CO_3 tartıldı, 0.1 N NaOH çözeltisi ile çözülerek 100 mL’ye tamamlandı.

B Reaktifi : % 0.5 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (%1 dipotasyum tartarat içerisinde)
 %1 dipotasyum tartarat: 1 g dipotasyum tartarat tartıldı, bidestile su ile çözülerek 100 mL’ye tamamlandı.
 % 0.5 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$: 0.05 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ tartıldı ve %1

dipotasyum tartarat çözeltisiyle çözülerek 10 mL'ye tamamlandı. Bu çözelti her gün taze olarak hazırlandı.

C Reaktifi : 50 mL A Reaktifi ve 1 mL B Reaktifi alınarak hazırlandı. Bu karışım yarım saat içinde bozulduğundan her kullanışta tekrar hazırlandı.

E Reaktifi

(Folin Reaktifi) : 1500 mL lik Florence balonuna 100 g sodyum tungstat, 25 g sodyum molibdat, 700 mL bidestile su, 50 mL %85'lik fosfat asidi ve 100 mL derişik HCl konuldu. Geri soğutucu altında 10 saat kaynatıldı. 150 g LiSO₄ , 50 mL bidestile su ve birkaç damla brom ilave edildi. Bromun fazlasını uzaklaştırmak için 15 dakika kaynatıldı, soğutuldu ve bidestile su ile son hacim 1 L'ye tamamlandı. (Bu stok folin reaktifidir, denemede kullanılırken 1:2 oranında bidestile su ile seyreltilerek kullanıldı.)

Mide dokusunda spektrofotometrik olarak total protein miktarını tayin etmek için % 100 mg albumin ihtiva eden stok çözelti hazırlandı. Bundan serum fizyolojik ile seyreltmeler yapılarak % 2.5, 5 ve 7.5 mg albumin ihtiva eden çalışma standart çözeltileri hazırlandı.

Deneyin Yapılışı:

Reaktifler	Kör	Numune	Standart
Standart Çözeltisi	-	-	0.5 mL
Süpernatant	-	0.5 mL	-
Serum Fizyolojik	0.5 mL	-	-
C- Reaktifi	2.5 mL	2.5 mL	2.5 mL
Tüpler iyice karıştırılıp 10 dakika beklendi.			
E- Reaktifi	0.25 mL	0.25 mL	0.25 mL

Kör, numune ve standart tüpleri tabloda belirtildiği gibi hazırlandı.

Tüpler vortekste karıştırılıp oda sıcaklığında 30 dakika beklendikten sonra, absorbansları 500 nm’de köre karşı okundu. Standart eğri yardımıyla % mg protein miktarı hesaplandı.

3.15. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Tüm deneylerde elde edilen bulgular, NCSS paket programına göre istatistiksel olarak değerlendirildi. $P < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda, indometazin ile oluşturulan deneysel ülser modelinde vitamin C, vitamin E, β - karoten ve selenyumun sıçan mide dokusu üzerine olan etkilerini incelemek amacıyla sıçanların kan, serum ve mide doku örneklerinde, çeşitli parametrelere bakıldı. Kan GSH değerleri Tablo 4.1’de verildi.

Tablo 4.1. Deney ve kontrol grubu sıçanların kan GSH değerleri.

Grup	GSH (%mg)*	P_{t-test}
Kontrol	45.08 $\pm$ 3.44	0.045
Kontrol+Antioksidan	48.87 $\pm$ 3.47	
Kontrol	45.08 $\pm$ 3.44	0.001
Kontrol+Ranitidin	53.66 $\pm$ 5.04	
Kontrol	45.08 $\pm$ 3.44	0.0001
İndometazin	34.70 $\pm$ 3.00	
İndometazin	34.70 $\pm$ 3.00	0.048
İndometazin+Antioksidan	39.74 $\pm$ 3.80	
İndometazin	34.70 $\pm$ 3.00	0.0001
İndometazin+Ranitidin	56.58 $\pm$ 6.51	
P_{ANOVA}	0.0001	

*Ortalama $\pm$ SD

Elde edilen verilere göre altı grubun kan GSH değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu görüldü ($P_{ANOVA} = 0.0001$). Kan GSH değerlerinde, indometazin grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir azalmanın meydana geldiği gözlemlendi ($P_{t-test} = 0.0001$). İndometazin ve indometazin+antioksidan verilen grubun kan GSH değerleri birbirleriyle karşılaştırıldığında, indometazin+antioksidan uygulanan grubun kan GSH değerlerinde, indometazin

grubuna göre anlamlı bir artışın olduğu görüldü ($P_{t-test} = 0.048$). Ranitidin uygulanan indometazin grubunda ise indometazin grubuna göre kan GSH değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artışın olduğu saptandı ($P_{t-test} = 0.0001$) (Tablo 4.1).

Serumda AST, ALT ve ALP enzim aktivite değerleri Tablo 4.2’de verildi.

Tablo 4.2. Deney ve kontrol grubu sıçanların serum AST, ALT ve ALP aktivite değerleri.

Grup	AST (U/L)*	P_{t-test}	ALT (U/L)*	P_{t-test}	ALP (U/L)*	P_{t-test}
Kontrol	164.72 $\pm$ 3.24	0.012	79.37 $\pm$ 5.54	0.629	55.98 $\pm$ 5.34	0.0001
Kontrol+ Antioksidan	173.90 $\pm$ 1.68		80.66 $\pm$ 1.76		115.98 $\pm$ 3.55	
Kontrol	164.72 $\pm$ 3.24	0.175	79.37 $\pm$ 5.54	0.014	55.98 $\pm$ 5.34	0.021
Kontrol+Ranitidin	159.53 $\pm$ 4.91		68.90 $\pm$ 4.11		62.89 $\pm$ 3.98	
Kontrol	164.72 $\pm$ 3.24	0.012	79.37 $\pm$ 5.54	0.026	55.98 $\pm$ 5.34	0.0001
İndometazin	175.96 $\pm$ 4.08		90.86 $\pm$ 5.50		96.34 $\pm$ 10.85	
İndometazin	175.96 $\pm$ 4.08	0.113	90.86 $\pm$ 5.50	0.089	96.34 $\pm$ 10.85	0.977
İndometazin+ Antioksidan	169.75 $\pm$ 0.35		81.00 $\pm$ 7.00		95.70 $\pm$ 7.04	
İndometazin	175.96 $\pm$ 4.08	0.021	90.86 $\pm$ 5.50	0.003	96.34 $\pm$ 10.85	0.002
İndometazin+ Ranitidin	166.44 $\pm$ 5.29		75.80 $\pm$ 4.60		61.62 $\pm$ 6.11	
P_{ANOVA}	0.001		0.0001		0.0001	

* Ortalama $\pm$ SD

Elde edilen verilere göre altı grubun serum AST aktivite değerleri birbiri ile karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu görüldü ($P_{ANOVA} = 0.001$). Serum AST aktivite değerleri, indometazin grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı bulunduğu halde ($P_{t-test} = 0.012$), indometazin grubuna antioksidan uygulanması sonucunda, AST aktivitesinde anlamsız bir azalmanın olduğu saptandı ($P_{t-test} = 0.113$). Ranitidin verilen indometazin grubunda ise, indometazin grubuna göre AST aktivitesinde anlamlı bir azalma meydana geldiği görüldü ($P_{t-test} = 0.021$) (Tablo 4.2).

Altı grubun serum ALT aktivite değerleri birbiri ile karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu görüldü ($P_{ANOVA} = 0.0001$). Serum ALT aktivite değerleri, indometazin grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede bir artma gösterirken ($P_{t-test} = 0.026$), indometazin grubu ile indometazin+antioksidan verilen grup birbirleri ile karşılaştırıldığında, indometazin+antioksidan grubuna ait olan ALT değerlerinin indometazin grubuna göre anlamsız bir azalma gösterdiği saptandı ($P_{t-test} = 0.089$). Ranitidin verilen indometazin grubunda, indometazin grubuna göre ALT aktivitesinde anlamlı bir azalmanın olduğu bulundu ($P_{t-test} = 0.003$) (Tablo 4.2).

Elde edilen verilere göre, altı grubun serum ALP aktivite değerleri birbiri ile karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu görüldü ($P_{ANOVA} = 0.0001$). Serum ALP aktivite değerleri, indometazin grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış gösterdi ($P_{t-test} = 0.0001$). İndometazin ve indometazin+antioksidan verilen grup birbirleriyle karşılaştırıldığında, indometazin+antioksidan grubuna ait ALP değerlerinde indometazin grubuna göre anlamsız bir azalmanın olduğu bulundu ($P_{t-test} = 0.977$). Ranitidin verilen indometazin grubunda ise indometazin grubuna göre ALP aktivite değerlerinde anlamlı bir azalma saptandı ($P_{t-test} = 0.002$) (Tablo 4.2).

Mide dokusu homojenizatlarının siyalik asid değerleri Tablo 4.3'te verilmiştir.

Tablo 4.3. Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokularının siyalik asid değerleri.

Grup	Siyalik Asid ($\mu\text{mol/g protein}$)*	P_{t-test}
Kontrol	70.00 $\pm$ 2.82	0.518
Kontrol+Antioksidan	93.18 $\pm$ 34.55	
Kontrol	70.00 $\pm$ 2.82	0.006
Kontrol+Ranitidin	99.48 $\pm$ 8.29	
Kontrol	70.00 $\pm$ 2.82	0.064
İndometazin	207.4 $\pm$ 77.6	
İndometazin	207.40 $\pm$ 77.6	0.519
İndometazin+Antioksidan	172.00 $\pm$ 45.25	
İndometazin	207.40 $\pm$ 77.6	0.023
İndometazin+Ranitidin	92.40 $\pm$ 48.36	
P_{ANOVA}	0.004	

*Ortalama $\pm$ SD

Altı grubun mide doku homojenizatlarının siyalik asid değerleri birbiri ile karıştırıldığında, gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu saptandı ($P_{ANOVA} = 0.004$). Siyalik asid değerleri, indometazin verilen grupta kontrol grubuna göre anlamsız bir artma gösterdi ($P_{t-test} = 0.064$). İndometazin grubu ile indometazin+antioksidan verilen grubun siyalik asid değerleri birbiri ile karşılaştırıldığında ise, indometazin+antioksidan grubunda anlamsız bir azalmanın olduğu gözlemlendi ($P_{t-test} = 0.519$). Ranitidin verilen indometazin grubunda ise indometazin grubuna göre anlamlı bir azalmanın meydana geldiği bulundu ($P_{t-test} = 0.023$) (Tablo 4.3).

Mide dokusu homojenizatlarının musin ve heksozamin değerleri Tablo 4.4'te verildi.

Tablo 4.4. Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokularının musin ve heksozamin değerleri.

Grup	Musin (mg glukoz/ mg protein)*	P _{t-test}	Heksozamin (µg glukozamin/ mg protein)*	P _{t-test}
Kontrol	6.40 ± 0.70	0.001	2.59 ± 0.62	0.025
Kontrol+Antioksidan	3.91 ± 0.76		1.51 ± 0.66	
Kontrol	6.40 ± 0.70	0.0001	2.59 ± 0.62	0.513
Kontrol+Ranitidin	2.84 ± 0.72		3.46 ± 2.85	
Kontrol	6.40 ± 0.70	0.002	2.59 ± 0.62	0.0001
İndometazin	4.91 ± 0.22		0.70 ± 0.42	
İndometazin	4.91 ± 0.22	0.0001	0.70 ± 0.42	0.003
İndometazin+Antioksidan	7.91 ± 0.62		3.42 ± 2.06	
İndometazin	4.91 ± 0.22	0.0001	0.70 ± 0.42	0.0001
İndometazin+Ranitidin	8.68 ± 1.08		2.98 ± 1.00	
P_{ANOVA}	0.0001		0.010	

*Ortalama ±SD

Elde edilen verilere göre altı grubun mide doku homojenizatlarının musin değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu saptandı ($P_{ANOVA} = 0.0001$). Musin değerleri, indometazin verilen grupta kontrol grubuna göre bir azalma gösterirken ($P_{t-test} = 0.002$), indometazin verilen antioksidan grubu ile indometazin verilen grup arasında anlamlı bir artışın meydana geldiği saptandı ($P_{t-test} = 0.0001$). Ranitidin verilen indometazin grubunda, indometazin grubuna göre anlamlı bir artma meydana geldiği gözlemlendi ($P_{t-test} = 0.0001$) (Tablo 4.4).

Elde edilen verilere göre altı grubun mide dokusu homojenizatlarının heksozamin değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu saptandı ($P_{ANOVA} = 0.010$). Heksozamin değerleri, indometazin verilen grupta kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma gösterdi ($P_{t-test} = 0.0001$). Antioksidan verilen

indometazin grubunda, indometazin verilen gruba göre anlamlı bir artışın olduğu saptandı ($P_{t-test} = 0.003$). Ranitidin verilen indometazin grubunda da, indometazin grubuna göre anlamlı bir artışın olduğu bulundu ($P_{t-test} = 0.0001$).

Gastrik mukozal doku homojenizatlarının LPO ve PC değerleri Tablo 4.5'te verildi.

Tablo 4.5. Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokularının LPO ve PC değerleri.

Grup	LPO (nmol MDA/mg protein)*	P_{t-test}	PC (nmol /mg protein)*	P_{t-test}
Kontrol	0.66 ± 0.37	0.734	10.16 ± 0.97	0.0001
Kontrol+Antioksidan	0.58 ± 0.34		20.14 ± 0.91	
Kontrol	0.66 ± 0.37	0.195	10.16 ± 0.97	0.147
Kontrol+Ranitidin	1.49 ± 1.10		12.53 ± 2.21	
Kontrol	0.66 ± 0.37	0.211	10.16 ± 0.97	0.0001
İndometazin	0.97 ± 0.22		23.89 ± 3.10	
İndometazin	0.97 ± 0.22	0.760	23.89 ± 3.10	0.012
İndometazin+Antioksidan	0.88 ± 0.43		14.21 ± 2.26	
İndometazin	0.97 ± 0.22	0.520	23.89 ± 3.10	0.161
İndometazin+Ranitidin	0.80 ± 0.52		20.26 ± 4.24	
P_{ANOVA}	0.268		0.0001	

*Ortalama $\pm$ SD

Elde edilen verilere göre altı grubun gastrik mukozal doku homojenizatlarının LPO değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamsız farklılıklar olduğu bulundu ($P_{ANOVA} = 0.268$). LPO değerleri, indometazin grubunda, kontrol grubuna göre anlamsız bir artma gösterdi ($P_{t-test} = 0.211$). İndometazin grubu ile indometazin+antioksidan verilen grup birbiri ile karşılaştırıldığında, indometazin+antioksidan grubunun LPO değerlerinde indometazin grubuna bir azalma meydana geldiği görüldü ($P_{t-test} = 0.760$). Ranitidin uygulanması ile, indometazin grubunda LPO değerinde bir fark görülmedi ($P_{t-test} = 0.520$) (Tablo 4.5).

Altı grubun gastrik mukozal doku homojenatlarının PC değerleri birbiri ile karşılaştırıldığında ise gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu görüldü ($P_{ANOVA}=0.0001$). PC değerleri, indometazin grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artma gösterdi ($P_{t-test}=0.0001$). İndometazin grubu ile indometazin+antioksidan verilen grup birbiri ile karşılaştırıldığında, indometazin+antioksidan grubunun PC değerleri, indometazin grubuna göre anlamlı bir azalma meydana geldi ($P_{t-test}=0.012$). Ranitidin verilen indometazin grubunun PC değerlerinin indometazin grubunun PC değerlerine göre bir azalma gösterdiği saptandı ($P_{t-test}=0.161$) (Tablo 4.5).

Mide doku homojenizatlarının LDH ve CAT aktivite değerleri Tablo 4.6’da verildi.

Tablo 4.6. Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokularının LDH ve CAT aktivite değerleri.

Grup	LDH (U/g protein)*	P_{t-test}	CAT (U/mg protein)*	P_{t-test}
Kontrol	5.87 ± 1.77	0.193	3.56 ± 2.46	0.770
Kontrol+Antioksidan	7.82 ± 1.60		3.83 ± 2.00	
Kontrol	5.87 ± 1.77	0.085	3.56 ± 2.46	0.146
Kontrol+Ranitidin	3.54 ± 0.65		5.39 ± 1.64	
Kontrol	5.87 ± 1.77	0.0001	3.56 ± 2.46	0.049
İndometazin	14.34 ± 2.43		5.87 ± 1.84	
İndometazin	14.34 ± 2.43	0.0001	5.87 ± 1.84	0.019
İndometazin+Antioksidan	6.35 ± 1.86		2.96 ± 1.63	
İndometazin	14.34 ± 2.43	0.001	5.87 ± 1.84	0.272
İndometazin+Ranitidin	5.81 ± 0.68		4.48 ± 2.37	
P_{ANOVA}	0.0001		0.103	

*Ortalama ±SD

Altı grubun gastrik mukozal doku homojenatlarının LDH aktiviteleri, birbiri ile karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu görüldü ($P_{ANOVA}=0.0001$). LDH aktivitesi, indometazin grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı derecede bir artış gösterdi ($P_{t-test}=0.0001$). İndometazin grubu ile indometazin+antioksidan verilen grup birbiri ile karşılaştırıldığında, indometazin+antioksidan grubuna ait LDH

aktivitelerinin indometazin grubuna göre anlamlı olarak azaldığı saptandı ($P_{t-test}=0.0001$). Ranitidin uygulanan indometazin grubunda da, indometazin grubuna göre LDH aktiviteleri, anlamlı derecede azaldı ($P_{t-test}=0.001$) (Tablo 4.6).

Altı grubun gastrik mukozal doku homojenizatlarının CAT aktiviteleri, birbiri ile karşılaştırıldığında, gruplar arasında farklılıklar olduğu saptandı ($P_{ANOVA}=0.103$). CAT aktivitesi, indometazin grubunda, kontrol grubuna göre bir anlamlı bir artış gösterdi ($P_{t-test}=0.049$). İndometazin grubu ile indometazin+antioksidan verilen grup birbiri ile karşılaştırıldığında, indometazin+antioksidan grubuna ait CAT aktivitelerinin indometazin grubuna göre anlamlı bir azalma gösterdiği saptandı ($P_{t-test}=0.019$). Ranitidin uygulaması ile indometazin grubuna göre CAT aktivite değerleri anlamsız bir azalma gösterdi ($P_{t-test}=0.272$) (Tablo 4.6).

Mide doku homojenizatlarının GST aktivite değerleri Tablo 4.7’de verildi.

Tablo 4.7. Deney ve kontrol grubu sıçanların mide dokularının GST aktivite değerleri.

	GST (U/g protein)*	P_{t-test}
Kontrol	2.63 ± 0.69	0.011
Kontrol+Antioksidan	1.37 ± 0.24	
Kontrol	2.63 ± 0.69	0.001
Kontrol+Ranitidin	0.29 ± 0.16	
Kontrol	2.63 ± 0.69	0.001
İndometazin	0.38 ± 0.05	
İndometazin	0.38 ± 0.05	0.013
İndometazin+Antioksidan	0.64 ± 0.12	
İndometazin	0.38 ± 0.05	0.775
İndometazin+Ranitidin	0.45 ± 0.57	
P_{ANOVA}	0.0001	

*Ortalama ±SD

Altı grubun gastrik mukozal doku homojenatlarında GST aktivitesi birbirleriyle karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı farklılıklar meydana geldiği gözlemlendi ($P_{ANOVA} = 0.0001$). GST aktivitesi, indometazin grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma meydana getirdi ($P_{t-test} = 0.001$). İndometazin grubu ile indometazin+antioksidan uygulanan grup birbirleriyle karşılaştırıldığında GST aktivitesinde, indometazin+antioksidan uygulanan grupta, indometazin verilen gruba göre bir artış meydana geldi ($P_{t-test} = 0.013$). Ranitidin verilen indometazin grubunda ise GST aktivite değerlerinde, indometazin grubuna göre görülen artış ise anlamsız bulundu ($P_{t-test} = 0.775$) (Tablo 4.7).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Gastrik ülser birçok insan için ortak bir hastalıktır. Gastrik mukozanın, yüksek konsantrasyonlardaki hidroklorik asid, pepsin, mikroorganizmalar, alkol ve ilaçlar gibi çeşitli hasar verici faktörlere maruz kalsa bile dirençli olduğu bilinmektedir [101]. Buna rağmen, meydana gelen gastrik ülserlerin de hasar verici ve koruyucu faktörler arasındaki dengenin bozulmasıyla ortaya çıktığı bildirilmiştir [13]. Oksidatif stres, *Helicobacter pylori*, alkol alımı, aspirin, indometazin, diklofenak ve diğer NSAİİ'lar, alendronat, rezerpin, adrenal kortikoidler, fenilbutazon, sigara ve kahve gastrik ülsere neden olan faktörler olarak sayılabilir [2, 3, 18, 67, 102-106]. Gastrik ülser oluşumunda rol oynadığı düşünülen bu faktörler nedeni ile hayvan türleri üzerinde deneysel akut modeller ile oluşturulmuş, gastrik ülserin patojenik mekanizmaları araştırılmış ve tedavi için çok çeşitli yöntemler denenmiştir.

Başta aspirin olmak üzere, indometazin, diklofenak ve piroksikam gibi NSAİİ'lar ile oluşturulan gastrik mukozal hasarın makroskobik ve mikroskobik incelenmesi sonucu, alınan doza ve kullanım şekline bağlı olarak gastrik mukozal yüzey epitelinde minimal lezyonlardan, yüzey epitelinde dağılma ve dökülmeye, mukus glikoproteinlerinden doku glukoz seviyesinin azaltılmasına kadar değişen etkiler tespit edilmiştir [107-109]. NSAİİ'ların ağrı ve inflamasyon tedavisinde kullanılması, gastrointestinal sistemde hasara neden olduğu için, kullanımları bir ölçü de olsa kısıtlanmaktadır. Ayrıca NSAİİ'lar, gastrik mukozada serbest radikal oluşumunu arttırıp, lipid peroksidasyonuna neden olurlar. Serbest oksijen radikallerinin lipid peroksidasyonu ve doku yaralanmalarına yol açtığı ve bu serbest radikallerin temizlenmesinin, ülserlerin iyileşmesinde ve gastrik mukozanın korunmasında etkin rol oynadığı birçok araştırmacı tarafından bildirilmektedir [107, 110, 111].

Gastrik mukozal hasarın meydana gelmesindeki en temel sorunlardan birisi de, COX

inhibisyonuna bağılı endojen PG sentezinin zarar görmesidir. PG'ler, gerek bazal salgılanmayı ve gerekse çeşitli faktörler tarafından (yemek, vagal stimülasyon, gastrin, histamin, kafein ve insulin gibi) stimule edilmiş salgıyı azaltırlar. Mide ve bağırsakta mukus salgısını arttıırırlar, ayrıca midede sitoprotektif etki sağlarlar. Mukus salgısı ve mukozal HCO_3^- arttırılması, H^+ iyonunun geri difüzyonun azaltılması ve mukozal kan akımının arttırılması gibi birçok etkiye sahiptirler [33]. NSAİİ'lar, COX-1 enziminin inhibisyonuna sebep olmakla endojen prostaglandin sentezini engellemekte ve böylece gastrik mukozal hasara neden olmaktadırlar. Bu nedenle midenin korunması amacıyla, COX-2 inhibisyonu yapan ağrı kesicilerin tercih edilmesi gerektiği bildirilmiştir [112, 113].

Fizyolojik koşullar altında, vücut tarafından tüketilen oksijenin yaklaşık %1-3 kadarı süperoksid ve diğer reaktif oksijen türlerine dönüştürölmektedir. Bu nedenle, moleküler oksijen her ne kadar aerobik yaşam için gerekli olsa da, bazı koşullarda toksik etki gösterebilmektedir [114]. Reaktif oksijen türleri ve reaktif azot türleri çeşitli reaksiyonlar sonucunda üretilebilmektedir, ROS ve RNS metal katalizli reaksiyonlarda metabolit olarak meydana gelebilmekte, atmosferde kirlilik olarak bulunabilmekte, nötrofil ve makrofajlarda, mitokondri katalizli elektron transport reaksiyonlarında oluşabilmektedir [115]. Bu tip serbest radikaller, yaşam için kimi durumlarda yararlı olabilirken kimi durumlarda zararlı olabilmektedirler. Bunların yararlı etkilerinden biri, düşük konsantrasyonlarda mitojenik cevap olarak oluşabilmeleridir. Ayrıca, bulaşıcı ajanlara karşı savunmada ve hücre sinyal sistemi fonksiyonlarında reaktif oksijen türleri önemli fizyolojik roller üstlenmektedirler. Fakat reaktif oksijen türleri yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu takdirde, hücre hasarında önemli rol oynamaktadırlar [116, 117]. Reaktif oksijen türlerinin bu zararlı etkileri, antioksidan enzimler ile non-enzimatik antioksidan sistemlerce dengelenmektedir [118].

Reaktif oksijen türlerine karşı primer koruma sağlayan ve vücutta doğal olarak bulunan enzimler SOD, CAT ve GPx'dır [50]. Bunun yanı sıra vitamin A, vitamin C, vitamin E ve selenyumun da çeşitli kombinasyonlarının gerek etanol gerekse indometazin ile oluşturulan gastrik mukozal hasar denemelerinde koruyucu etki gösterdiği kanıtlanmıştır [39, 65, 70, 72, 119, 120].

Vitamin A, sitoprotektif bir maddedir ve serbest radikalleri önleyici etkisi mevcuttur. İndometazin ile oluşturulan gastrik mukozal hasarda ATP/ADP oranını arttırarak koruyucu etkiye katkısı olduğu literatürlerde de yer almaktadır [119].

Vitamin E'nin (α -Tokoferol) antioksidan etkisinin, geçici de olsa, bu maddenin antiproliferatif etkisiyle açıklandığı görüşünü ileri süren ve hatta bu etkinin, gastrik epitelde iyileşme ve gastrik mukozanın yeniden inşa edilmesi şeklinde kendisini gösterdiğini öne süren çalışmalar mevcuttur [68]. Bunlara ek olarak, α -tokoferolün antiapoptotik etkisinin, kanser hücrelerinin proliferasyonunun azaltılması şeklinde ortaya çıktığı da çeşitli literatürlerce desteklenmiştir [121, 122].

Vitamin C, *in vivo* ve *in vitro* koşullarda, biyolojik sistemlerde serbest radikal kaynaklı DNA ve membran hasarını azaltmaktadır. Bir antioksidan olarak Vitamin C, kardiyovasküler rahatsızlıklarda arterleri oksidatif hasardan korumaya yardımcı olmaktadır. Vitamin C, reaktif oksijen türlerini nötralize eder ve gen mutasyonlarını azaltır. Bu kadar etkili bir antioksidan olmasına rağmen, çok çabuk okside olabilen bir yapıya sahip olması, bazı durumlarda kullanımını sınırlandırmaktadır [123].

Selenyum, selenosistein (SeCys) olarak vücudumuzda birçok detoksifikasyon reaksiyonuna girmektedir ve bilinen diğer yirmi amino asitten farklı bir yapıya sahiptir. Selenoproteinlerle birlikte reaksiyona girdiğinde, dokuları ve membranları oksidatif stresten korumakta, hücrelerin redoks potansiyellerini kontrol etmektedir [65].

Aminoalkilfuran türevi bir histamin H_2 -reseptör blokörü ilaç olan ranitidin, histamin ve simetidin molekülünde bulunan imidazol halkası yerine furan halkası içerir. Mide asid salgısı üzerinde inhibitör etkisi vardır [33]. Bu amaçla, çalışmamızda koruyucu madde olarak antioksidanlar ve ranitidin denenmiştir.

Bu çalışmada, kanda GSH, serumda AST, ALT ve ALP aktiviteleri ile mide dokusunda meydana gelen oksidatif ve dejeneratif değişimleri belirlemek amacı ile siyalik asid, musin ve heksozamin, lipid peroksidasyonu, protein karbonil miktarları ile katalaz, laktat dehidrojenaz ve glutatyon-S-transferaz aktiviteleri tayin edildi.

Oksidatif hasara karşı çeşitli dokularda bulunan antioksidan faktörlerden biri de glutatyondur. Glutasyon ve glutasyonla ilgili enzimler, endojen ve eksojen zararlı bileşiklere karşı detoksifikasyon mekanizmalarında önemli bir role sahiptirler [124]. Glutasyon her hücrede bulunmakta olup, hücrenin fonksiyonel proteinlerini oksidan ajanlara karşı ve özellikle eritrositleri peroksitlere karşı korumaktadır [125]. Kandaki glutasyon eritrositlerde toplanmıştır ve ayrıca eritrositlerde hemoglobinin oksitlenmesini önleyen bir sistem oluşturduğu kabul edilmektedir [126]. Glutasyonun, radyasyona, oksidatif hasara ve çeşitli toksik bileşiklere karşı hücreyi koruduğu da bilinmektedir [127]. Hücresel glutasyonun kimyasal ajanlara karşı zar bütünlüğünün korunmasında önemli fonksiyonu olduğu ve glutasyon miktarında meydana gelebilecek bir azalmanın zar bütünlüğünü bozabileceği bilinmektedir. Deney hayvanlarında indometazin uygulanmasının kan, hepatik ve gastrik dokularda GSH düzeyini azalttığı literatürlerde bildirilmiştir [104, 128, 129]. GSH'daki bu azalma, reaktif oksijen türlerinin oluşumundaki artış sonucu GSH'ın okside olmuş glutatyona dönüşümündeki artış ile ilgilidir [130]. Çalışmamızda indometazin verilen grupta kan GSH değerinin azaldığı saptandı. Antioksidan verilmesinin ranitidin kadar olmasa bile kan GSH değerlerini arttırdığı görüldü.

Karaciğer, ilaç ve diğer bileşiklerin metabolizmasında, en önemli organdır. Karaciğerde meydana gelebilecek morfolojik değişimler, organizmadaki birçok metabolik prosesi etkileyebilir. İndometazinin sıçanlara verilmesi, karaciğerde birçok patolojik ve yapısal değişmelere neden olmaktadır. Karaciğer hücrelerinin yıkımı, karaciğer hücre membran permeabilitesinde bir hasar olarak kendini gösterir ve kan plazmasına bazı enzimlerin salınmasına ve bu enzimlerin aktivitelerinin artışına neden olur. AST, ALT ve ALP enzimlerindeki artış, karaciğer hasarının bir göstergesidir [122]. Çeşitli çalışmalarda kimyasal maddelerin verilmesi ile AST ve ALT aktivitelerinin arttığı, koruyucu maddeler verilmesi ile bu değerlerin azaldığı saptanmıştır [39, 131]. ALP aktivitesi, kemik, karaciğer ve gastrointestinal lumen hastalıklarındaki hasarı gösteren bir belirteç enzimdir. Bu enzimin salınması, doku hasarında önemli bir rol oynar [132, 133]. Çalışmamızda indometazin verilen gruptaki AST, ALT ve ALP değerleri kontrol grubuna göre anlamlı bir artış gösterdi. Bu değerlerdeki artış, hasarın meydana geldiğinin bir göstergesi olmakla beraber, çalışmamızda antioksidan ve ranitidin verilen gruplarda, bu maddelerin koruyucu etkilerini göstererek bu enzim aktivite değerlerinde

indometazinli grubun değerlerine göre azalma meydana getirdiği saptandı. Çalışmamızda elde ettiğimiz bu bulguları destekleyen çeşitli çalışmalarda, hem indometazin hem de etanol ile gastrik hasar oluşturulmuş ve bu gruplarda da ALP değerlerinde artış meydana geldiği belirtilmiştir [39, 46].

Dokuz karbonlu bir şeker olan nraminik asidden türeyen siyalik asid, glikoproteinlerin ve glikolipidlerin oligosakkarid zincirlerinin terminal şeker komponentini oluşturur. Fizyolojik pH'da bu molekülün negatif yük taşıması, hücreler arası etkileşimlerde, hormon ve reseptörler arasındaki ilişkilerde, membranın proteolizinden korunmasında önemli rol oynamaktadır [134-136]. Siyalik asid düzeyleri kanser, mide ülseri romatizmal hastalıklar, hematolojik hastalıklar, enfeksiyonlarda, gebeliklerde ve mide rahatsızlıklarında artmaktadır [137]. Oksidatif stres sonucu artan siyalidaz aktivitesinin siyalik asitleri glikoprotein ve glikolipidlerin u kısımlarından kopardığı ve vücut sıvılarında serbest siyalik asid artışına neden olduğu bildirilmiştir [134].

Çalışmamızda, indometazin grubunda siyalik asid değerlerinin anlamlı derecede bir artış gösterdiği bulundu. Mide hasarı nedeniyle, mide dokusunda tespit edilen siyalik asid miktarındaki artış, mide membran yapısının bozulduğunu ve bozulan membrandan siyalik asidin açığa çıktığını göstermektedir. Ranitidin verilmesi, bu hasarın düzelmesini sağladığı halde antioksidanların etkisi görülmemiştir. Bu bulgu da ranitidin ve antioksidanların mide hasarını koruduğunu göstermektedir.

Mukus sıvısı, glikoprotein yapıdaki bileşenleri içermektedir ve bu bileşenler total karbohidrat/protein oranını belirlemektedir. Bu yüksek molekülü ağırlıklı glikoproteinler, mukusun jel kıvamında ve viskoz yapıda olmasından sorumludur. Artan karbohidrat/protein oranı mukozadaki glikoprotein miktarının arttığını belirtir. Mukus sekresyonu, gastrik ülserasyonu engellemektedir ve aynı zamanda submukoza ve mukozayı korumaktadır [103].

Makromoleküler bir glikoprotein olan heksozamin, gastrik musinin majör fraksiyonunu teşkil eder ve gastrik mukus üretiminin ideal indeksini olarak kabul edilir [138]. NSAİİ ile oluşturulan mukozal hemorajik ülser, gastrik mukus üretiminin azalması ile ilişkili olabilmektedir. Bu yüzden, ülser oluşumunu antioksidan özellikleri nedeniyle

engelleyen ilaçlar, gastrik mukozanın sentezini ve sekresyonunu sağlayarak ülserlerin iyileşmesini sağlarlar. Çalışmamızda, indometazin verilen sıçanlarda musin sekresyonunun azalması, mukozal membranın, mukozayı fiziksel hasardan ve hidrojen iyonunun geri difüzyonundan koruma kabiliyetinin azaldığının bir göstergesidir.

Gastrik mukozadaki glikoprotein miktarının azalması, gastrik mukozanın kuvvetli dış saldırılara karşı savunma kuvvetinin azaldığını kanıtlamaktadır. Mukozal hasar, endojen ve eksojen aktif oksijen ve serbest radikaller ile oluşmaktadır [139]. Mukus üretimindeki artış, ülser bölgesinin HCl, pepsin gibi irritant etkilere karşı korunmasında rol oynamaktadır. Çalışmamızda musin ve heksozamin miktarının azalması sıçanlarda indometazin ile gastrik hasarın oluştuğunu bize göstermektedir. Antioksidanların verilmesi ile musin ve heksozamin miktarının artışı da, midedeki gastrik mukozal hasarın önlendiği ve böylece antioksidanların koruyucu rolünün olduğunu bize göstermektedir.

İndometazinin gastrik hasar oluşturmamasının sebepleri arasında, mide dokusundaki sitoprotektif prostaglandinlerin sentezini inhibe etmesi [140], LPO'nu arttırması [141, 142], doku glukoz seviyesini azaltılması [143], MPO aktivitesini ve NOS aktivitesini arttırması [144, 145] sayılabilir. İndometazin, etanol ve diğer ajanlar ile oluşturulan mukozal hasarların reaktif oksijen molekülleri ile ilişkili olduğu da öne sürülmüştür [146]. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, indometazin gibi antiinflamatuvar ilaçların hem prooksidan hem de lipid peroksidi oluşturunca etkilerinin olduğu ve bu tür ilaçların mukozal hücrelerin antioksidan sistemlerini süratle bloke ederek ROS oluşumuna ve bu ROS oluşumunun da lipid peroksidasyonuna neden olabileceği öne sürülmüştür [145, 146]. Oksidatif hasar daha ileri aşamalarda kontrol edilemeyen lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve nihayetinde hücre ölümüne yol açabilmektedir.

Serbest radikaller peroksidasyonun başlamasına neden olarak lipidleri etkilemektedir ve indometazinle oluşturulan gastrik mukozal hasarlı dokularda, LPO miktarının arttığı pekçok literatürde bildirilmiştir [72, 103, 105, 111, 128, 147-150]. İndometazin verilen grupta lipid peroksidasyon değerleri, kontrol grubunun lipid peroksidasyon düzeylerine nazaran arttırmıştır. Antioksidanlar ve ranitidin, koruyucu etkilerini ortaya koymuş,

indometazin uygulanan antioksidan ve ranitidin gruplarında lipid peroksid düzeylerinde indometazin grubuna göre bir fark olmadığı gözlenmiştir.

Çalışmamızda indometazin verilen grupta LPO değerinin anlamlı bir şekilde artmaması, CAT enziminin daha fazla H_2O_2 'i suya dönüştürdüğünü göstermektedir, bu düşüncüyü CAT aktivitesinin indometazinli dokuda anlamlı bir artış göstermesi desteklemektedir.

Proteinlerin oksidatif modifikasyonları, direkt olarak reaktif oksijen türleri ile oluşturulabildiği gibi, indirekt olarak oksidatif stres reaksiyonlarının ikincil ürünleri olarak da oluşabilir [151]. Sistein ve metionin, hemen hemen bütün reaktif oksijen türleri tarafından oksidatif hasar oluşturulmasına eğilimli yapılardır. Protein modifikasyonları, hem lizin, arginin, prolin ve treonin üzerinden oluşabilir hem de reaktif karbonil grupları ile sistein, histidin ve lizinin ikincil reaksiyonları üzerinden oluşabilir ki, bu durumda aldehid veya keton gibi protein karbonil türevleri oluşabilir. Bu nedenle protein karbonil miktarının, protein oksidasyonunun belirlenmesinde en önemli parametrelerden biri olduğu söylenebilir [151-153].

Çalışmamızda indometazinle oluşturulan gastrik mukozal hasar protein oksidasyonunun oluşup oluşmadığı protein karbonil miktarı tayini yapılarak belirlendi. İndometazin verilen grupta, PC miktarlarının artışı, reaktif hidroksil ve peroksil radikalleri ile karbonil proteinlerinin, sıçanların midelerinde protein ve lipidlerin oksidatif hasara uğradığının bir kanıtıdır. Çalışmamızda antioksidan verilen indometazin grubunda, indometazin grubuna göre protein karbonil miktarlarında anlamlı bir azalma meydana geldiği halde ranitidin grubundaki azalma anlamsız oldu. PC miktarında meydana gelen azalma, antioksidanların lipid ve proteinlerin oksidatif hasarının önlendiğini göstermektedir.

Laktat dehidrojenaz, kalp, kas, böbrek, karaciğerde vs. bulunan bir enzimdir [39]. Bu doku veya organlar zarar gördüğü takdirde LDH, kandan hücrelere salınır ve bu enzimin yokluğunda, plazma membranının geçirgenliğinin değişiminden dolayı, oksijen veya alkol- türevli serbest radikaller tarafından membranda peroksidasyon başlatılır [154]. Enzim aktivitesinin artışı hücre hasarının derecesi ile orantılıdır. Çalışmamızda, indometazin verilen grupta LDH seviyelerinin kontrol grubuna nazaran belirgin ve

anlamli şekilde artiş gösterdiği bulundu. İndometazinle oluşturulan gastrik mukozal hasarda, koruyucu kimyasal maddeler verildiğinde LDH aktivitesinin azaldığı, birçok çalışma ile uyum göstermektedir [154, 155]. Antioksidan ve ranitidin verilen indometazin gruplarında LDH seviyeleri indometazin grubuna göre anlamli bir şekilde azalmıştır. Antioksidanların verilmesi ile LDH aktivitesinin azalması, dokuda olan hasarın önlendiğini göstermektedir. İndometazin verilen sıçanlarda LDH aktivitesinin artmış olması ve antioksidan ile tedavi sonrasında LDH aktivitesinin azalması, mide hasarında antioksidanların koruyucu etkisinin bir kanıtı olduğunu göstermektedir.

İndometazin, H_2O_2 varlığında lipid peroksidasyonunu uyuracak şekilde reaksiyon göstererek ülser oluşturabilir. Bu nedenle, indometazinin lipid peroksidasyonuna yönelmemesi için ortamdaki H_2O_2 'in harcanması gerekir. H_2O_2 , CAT enziminin substratı olduğu için CAT aktivitesinde meydana gelen artış, fazla miktardaki H_2O_2 'in suya dönüştürülmesi anlamına gelecek ve böylece ortamda harcanacak H_2O_2 olmadığı için indometazin, lipid peroksidasyonuna yönelmeyecektir. Çalışmamızda gastrik mukoza doku homojenizatlarında katalaz aktivitesine bakıldığında, indometazin verilen grubun katalaz aktiviteleri, kontrol grubuna göre bir artış göstermiş, koruyucu madde olarak antioksidan ve ranitidin verilen indometazin gruplarında ise bu maddeler etkisini göstererek, katalaz aktivitesini azaltmıştır. Çalışmamızda katalaz aktivitesinin indometazinli grupta arttığını ve ranitidinin de indometazin verilen gruplarda bu enzimin aktivitesini azalttığını destekleyen çeşitli literatürler de mevcuttur [156, 157].

Glutasyon miktarında meydana gelen önemli azalmalar, glutatyona bağlı olan enzimlerin aktivite değerlerinde de azalma meydana getirmekte veya bu enzimlerin inaktive olmasına neden olmaktadır [158]. GSH'a bağlı enzimler antioksidan ve detoksifikasyon özelliklerinden dolayı oluşan hasarları önlemede biyomarker olarak dikkate alınırlar [159]. İndometazin verilen gruplarda GST aktivite değerlerinde kontrol grubuna göre anlamli ölçüde azalma meydana geldiği saptandı. Antioksidan verilen grupta, GST aktivite değerlerinde indometazin grubunun değerlerine göre anlamli bir artışın olduğu, ranitidin verilen indometazin grubunda ise anlamsız bir artış görüldü. Çalışmamızdaki bu bulguları destekleyen ve gastrik hasarın gerek indometazin ile gerekse diklofenak gibi diğer NSAİİ'lar ile oluşturulduğu pek çok literatür bulunmaktadır.

İndometazin ile oluşturulan gastrik mukozal hasar çalışmamızda elde edilen sonuçlar, aşağıdaki şekilde özetlenebilir:

1. İndometazin verilen sıçanların kan GSH değerlerinde anlamlı bir azalma meydana geldi.
2. Antioksidan ve ranitidin verilen gruplarda ise kan GSH değerlerinde anlamlı bir artma meydana geldi.
3. İndometazin verilen sıçanların serum AST, ALT ve ALP aktivite değerlerinde anlamlı bir artış saptandı.
4. Antioksidan ve ranitidin uygulanan indometazin grubunda AST, ALT ve ALP değerlerinde bir azalma meydana geldi.
5. İndometazin verilen sıçanların mide dokularında, siyalik asid miktarlarında anlamsız bir artış meydana geldiği saptandı.
6. Antioksidan uygulanan indometazin grubunun mide dokusu, siyalik asid miktarlarında anlamsız bir azalma meydana geldi. Ranitidin verilen sıçanların mide dokularında ise, siyalik asid miktarlarında anlamlı bir azalma meydana geldi.
7. İndometazin verilen sıçanların mide dokularında musin ve heksozamin değerlerinde anlamlı ölçüde bir azalma meydana geldi.
8. Antioksidan ve ranitidin verilen sıçanların mide dokularında, musin ve heksozamin değerlerinde anlamlı bir artış meydana geldiği saptandı.
9. İndometazin verilen sıçanların mide dokularında, LPO değerlerinde bir artış meydana geldi.
10. Antioksidan ve ranitidin verilen sıçanların mide dokularında, LPO değerlerinde bir azalmanın meydana geldiği görüldü.
11. İndometazin verilen sıçanların mide dokularında, PC miktarlarında anlamlı bir artış meydana geldi.
12. Antioksidan ve ranitidin uygulanması ile sıçanların mide dokularında, PC miktarlarında bir azalma meydana geldiği bulundu.
13. İndometazin verilen sıçanların mide dokularında, LDH aktivitesinde anlamlı bir artma meydana geldi.

14. Antioksidan ve ranitidin verilen sıçanların mide dokularında, LDH aktivitesinde anlamlı bir azalma meydana geldi.
15. İndometazin verilen sıçanların mide dokularında, CAT aktivitesinde artış meydana geldiği saptandı.
16. Antioksidan ve ranitidin uygulanan sıçanların mide dokularında, CAT aktivitelerinde azalma olduğu gözlemlendi.
17. İndometazin verilen sıçanların mide dokularında, GST aktivitelerinde anlamlı bir azalma meydana geldi.
18. Antioksidan ve ranitidin verilen sıçanların mide dokularında, GST aktivitelerinde bir artış saptandı.

Elde edilen sonuçlardan, indometazin ile oluşturulan gastrik mukozal hasara, antioksidan olarak verilen vitamin C, vitamin E, β -karoten ve selenyum kombinasyonunun etkisi, bilinen bir ülser ilacı olan ranitidin ile karşılaştırılarak incelendiğinde, antioksidan kombinasyonunun gastrik hasarı azalttığı, bu etkisini antioksidan ve mukozayı koruyucu mekanizmalar üzerinden gösterdiği fakat ranitidinin ise bu etkisini antioksidan mekanizma üzerinden göstermediği söylenebilir.

KAYNAKLAR

1. ZEYBEK, A., ERCAN, F., ÇETİNEL, Ş., ÇIKLER, E., SAĞLAM, B., ŞENER, G., 2007, Protective effects of aqueous garlic extract in reducing water avoidance stress-induced degeneration of the stomach, ileum, and liver: Morphological and biochemical study, *Digestive Diseases and Sciences*, 52, 2984-2992.
2. SAGAR, V., AHAMED, R.N., 1999, Gastric mucosal cellular changes induced by indomethacin (NSAID) in male albino rats, *Indian Journal of Experimental Biology*, 37, 365-369.
3. GUO, X., MEI, B., CHO, C.H., 1999, Potentiating effect of passive cigarette smoking on gastrointestinal damage induced by indomethacin in rats, *Digestive Diseases and Sciences*, 44, 896-902.
4. DOKMECİ, M., AKPOLAT, M., AYDOĞDU, N., DOĞANAY, L., TURAN, F.N., 2005, L-Carnitine inhibits ethanol-induced gastric mucosal injury in rats, *Pharmacological Reports*, 57, 481-488.
5. CHO, C.H., OGLE, C.W., WONG, S.H., KOO, M.W.L., 1985, Effects of zinc sulphate on ethanol- and indomethacin-induced ulceration and changes in prostaglandin E₂ and histamine levels in the rat gastric glandular mucosa, *Digestion*, 32, 288-295.
6. SÜLEYMAN, H., AKÇAY, F., ALTINKAYA, K., 2002, The effect of nimesulide on the indomethacin- and ethanol induced gastric ulcer in rats, *Pharmacological Research*, 45, 155-158.
7. VALCHEVA-KUZMANOVA, S., MARAZOVA, K., KRASALIEV, I., GALUNSKA, B., BORISOVA, P., BELCHEVA, A., 2005, Effect of *Aronia melanocarpa* fruit juice on indomethacin-induced gastric mucosal damage and oxidative stress in rats, *Experimental and Toxicologic Pathology*, 56, 385-392.
8. KOMOIKE, Y., TAKEEDA, M., TANAKA, A., KATO, S., TAKEUCHI, K., 2002, Prevention by parenteral aspirin of indomethacin-induced gastric lesions in rats, *Digestive Diseases and Sciences*, 47, 1538-1545.

9. FIORUCCI, S., SANTUCCI, L., DISTRUTTU, E., 2007, NSAIDs, Coxibs, CINOD and H₂S-Releasing NSAIDs : What lies beyond the horizon, *Digestive and Liver Disease*, 39, 1043-1051.
10. SON, M., KIM, H.K., KIM, W.B., YANG, J., KIM, B.Y., 1996, Protective effect of taurine on indomethacin-induced gastric mucosal injury, *Plenum Pres, New York*
11. KARADI, O., BODIS, B., SZABO, I., RUMI, G., MOZSIK, G., 1999, Difference between the effect of acute and chronic surgical vagotomy on the cytoprotective action of atropine against indomethacin-induced mucosal lesions on the gastrointestinal tract in rats, *Journal of Physiology-Paris*, 93, 487-490.
12. BROZOWSKI, T., KONTUREK, P.C., SLIWOWSKI, Z., KWIECIEN, S., DROZDOWICZ, D., PAWLIK, M., MACH, K., KONTUREK, S.J., PAWLIK, W.W., 2006, Interaction of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) with helicobacter pylori in the stomach of humans and experimental animals, *Journal of Physiology and Pharmacology*, 57, 67-79.
13. KONTUREK, S.J., KONTUREK, P.C., BRZOWSKI, T., 2005, Prostaglandins and ulcer healing, *Journal of Physiology and Pharmacology*, 56, 5-31.
14. BENNETT, J.J., ADUSUMILL, P., PETROWSK, H., BURT, B.M., ROBERTS, G., DELMAN, K.A., ZAGER, J.S., CHOU, T.C., FONG, Y., 2004, Up-regulation of GADD34 mediates the synergistic anticancer activity of mitomycin C and a gamma134.5 deleted oncolytic herpes virus (G207), *FASEB Journal*, 18, 1001-1003.
16. OLALEYE, B.S., FAROMBI, E.O., 2006, Attenuation of indomethacin and HCl/ethanol-induced oxidative gastric mucosa damage in rats by kolaviron, a natural biflavanoid of garcinia kola seed, *Phytotherapy Research*, 20, 14-20.
17. WATANEBE, T., OHARA, S., ICHIKAWA, T., SAIGENJI, K., HOTTA, K., 1996, Mechanisms for cytoprotection by vitamin U from ethanol-induced gastric mucosal damage in rats, *Digestive Diseases and Sciences*, 41, 49-54.
18. OG, C.W., CHO, C.H., 1978, Protection by zinc sulphate against reserpine-induced ulceration and other gastric effects in the rat, *Pharmacology*, 17, 254-261.
19. WARZECHA, Z., DEMBINSKI, A., BRZOWSKI, T., CERANOWICZ, P., PADJO, R., NIEMEC, J., DROZDOWICZ, D., MITIS-MUSIOL, M., KONTUREK, S.J., 2000, Gastroprotective effect of histamine and acid secretion on ammonia-induced gastric lesions in rats, *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 35, 916-924.
20. CHO, C.H., OGLE, C.W., DAI, S., 1978, Effects of zinc sulphate pretreatment on gastric acid secretion and lesion formation in rats infused intravenously with graded doses of methacholine, *Pharmacology*, 17, 32-38.
21. ITOH, M., GUTH, P.H., 1985, Role of oxygen-derived free radicals in hemorrhagic shock-induced gastric lesions in the rat, *Gastroenterology*, 88, 1162-1167.

22. MANN, N.S., MANN, S.K., BRAUN, P.N., WEAVER, B., 1992, Effect of zinc sulphate and acetylcysteine on experimental gastric ulcer: In vitro study, *Digestion*, 53, 108-113.
23. BROZOZOWSKI, T., KONTUREK, P.C., KONTUREK, S.J., BROZOZOWSKA, A., PAWLIK, T., 2005, Role of prostaglandins in gastroprotection and gastric adaptation, *Journal of Physiology and Pharmacology*, 56, 33-55.
24. SANTOS, C.L., SOUZA, M.H.L.P., GOMES, A.S., LEMOS, H.P., SANTOS, A.A., CUNHA, F.Q., WALLACE, J.L., 2005, Sildenafil prevents indomethacin-induced gastropathy in rats: Role of leukocyte adherence and gastric blood flow, *British Journal of Pharmacology*, 146, 481-486.
25. PIHAN, G., REGILLO, C., SZABO, S., 1987, Free radicals and lipid peroxidation in ethanol- or aspirin-induced gastric mucosal injury, *Digestive Diseases and Sciences*, 32, 1395-1401.
26. IISHI, H., TATSUTA, M., BABA, M., YAMAMOTO, R., UEHARA, H., NAKAIZUMI, A., 1998, Inhibition of experimental gastric carcinogenesis induced by N-Methyl-N-Nitro-N-Nitrosoguanidine in rats, by sodium nitroprusside, a nitric oxide generator, *European Journal of Cancer*, 34, 554-557.
27. KONTUREK, S.J., KONTUREK, P.C., BRZOZOWSKI, T., 2006, Melatonin in gastroprotection against stress-induced acute gastric lesions and in healing of chronic gastric ulcers, *Journal of Physiology and Pharmacology*, 57, 51-66.
28. BOZKURT, A., YÜKSEL, M., HAKLAR, G., KURTEL, H., YEĞEN, B.Ç., ALİCAN, İ., 1998, Adenosine protects against indomethacin-induced gastric damage in rats, *Digestive Diseases and Sciences*, 43, 1258-1263.
29. MATES, J.M., PEREZ-GOMEZ, C., CASTRO, I.N., 1999, Antioxidant enzymes and human diseases, *Clinical Biochemistry*, 32, 595-560.
30. BAYIR, Y., 2004, *Usnea Longissima Ach. liken türünden izole edilen Difraktaik Asit'in indometazin ülseri üzerine koruyucu etkisi ve in-vivo antioksidan özelliklerinin araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı.
31. BHAGAVAN, N.V., 1992, *Medical Biochemistry*, Jones and Bartlett Publishers International, London, 0-86720-030-8.
32. RAFFA, R.B., RAWLS, S.M., BEYZAROV, E.P., 2007, *Netter'in resimli farmakolojisi*, Nobel Tıp Kitabevleri, Nobel Matbaacılık.
33. KAYAALP, O., 2005, *Rasyonel tanı ve tedavi yönünden tıbbi farmakoloji*, Hacettepe Taş, Ankara.
34. BİLGEL, H., 2007, *Genel cerrahi*, Avrupa Tıp Kitapçılık, İstanbul.

35. BERNSSAND M, ERICSSON P, BJORKQVIST M, ZHAO CM, HAKANSON R, NORLEN P, 2003, Submucosal microinfusion of endothelin and adrenaline mobilizes ECL-cell histamine in rat stomach, and causes mucosal damage: A microdialysis study, *British Journal of Pharmacology*, 707-717.
36. MURRAY, R.K., GRANNER, D.K., MAYES, P.A., RODWELL, V.W., 1996, *Harper'in Biyokimyası*, Appleton ve Lange Yayınevi, İstanbul.
37. WHITTLE, B.J.R., 1977, Mechanisms underlying gastric mucosal damage induced by indomethacin and bile salts and their actions of prostaglandins, *British Journal of Pharmacology*, 60, 455-460.
38. NEHRA, D., HOWELL, P., WILLIAMS, C.P., PYE, J.K., BEYNON, J., 1999, Toxic bile acids in gastro-oesophageal reflux disease: Influence of gastric acidity, *Gut*, 44, 598-602.
39. YANARDAG, R., OZSOY-SACAN, O., OZDİL, S., BOLKENT, S., 2007, Combined Effects of Vitamin C, Vitamin E, and Sodium Selenate supplementation on absolute ethanol-induced injury in various organs, *International Journal of Toxicology*, 26, 513-523.
40. JOGL, G., HSIAO, Y.S., TONG, L., 2004, Structure and function of carnitine acyltransferases, *Annals of New York Academy of Sciences*, 1033, 17-29.
41. BOUCHIER, I.A.D., ALLAN, R.N., HODGSON, H.J.F., KEIGHLEY, M.R.B., 1984, Chronic peptic ulcer, *Textbook of Gastroenterology*, 128-134.
42. DÖKMECİ, İ., 2000, *Eikozanoidler ve steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar*, *Farmakolojide temel kavramlar*, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi.
43. PESKAR, B.M., 2001, Neural aspects of prostaglandin involvement in gastric mucosal defense, *Journal of Physiology and Pharmacology*, 52, 555-565.
44. POZZOLI, C., MENOZZI, A., GRANDI, D., SOLENGHI, E., OSSIPRANDI, M.C., ZULLIAN, C., BERTINI, S., CAVESTRO, G.M., CORUZZI, G., 2007, Protective effects of proton pump inhibitors against indomethacin-induced lesions in the rat small intestine, *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 374, 283-291.
45. COSTA, B., CONTI, S., GIAGNONI, G., COLLEONI, M., 2002, Therapeutic effect of the endogenous fatty acid amide, palmitoylethanolamide, in rat acute inflammation: Inhibition of nitric oxide and cyclo-oxygenase systems, *British Journal of Pharmacology*, 137, 413-420.
46. ARUN, M., ASHA, V.V., 2008, Gastroprotective effect of *Dodonaea viscosa* on various experimental ulcer models, *Journal of Ethnopharmacology*, 118, 460-465.
47. BROZOWSKI, T., KONTUREK, P.C., PAJDO, R., PTAK-BEŁOWSKA, A., KWIECIEŃ, S., PAWLIK, M., DROZDOWICZ, D., SLIWOWSKI, Z., BROZOWSKI, B., KONTUREK, S.J., PAWLIK, W.W., 2008, Physiological

mediators in nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) – induced impairment of gastric mucosal defense and adaption. Focus on nitric oxide and lipoxins. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 59, 89-102.

48. HAWKEY, C.J., 2001, COX-1 and COX-2 inhibitors, *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 15, 801-820.

49. ARDOIN, S.P., SUNDY, S.J., 2006, Update on non-steroidal anti-inflammatory drugs, *Current Opinion in Rheumatology*, 18, 221-226.

50. YOSHIKAWA, T., NAITO, Y., KISHI, A., TOMII, T., KANEKO, T., IINUMA, S., ICHIKAWA, H., YASUDA, M., TAKAHASHI, S., KONDO, M., 1993, Role of active oxygen, lipid peroxidation, and antioxidants in the pathogenesis of gastric mucosal injury induced by indomethacin in rats, *Gut*, 34, 732-737.

51. KISE, Y., YOSHIMURA, S., AKIEDA, K., UMEZAWA, K., OKADA, K., YOSHITAKE, N., SHIRAMIZU, H., YAMAMOTO, I., INOKUCHI, S., 2004, Acute oral selenium intoxication with ten times the lethal dose resulting in deep gastric ulcer, *The Journal of Emergency Medicine*, 26, 183-187.

52. VALKO, M., RHODES, C.J., MONCOL, J., IZAKOVIC, M., MAZUR, M., 2006, Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer, *Chemico-Biological Interactions*, 160, 1-40.

53. CONNER, E.M., GRISHAM, M.B., 1996, Inflammation, free radicals, and antioxidants, *Nutrition*, 12, 274-277.

54. FREEMAN, B.A., CRAPO, J.D., 1982, Free radicals and tissue injury, *Laboratory Investigation*, 47, 412-426.

55. HEMLER, M.E., COOK, H.W., LANDS, W.E., 1979, Prostaglandin biosynthesis can be triggered by lipid peroxides, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 193, 340-345.

56. AKKUŞ, T., 1995, *Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri*, Konya, Mimoza Yayınları.

57. KANTER, M., COSKUN, O., UYSAL, H., 2006, The antioxidative and antihistaminic effect of *Nigella sativa* and its major constituent, thymoquinone on ethanol-induced gastric mucosal damage, *Archives of Toxicology*, 80, 217-224.

58. POHLE, T., BROZOWSKI, T., BECKER, J.C., VAN DER VOORT, I.R., MARKMANN, A., KONTUREK, S.J., MONICZEWSKI, A., DOMSCHKE, W., KONTUREK, J.W., 2001, Role of reactive oxygen metabolites in aspirin-induced gastric damage in humans: Gastroprotection by vitamin C, *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 15, 677-687.

59. KONTUREK, P.C., KANIA, J., GESSNER, U., KONTUREK, S.J., HAHN, E.G., KONTUREK, J.W., 2004, Effect of vitamin C-releasing acetylsalicylic acid on gastric

mucosal damage before and after *Helicobacter pylori* eradication therapy, *European Journal of Pharmacology*, 169-177.

60. SUN, Y.Q., GIRGENSONE, I., LEANDERSON, P., PETERSSON, F., BORCH, K., 2005, Effect of vitamin supplements on *Helicobacter pylori*- induced gastritis in mongolian gerbils, *Helicobacter*, 10, 33-42.

61. KAMBLE P, MOHSIN N, JHA A, DATE A, UPADHAYA A, MOHAMMAD E, KHALIL M, PAKKYARA A, BUDRUDDIN M., 2009, Selenium intoxication with selenite broth resulting in acute renal failure and severe gastritis, *Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation*, 20, 106-111.

62. DU, Y., WU, Y., CAO, X., CUI, W., ZHANG, H., TIAN, W., JI, M., HOLMGREN, A., ZHONG, L., 2009, Inhibition of mammalian thioredoxin reductase by black tea and its constituents: Implications for anticancer actions, *Biochimie*, 91, 434-444.

63. RAO, C.V., VIJAYAKUMAR, M., 2008, Effect of quercetin, flavonoids and α -tocopherol, an antioxidant vitamin on experimental reflux oesophagitis in rats, *European Journal of Pharmacology*, 589, 233-238.

64. KAPLOWITZ, N., 2002, Biochemical and cellular mechanisms of toxic liver injury, *Seminars in Liver Diseases*, 22, 137-144.

65. RAYMAN, P.R., 2005, Selenium in cancer prevention: A review of the evidence and mechanism of action, *Proceedings of the Nutrition Society*, 64, 527-542.

66. MALIAKEL, D.M., KAGIYA, T.V., NAIR, C.K.K., 2008, Prevention of cisplatin-induced nephrotoxicity by glucosides of ascorbic acid and α -tocopherol, *Experimental and Toxicologic Pathology*, 60, 521-527.

67. OLIVEIRA, C.P., KASSAB, P., LOPASSO, F.P., SOUZA, H.P., JANISZEWSKI, M., LAURINDO, F.R., IRIYA, K., LAUDANNA, A.A., 2003, Protective effect of ascorbic acid in experimental gastric cancer: Reduction of oxidative stress, *World Journal of Gastroenterology*, 9, 446-448.

68. PADH, H., 1990, Cellular functions of ascorbic acid, *Biochemistry and Cell Biology*, 68, 1166-1173.

69. SHIRPOOR A., SALAMI S., KHADEM-ANSARI M.H., MINASSIAN S., YEGIAZARIAN M., 2009, Protective effect of vitamin e against ethanol-induced hyperhomocysteinemia, DNA damage, and atrophy in the developing male rat brain, *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 33, 1181-1186.

70. OLGUIN-MARTINEZ, M., MENDIETA-CONDADO, E., CONTRERAS-ZENTELLA, M., ESCAMILLA, J.E., ARANDA-FRAUSTRO, A., EL-HAFIDI, M., HERNANDEZ-MUNOZ, R., 2006, Rate of oxidant stress regulates balance between rat gastric mucosa proliferation and apoptosis, *Free Radical Biology and Medicine*, 41, 1325-1337.

71. SANDALCI, Ö., MOLVALILAR, S., AZİZERLİ, H., ALAGÖL, M.F., ORHAN, Y., TANAKOL, R., ARAL, F., KARAN, A., AZEZLİ, A., ÖZBEY, N., YARMAN, S., 2001, *Endokrinoloji, metabolizma ve beslenme hastalıkları geriatri tedavisi ile*, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
72. VALCHEVA-KUZMANOVA, S., KRASNALIEV, I., GALUNSKA, B. BELCHEVA, A., 2007, Influence of DL- α -tocopherol acetate on indomethacin-induced gastric mucosal injury in rats, *Autonomic & Autocoid Pharmacology*, 27, 131-136.
73. FANG, Y.Z., YANG, S., WU, G., 2002, Free radicals, antioxidant and nutrition, *Nutrition*, 18, 872-879.
74. LIEBLER, D.C., 1993, The role of metabolism in the antioxidant function of vitamin E, *Critical Reviews in Toxicology*, 23, 147-169.
75. GATE, L., PAUL, J., BA, G.N., TEW, K.D., TAPIERO, H., 1999, Oxidative stress induced in pathologies: The role of antioxidants, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 53, 169-180.
76. CONRAD JONES, R., SUGIE, S., BRALEY, J., WEISBURGER, J.H., 1989, Dietary β -carotene in rat models of gastrointestinal cancer, *Journal of Nutrition*, 119, 508-514.
77. SINGH, P., BHARGAVA, V.K., GARG, S.K., 2002, Effect of melatonin and beta-carotene on indomethacin induced gastric mucosal injury, *Indian Journal of Physiology & Pharmacology*, 46, 229-234.
77. NAZIROGLU, M., 1999, Protective role of intraperitoneally administered vitamin E and selenium in rats anesthetized with enflurane, *Biological Trace Element Research*, 69, 199-209.
79. CHENG, W.H., QUIMBY, F.W., LEI, X.G., 2003, Impacts of glutathione peroxidase-1 knockout on the protection by injected selenium against the pro-oxidant induced liver aponecrosis and signaling in selenium-deficient mice, *Free Radical Biology & Medicine*, 34, 918-927.
80. KISE, Y., YOSHIMURA, S., AKIEDA, K., UMEZAWA, K., OKADA, K., YOSHITAKE, N., SHIRAMIZU, H., YAMAMOTO, I., INOKUCHI, S., 2004, Acute oral selenium intoxication with ten times the lethal dose resulting in deep gastric ulcer, *The Journal of Emergency Medicine*, 26, 183-187.
81. SZELENYI I., BRUNE K., 1988, Possible role of oxygen free radicals in ethanol-induced gastric mucosal damage, *Digestive Diseases and Sciences*, 33, 865-871.
82. THUN, M.J., HENLEY, S.J., PATRONO, C., 2002, Non-steroidal anti-inflammatory drugs as anticancer agents: Mechanistic, pharmacologic, and clinical issues, *Journal of the National Cancer Institute*, 94, 252-266.

83. SALAM, O.A., SZOLCSANYI, J., MOZSIK, G., 1997, The indomethacin-induced gastric mucosal damage in rats effect of gastric acid, acid inhibition, capsaicin-type agents and prostacyclin, *Journal of Physiology-Paris*, 91, 7-19.
84. ÇELİK, G., 2004, *İndometazin, Selekoksib ve Meloksikam'ın sıçanların mide ve karaciğer dokusu MDA, GSH, MPO ve eritrosit MDA,GSH, NO seviyelerine etkisi; Selekoksib, Meloksikam ve Ranitidin'in indometazin uyarımlı gastrik ülserlere antiülser etkisi*, Uzmanlık Tezi, Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı.
85. SHORROCK, C.J., REES, W.D., 1992, Mucosal adaption to indomethacin induced gastric damage in man-studies on morphology, blood flow, and prostaglandin E₂ metabolism, *Gut*, 33, 164-169.
86. MURUGAN RS, MOHAN KV, UCHIDA K, HARA Y, PRATHIBA D, NAGINI S., 2007, Modulatory effects of black tea polyphenols on oxidant-antioxidant profile and expression of proliferation, apoptosis and angiogenesis-associated proteins in the rat forestomach carcinogenesis model, *Journal of Gastroenterology*, 42, 352-361.
87. ERKİN, B., 2005, *Deneyisel ülser modellerinde L-karnitinin gastrik mukozayı koruyucu etkisi*, Yüksek Lisans Tezi ,Trakya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Programı.
88. BOYD, E.J.S., WORMSLEY, K.G., 1985, Etiology and pathogenesis of peptic ulcer, In: Berk J (Eds), *Gastroenterology*, 128-134.
89. MELLİ, M., KAYAALP, S.O., 2002, *Non-steroidal antiinflatuar ilaçlar, Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji*, Ankara, Hacettepe Taş Kitabevi.
90. BEUTLER, E., DURAN, O., KELLY, B.M., 1963, Improved method for the determination of blood glutathione, *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 61, 882-888.
91. REITMAN, S., FRANKEL, S., 1957, A colorimetric method fot the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic piruvic transaminases, *American Journal of Clinical Pathology*, 28, 56-63.
92. WALTER, K., SCHÜLT, C., 1974, Acid and alkaline phosphatase in serum (two point method), *Methods of Enzymatic Analysis*, 2, 856-886.
92. LORENTZ, K., WEISS, T., KRAAS, E., 1986, Sialic acid in human serum and cerebrospinal fluid, *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*, 24, 189-198.
94. WINZLER, R.J., 1955, Determination of serum glycoproteins. In: *Methods of Biochemical Analysis*, Glick, DP, ed. New York: Interscience Publishers Inc, 279-311.
95. LEDWOZYW, A., MICHALAK, J., STEPIEN, A., KADZIOLKA, A., 1986, The relationship between plasma triglycerides and lipid peroxidation products during human atherosclerosis, *Clinica Chimica Acta*, 155, 275-284.

96. LEVINE, R.L., GARLAND, D., OLIVER, C.N., AMICI, A., CLIMENT, I., LENZ, A.G., AHN, B.W., SHALTIEL, S., STANTMAN, E.R., 1990, Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins, *Methods in Enzymology*, 186, 464-478.
97. BURTIS, Ashwood, Tietz Textbook of Clinical Chemistry 2nd Edition, 1994, pp 817.
98. AEBI, H., 1984, Catalase in vitro, *Methods in Enzymology*, 105, 121-6.
99. HABIG, W.H., JACOBY, W.B., Assays of differentiation on glutathione-S-transferase, 1981, *Methods of Enzymology*, 77, 398-405.
100. LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, H.J., FARR, A.L., RANDALL, R.J., 1951, Protein measurement with the Folin phenol reagent, *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275.
101. FILARETOVA, L., TANAKA, A., MIYAZOWA, T., KATO, S., TAKEUCHI, K., 2002, Mechanisms by which endogenous glucocorticoid protects against indomethacin-induced gastric injury in rats, *The American Journal of Physiology*, 283, 1082-1090.
102. KIAROSTAMI, V., SAMINI, L., GHAZI-KHANSARI, M., 2006, Protective effect of melatonin against multistress condition induced lipid peroxidation via measurement of gastric mucosal lesion and plasma malondialdehyde levels in rats, *World Journal of Gastroenterology*, 12, 7527-7531.
103. DEVI, R.S., NARAYAN, S., VANI, G., DEVI, C.S.S., 2007, Gastroprotective effect of *Terminalia arjuna* bark on diclofenac sodium induced gastric ulcer, *Chemico-Biological Interactions*, 167, 71-83.
104. ŞENER, G., KAPUCU, C., ÇETİNEL, Ş., ÇIKLER, E., AYANOĞLU-DÜLGER, G., 2005, Gastroprotective effect of leukotriene receptor blocker montelukast in alendronat-induced lesions of the rat gastric mucosa, *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 72, 1-11.
105. SUZUKI, K., ARAKI, H., KOMOIKE, Y., TAKEUCHI, K., 2000, Permissive role of neutrophils in pathogenesis of indomethacin-induced gastric lesions in rats, *Medical Science Monitor*, 6, 908-914.
106. DINIZ D'SOUZA, R.S., DHUME, V.G., 1991, Gastric Cytoprotection, *Indian Journal of Physiology Pharmacology*, 35, 88-98.
107. TANAKA, J., YUDA, Y., 1996, Lipid peroxidation in gastric mucosal lesions induced by indomethacin in rats, *Biological Pharmacological Bulletin*, 19, 716-720.
108. BULBENA, O., ESCOLAR, G., NAVARRO, C., BRAVO, L., PFEIFFER, C.J., 1993, Gastroprotective effect of zinc acexamate against damage induced by

nonsteroidal antiinflammatory drugs: A morphological study, *Digestive Diseases Sciences*, 38, 730-739.

109. BRAVO, L., ESCOLAR, G., NAVARRO, C., FORTARNAU, R., BULBENA, O., 1990, Effect of zinc acexamate on gastric lesions induced by aspirin: A morphological study, *European Journal of Pharmacology*, 190, 59-65.

110. GALUNSKA B., MARAZOVA K., TANKOVA T., POPOV A., FRANGOV P., KRUSHKOV I., DI MASSA A. , 2002, Effects of paracetamol and propacetamol on gastric mucosal damage and gastric lipid peroxidation caused by acetylsalicylic acid (ASA) in rats, *Pharmacological Research*, 46, 141-147.

111. BAGCHI, D., BAGCHI, M., STOHS, S.J., DAS, D.K., RAY, S.D., KUSZYNSKI, C.A., JOSHI, S.S., PRIESS, H.G., 2000, Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: Importance in human health and disease prevention, *Toxicology*, 48, 187-197.

112. MASFERRER, J.L., ZWEIFEL, B.S., MANNING, P.T., HAUSER, S.D., LEAHY, K.M., SMITH, W.G., ISAKSON, P.C., SEIBERT, K., 1994, Selective inhibition of inducible cyclooxygenase-2 in vivo is antiinflammatory and nonulcerogenic, *The Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91, 3228-3232.

113. LAINE, L., HARPER, S., SIMON, T., BATH, R., JOHANSON, J., SCHWARTZ, H., STERN, S., QUAN, H., BOLOGNESE, J., 1999, A randomized trial comparing the effect of rofecoxib, a cyclooxygenase 2-specific inhibitor, with that of ibuprofen on the gastroduodenal mucosa of patients with osteoarthritis, *Gastroenterology*, 117, 776-783.

114. GILBERT, D.L., 2000, Fifty years of radical ideas, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 899, 1-14.

115. CADENAS, E., 1989, Biochemistry of oxygen toxicity, *Annual Review of Biochemistry*, 58, 79-110.

116. VALKO, M., IZAKOVIC, M., MAZUR, M., RHODES, C.J., TELSER, J., 2004, Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 266, 37-56.

117. POLI, G., LEONARDUZZI, G., BIASI, F., CHIARPOTTO, E., 2003, Oxidative stress and cell signaling, *Current Medical Chemistry*, 10, 2495-2505.

118. HALLIWELL, B., 1996, Antioxidant in human health and disease, *Annual Review of Nutrition*, 16, 33-50.

119. MOZSIK, Gy., GARAMSZEGI, M., JAVOR, T., NAGY, L., SÜTO, G., TOTH, Gy., VINCZE, A., 1989, Cellular energy status of the gastric mucosa and gastric mucosal prevention by Vitamin A in indomethacin-treated rats, *International Journal of Tissue Reactions-Experimental and Clinical Aspects*, 11, 65-71.

120. XIAO, S.D., MENG, X.J., SHI, Y., HU, Y.B., ZHU, S.S., WANG, C.W., 2002, Interventional study of high dose folic acid in gastric carcinogenesis in beagles, *Gut*, 50, 61-64.
121. HERRERA, B., MURILLO, M.M., ALVAREZ-BARRIENTOS, A., BELTRAN, J., FERNANDEZ, M., FABREGAT, I., 2004, Source of early reactive oxygen species in the apoptosis induced by transforming growth factor-beta in fetal rat hepatocytes, *Free Radical Biology and Medicine*, 36, 16-26.
122. SIGOUNAS, G., ANAGNOSTOU, A., STEINER, M., 1997, D- α -Tocopherol induces apoptosis in erythroleukemia, prostate, and breast cancer cells, *Nutrition and Cancer-An International Journal*, 18, 30-35.
123. WILSON, R.L., Free radical repair mechanisms and the interaction of glutathione and vitamin C and E, 1983, *New York: Academic Press*, pp. 23.
124. LI, Y.G., JI, D.F., LIN, T.B., ZHONG, S., HU, G.Y., CHEN, S., 2008, Protective effect of serisin peptide against alcohol-induced gastric injury in mice, *Chinese Medical Journal*, 121, 2038-2087.
125. KABUTO, H., TADA, M., KOHNO, M., 2007, Eugenol [2-methoxy-4-(2-propenyl)phenol] prevents 6-hydroxydopamine-induced dopamine depression and lipid peroxidation inductivity in mouse striatum, *Biological Pharmaceutical Bulletin*, 30, 423-427.
126. LUBKOWSKA, A., DOLEGOWSKA, B., SZYGULA, Z., KLIMEK, A., 2009, Activity of selected enzymes in erythrocytes and level of plasma antioxidants in response to single whole body cryostimulation in humans, *The Scandian Journal of Clinical & Laboratory Investigation*, 69, 387-394.
127. HAYES, J.D., McLELLAN, L.I., 1999, Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a coordinately regulated defence against oxidative stress, *Free Radical Research*, 31, 273-300.
128. BLANDIZZI, C., FORNAI, M., COLUCCI, R., NATALE, G., LUBRANO, V., VASSALLE, C., ANTONIOLI, L., LAZZERI, G., DEL TACCA, M., 2005, Lansoprazole prevents experimental gastric injury induced by non-steroidal anti-inflammatory drugs through a reduction of mucosal oxidative damage, *World Journal of Gastroenterology*, 11, 4052-4060.
129. BROZOZOWSKI, T., TARNAWSKI, A., HOLLANDER, SEKHON, S., KRAUSE, W.J., GERGELY, H., 2005, Comparison of prostaglandin and cimetidine in protection of isolated gastric glands against indomethacin injury, *Journal of Physiology and Pharmacology*, 56, 77-78.
130. VIDELA, L.A., VALENZUELA, A., 1982, Alcohol ingestion, liver glutathione and lipoperoxidation: Metabolic interrelations and pathological implications, *Life Sciences*, 31, 2395-2407.

131. AKOWUAH, G.A., ZHARI, I., MARIAM, A., YAM, M.F., 2009, Absorption of andrographolides from *Andrographis paniculata* and its effect on CCl₄ –induced oxidative stress in rats, *Food and Chemical Toxicology*, (Baskıda).
132. VARLEY, H., GOWENLOCK, A.H., BELL, M., 1991, Practical Clinical Biochemistry, CBS Publishers and Distributors, pp. 891-908.
133. FERGUSON, W.W., STARLING, J.R., WANGENSTEEN, S.L., 1972, Role of lysosomal enzyme release in the pathogenesis of stress-induced gastric ulceration, *Surgeons Forum*, 23, 380-382.
134. EMEKLİ, N., YARAT, A., AKBAY TUNALI, T., ÖZTÜRK KOÇ, L., ALTURFAN, EI., 2008, *Tükürük biyokimyası: Tükürük histolojisi, fizyolojisi, mikrobiyolojisi ve biyokimyası*.
135. PAULSON, J.C., 1989, Glycoproteins: What are the sugar chains for?, *Trends in Biochemical Sciences*, 14, 272-276.
136. SCHAUER, R., 1992, Chemistry, metabolism and biological functions of sialic acid, *Advances in Carbohydrate Chemistry & Biochemistry*.
137. ERDİL, A., 1994, *İnsüline bağımlı olmayan diyabetik hastalarda serum siyalik asid düzeyinin kan basıncı ve retinopatiyle ilişkisi*, GATA Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, Ankara.
138. WANG, J.Y., HSIEH, J.S., HUANG, T.J., 1997, Changes in rat gastric mucosal glycoproteins in portal hypertension, *European Surgical Research*, 29, 280-286.
139. SIKIRIC, P., SEIWERTH, S., DESKOVIC, S., GRABAREVIC, Z., MAROVIC, A., RUCMAN, R., PETEK, M., KONJEVODA, P., JADRIJEVIC, S., SOSA, T., PEROVIC, D., ARALICA, G., TURKOVIC, B., 1999, New model of cytoprotection/adaptive cytoprotection in rats: Endogenous small irritants, antiulcer agents and indomethacin, *European Journal of Pharmacology*, 364, 23-31.
140. TEGEDER, I., NEUPERT, W., GÜHRING, H.İ, GEISLİNIGER, G., 2000, Effects of selective and unselective cyclooxygenase inhibitors on prostanoid release from various rat organs, *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 292, 1161-1168.
141. GUPTA M., MAZUMDER U.K., MANIKANDAN L., BHATTACHARYA S., SENTHILKUMAR G.P., SURESH R., 2005, Anti-ulcer activity of ethanol extract of *Terminaliapallida brandis* in Swiss albino rats, *Journal of Ethnopharmacology*, 97, 405-408.
142. NAITO, Y., YOSHIKAWA, T., MATSUYAMA, K., NISHIMURA, S., YAGI, N., KONDO, M., 1995, Effects of free radical scavengers on indomethacin-induced aggravation of gastric ulcer in rats, *Digestive Diseases and Sciences*, 40, 2019-2021.

143. FILARETOVA, L., TANAKA, A., MIYAZOWA, T., KATO, S., TAKEUCHI, K., 2002, Mechanisms by which endogenous glucocorticoid protects against indomethacin-induced gastric injury in rats, *The American Journal of Physiology*, 283, 1082-1090.
144. WHITTLE, B.J.R., LASZLO, F., EVANS, S.M., MONCADA, S., 1995, Induction of nitric oxide synthase and microvascular injury in rat jejunum provoked by indomethacin, *British Journal of Pharmacology*, 116, 2286-2290.
145. KONAKA, A., KATO, S., TANAKA, A., KUNIKATA, T., KOROLKIEWICZ, R., TAKEUCHI, K., 1999, Roles of entero bacteria, nitric oxide and neutrophil in pathogenesis of indomethacin-induced small intestinal lesions in rats, *Pharmacological Research*, 40, 517-524.
146. ELLIOT, S.N., WALLACE, J.L., Neutrophil-mediated gastrointestinal injury, *Journal of Gastroenterology*, 12, 559-568.
147. TAKEUCHI, K., UESHIMA, K., HIRONAKA, Y., FUJIOKA, Y., MATSUMOTO, J., OKABE, S., 1991, Oxygen free radicals and lipid peroxidation in the pathogenesis of gastric mucosal lesions induced by indomethacin in rats, *Digestion*, 49, 175-184.
148. YOSHIKAWA, T., MINAMIYAMA, Y., ICHIKAWA, H., TAKAHASHI, S., NAITO, Y., KONDO, M., 1969, Role of lipid peroxidation and antioxidants in gastric mucosal injury induced by the hypoxanthine-xanthine oxidase system in rats, *Free Radical Biology and Medicine*, 23, 243-250.
149. SANTHOSH, S., ANANDAN, R., SINI, T.K., MATHEW, P.T., 2007, Protective effect of glucosamine against ibuprofen-induced peptic ulcer in rats, *Gastroenterology*, 22, 949-953.
150. BAYIR, Y., ODABASOGLU, F., CAKIR, A., ASLAN, A., SULEYMAN, H., HALICI, M., KAZAZ, C., 2006, The inhibition of gastric mucosal lesion, oxidative stress and neutrophil infiltration in the rats by lichen constituent diffractaic acid, *Phytomedicine*, 13, 584-590.
151. BERLETT, B.S., STADMAN, E.R., 1997, Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress, *Journal of Biological Chemistry*, 272, 20313-20316.
152. SHACTER, E., 2000, Quantification and significance of protein oxidation in biological samples, *Drug Metabolism Reviews*, 32, 307-326.
153. BEAL, M.F., 2002, Oxidatively modified proteins in aging and disease, *Free Radicals in Biology and Medicine*, 32, 797-803.
154. SARAVANAN, R., PUGALENDI, V., 2006, Impact of ursolic acid on chronic ethanol-induced oxidative stress in the rat heart, *Pharmacological Reports*, 58, 41-47.

155. OTHMAN A.I., EL-MISSIRY M.A., AMER M.A., 2001, The protective action of melatonin on indomethacin-induced gastric and testicular oxidative stress in rats, *Redox Report*, 6, 173-177.
156. ODABASOĞLU, F., HALICI, Z., ÇAKIR, A., HALICI, M., AYGUN, H., SULEYMAN, H., CADIRCI, E., ATALAY, F., 2008, Beneficial effects of vegetable oils (corn, olive and sunflower oils) and α -tocopherol on anti-inflammatory and gastrointestinal profiles of indomethacin in rats, *European Journal of Pharmacology*, 591, 300-306.
157. DENGİZ, G.O., ODABASOĞLU, F., HALICI, Z., CADIRCI, E., SULEYMAN, H., 2007, Gastroprotective and antioxidant effects of montelukast on indomethacin-induced gastric ulcer in rats, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 105, 94-102.
158. FRIDOVICH, I., 1978, The biology of oxygen radicals, *Science*, 201, 875-880.
159. KETTERER, B., 1988, Protective role of glutathione and glutathione-S-transferases in mutagenesis and carcinogenesis, *Mutation Research*, 202, 343-361.

ÖZGEÇMİŞ

Adı, Soyadı : İsmet Burcu Türkyılmaz
Doğum Tarihi : 06.12.1984
Doğum Yeri : İstanbul

Öğrenim Durumu:

İlk Okul : Özel Doğan İlkokulu 1990-1995
Orta Okul : Üsküdar Kız Lisesi 1995-1998
Lise : Osmangazi Anadolu Lisesi 1998-2002
Yüksek Öğretim : İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi
 Kimya Bölümü 2002-2006
Yüksek Lisans : İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi
 Kimya Bölümü Biyokimya Anabilim Dalı 2006
 tarihinden bugüne kadar devam etmektedir.
Yüksek Lisans Tez Konusu : İndometazin ile Oluşturulan Gastrik Mukozal
 Hasarına Vitamin C, Vitamin E, β -karoten ve
 Selenyum'un Etkileri
Bildiği Yabancı Dil : İngilizce
Medeni Hali : Bekar