

**T.C.
ZONGULDAK KARAEKMAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ-EMBRYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA ETANOL İLE OLUŞTURULAN AKUT GASTRİK
MUKOZA HASARINA KARŞI EBSELEN'İN KORUYUCU ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Betül KAYBOLMAZ

Zonguldak, 2005

**SIÇANLARDA ETANOL İLE OLUŞTURULAN AKUT GASTRİK
MUKOZA HASARINA KARŞI EBSELEN'İN KORUYUCU ETKİŐİ**

Betül KAYBOLMAZ

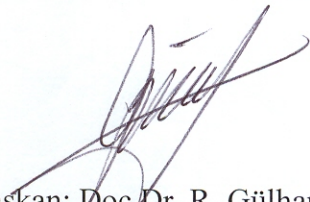
**Zonguldak Karaelmas Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalında
Yüksek Lisans Tezi
Olarak Hazırlanmıştır**

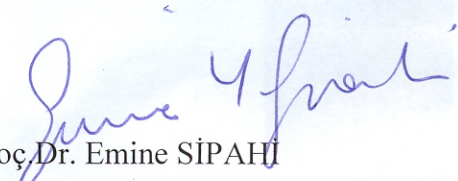
**ZONGULDAK
Haziran 2005**

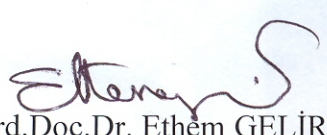
KABUL:

Betül KAYBOLMAZ tarafından hazırlanan “SIÇANLARDA ETANOL İLE OLUŞTURULAN AKUT GASTRİK MUKOZA HASARINA KARŞI EBSELEN’İN KORUYUCU ETKİSİ” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

22.06.2005


Başkan: Doç.Dr. R. Gülhan AKTAŞ

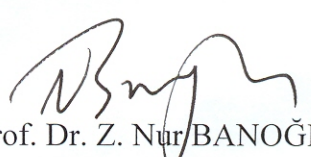

Üye: Doç.Dr. Emine SİPAHI


Üye: Yrd.Doç.Dr. Ethem GELİR

ONAY:

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

14.07/2005.


Prof. Dr. Z. Nur BANOĞLU
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

SIÇANLARDA ETANOL İLE OLUŞTURULAN AKUT GASTRİK MUKOZA HASARINA KARŞI EBSELEN'İN KORUYUCU ETKİSİ

Betül KAYBOLMAZ

Tez Danışmanı: Doç. Dr. R. Gülhan AKTAŞ

Zonguldak Karaelmas Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı

Haziran 2005, 76 sayfa

Gastrik mukozanın etanol gibi hasara uğratan ajanlara maruz kalması sonucunda organizmada yapısal ve fonksiyonel değişiklikler olmaktadır: İnflamatuvar süreç, hemorajik erozyonlar, hatta akut ülserler. Midenin epitelyal hücreleri devamlı olarak mukozal hasara neden olabilen toksik ajanlara maruz kalmaktadır. Alkol kullanımı, modern toplumun en önemli problemlerinden biridir. Alkol, oral yolla alındığında gastrointestinal sistemin mide epitelinden kolayca emilmektedir. Absolu alkol ile oluşturulan oksidatif stres, gastrik hasarın patogenezinde çok önemli rol oynamaktadır. Bu değişikliklerin temeli, koruyucu mekanizmaların bozulması ve sonuç olarak gastrik mukozal bariyerin yıkılmasıdır. Sıçanlarda antioksidan enzim aktivitelerinin bozulması ile gastrik mukozadaki değişiklikler reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretilmesini ve lipid peroksidasyonunun artışı

ÖZET (devam ediyor)

içermektedir. Bu çalışmada selenoorganik bileşik olan glutatyon peroksidaza (GPx) benzer aktivitesi, antioksidatif ve antiinflamatuvar özellikleri ile bilinen ebselenin, 1 ml %100 etanol ile gastrik mukoza hasarı oluşturulması üzerine koruyucu etkisi araştırılmıştır. Ebselenin 30 mg/kg dozda önceden verilmesi gastrik hasarı ve lipid peroksidasyonunu belirgin derecede indirmiştir. Mide ve duodenum ülserlerinde sıklıkla kullanılan H₂ reseptör antagonisti olan famotidin, ebselenin yararlılığını karşılaştırmak amacıyla referans ilaç olarak kullanılmıştır. Ebselen, etanol verilmesi ile oluşan kanama alanı ve ödem ile birlikte gelişen gastrik mukozal nekrozu indirmiştir. Bunun yanında ebselenin önceden verilmesi, MDA seviyesini indirmiş ve antioksidan enzim aktivitelerinin inhibisyonunu önlemiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, sıçanlarda etanol verilmeden önce ebselenin verilmesinin, akut gastrik mukoza hasarının oluşumuna karşı koruyucu etki gösterdiği belirlenmiştir. Ebselenin bu koruyucu etkilerinin de onun GPx'a benzer aktivitesi sayesinde, antioksidan ve antiinflamatuvar niteliklerine bağlı olarak geliştiği düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: Ebselen, etanol, gastrik mukozal hasar, oksidatif stres, glutatyon peroksidaz, lipid peroksidasyonu.

Bilim Kodu: 101.36.00

ABSTRACT

Master of Science Thesis

THE PROTECTIVE EFFECT OF EBSELEN AGAINST ETHANOL INDUCED ACUTE GASTRIC MUCOSAL INJURY IN RATS

Betül KAYBOLMAZ

Thesis Advisor: Assistant Prof. Dr. R. Gülhan AKTAŞ

Zonguldak Karaelmas University

Institute of Health Sciences

Department of Histology-Embryology

June 2005, 76 pages

The exposure of gastric mucosa to damaging agents, such as ethanol, produces structural and functional changes in the organism: inflammatory process, hemorrhagic erosions, even acute ulcers. The epithelial cells of stomach are continuously exposed to various toxic agents that may cause mucosal injury. Alcohol usage is one of the most important problem of the modern society. Alcohol can be absorbed easily from stomach epithelial tissue of gastrointestinal system that was taken by orally. Absolute ethanol-induced oxidative stress play a pivotal role in the pathogenesis of gastric mucosal injury. The base of these changes is a impairment of protective mechanisms and consequently disrapture of gastric mucosal barrier. The changes of gastric mucosa in rat includes the generation of ROT and increasing of lipid peroxidation accompanied by impairment of antioxidative enzyme activity of cells. This study presents preventive effects of ebselen, a seleno-organic compound, which is known to

ABSTRACT (continuing)

possess GPx like activity, antioxidative and anti-inflammatory properties, on the development of acute gastric mucosal lesions administrated by 1 ml 100% ethanol. Pre-treatment with ebselen at a dose of 30 mg/kg significantly reduced gastric injury and lipid peroxidation. H₂ receptor antagonist, famotidine, which is a commonly used to treat stomach and duodenal ulcers was used as a reference drug for comparison of ebselen efficacy. Ethanol administration casused hemorrhage and edema. Ebselen reduced these histological findings. In addition ebselen pretreatment decreased MDA levels and prevented inhibition of antioxidant enzyme activities in the tissues. The present results indicate that ebselen treatment before ethanol administration prevents the development of acute gastric mucosal lesions in rats, and suggest that this preventive effects of ebselen could be due to its GPx like activity, antioxidative and antiinflammatory properties.

Key words: Ebselen, ethanol, gastric mucosal damage, oxidative stress, glutathione peroxidase, lipid peroxidation.

Science Code: 101.36.00

TEŞEKKÜR

Çalışmam konusunda destek sağlayan Zongudak Karaelmas Üniversitesi Rektörü Sayın Prof. Dr. Bektaş AÇIKGÖZ'e, çalışmam hakkındaki önerilerini paylaşan ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. R. Gülhan AKTAŞ'a, Yüksek Lisans eğitimim ve tez çalışmam boyunca bilgisini ve tecrübelerini en iyi şekilde paylaşan, desteğini esirgemeyen, yol gösteren ve çalışmamın başlangıcında danışmanım olan, Sayın Yrd.Doç.Dr. Ömer COŞKUN'a, çalışmam konusunda yöntem önerileri sunan Sayın Prof. Dr. Z. Nur BANOĞLU'na ve Sayın Doç.Dr. Mehmet KANTER'e, tez çalışmamın deneysel aşamasında yardımlarını esirgemeyen Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç.Dr. Ferah ARMUTÇU'ya, daima desteğini gördüğüm ve yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşım Sayın Biyolog Ulaş OĞUZ'a ve aileme, tezin düzenlenmesi konusundaki yardımlarından dolayı Uzman Biyolog Ferhat MATUR'a ve Uzman Biyolog Muhammet ÖREN'e teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

| | Sayfa |
|---|-------|
| KABUL VE ONAY | ii |
| ÖZET | iii |
| ABSTRACT | v |
| TEŞEKKÜR | vii |
| İÇİNDEKİLER | viii |
| ÇİZELGELER DİZİNİ | x |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | xi |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ | xii |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. AMAÇ | 4 |
| 3. GENEL BİLGİLER | 5 |
| 3.1. MİDE | 5 |
| 3.1.1. Embriyonik Dönemde Mide | 6 |
| 3.1.2. Midenin Histolojik Özellikleri | 7 |
| 3.1.2.1. Mukoza | 7 |
| 3.1.2.2. Submukoza | 8 |
| 3.1.2.3. Muskularis eksterna | 8 |
| 3.1.2.4. Seroza | 8 |
| 3.1.3. Midedeki Hücre Tipleri | 9 |
| 3.1.4. Kardiak ve Pilorik Bölgenin Mukozasındaki Farklılıklar | 13 |
| 3.1.5. Midenin Damarları | 14 |
| 3.1.6. Sindirim Kanalının İnnervasyonu | 14 |
| 3.1.7. Midenin Salgı Fonksiyonu | 15 |
| 3.1.8. Gastrik Mukoza Bariyeri | 16 |
| 3.2. ALKOL | 17 |
| 3.3. MİDE ÜLSERİ | 18 |
| 3.4. ORGANİK SELENYUM BİLEŞİKLERİ VE EBSELEN | 20 |

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

| | |
|---|----|
| 3.4.1. Ebselenin GPx'a Benzer Aktivitesi | 21 |
| 3.4.2. Ebselenin Hidroperoksitlere Etkisi | 21 |
| 3.4.3. Ebselenin Lipid Peroksidasyonuna Etkisi ve Hücre Koruyucu Özelliği | 22 |
| 3.4.4. Ebselenin Organizmayı ONOO ⁻ 'e Karşı Koruması Karşı Koruması | 23 |
| 3.4.5. Çeşitli Enzimlerin İnhibitörü Olarak Ebselen | 24 |
| 3.5. FAMOTİDİN | 24 |
| 3.6. OKSİDATİF STRES ve HÜCRE HASARI | 24 |
| 3.6.1. Serbest Radikaller | 26 |
| 3.6.2. Lipid Peroksidasyonu | 28 |
| 3.7. ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMİ | 29 |
| 4. MATERYAL VE METOD | 34 |
| 4.1. MATERYAL | 34 |
| 4.2. DENEY GRUPLARININ HAZIRLANMASI | 34 |
| 4.3. HİSTOLOJİK DEĞERLENDİRMELER | 35 |
| 4.4. BİYOKİMYASAL ANALİZLER | 38 |
| 4.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER | 40 |
| 5. BULGULAR | 41 |
| 6. TARTIŞMA VE SONUÇ | 57 |
| KAYNAKLAR | 64 |
| ÖZGEÇMİŞ | 74 |

ÇİZELGELER DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Çizelge 3.1. Midedeki DNES hücreleri ve hormon salgıları | 13 |
| Çizelge 5.1. Makroskobik gastrik lezyon alanlarının karşılaştırılması | 44 |
| Çizelge 5.2. Mikroskobik gastrik lezyon alanlarının değerlendirilmesi | 55 |
| Çizelge 5.3. Biyokimyasal analizlerin sonuçları | 56 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Şekil 3.1. Etanolün oksidasyonu | 18 |
| Şekil 3.2. Ebselenin kimyasal yapısı | 21 |
| Şekil 3.3. Ebselenin hücre koruyucu özelliği | 23 |
| Şekil 3.4. Organizmadaki endojen antioksidan mekanizması | 31 |
| Şekil 3.5. GPx tarafından H ₂ O ₂ indirgenme reaksiyonu | 32 |
| Şekil 5.1. Kontrol grubu mide yüzeyi makroskobik görüntüsü | 45 |
| Şekil 5.2. Mide yüzeyi makroskobik görüntüsüne absolu alkolün etkisi | 45 |
| Şekil 5.3. Ebselen(30mg/kg)+alkol grubu mide makroskobik görünümü | 46 |
| Şekil 5.4. Famotidin(20mg/kg)+alkol grubu mide makroskobik görünümü | 46 |
| Şekil 5.5. Kontrol grubu mide mikroskobik görüntüsü, (40x) | 47 |
| Şekil 5.6. Absolu alkol grubu mide mikroskobik görüntüsü, (40x) | 47 |
| Şekil 5.7. Ebselen+alkol grubu mide mikroskobik görüntüsü, (40x) | 48 |
| Şekil 5.8. Famotidin+alkol grubu mide mikroskobik görüntüsü, (40x) | 48 |
| Şekil 5.9. Kontrol grubu mide mikroskobik görüntüsü, (100x) | 49 |
| Şekil 5.10. Absolu alkol grubu mide mikroskobik görüntüsü, (100x) | 49 |
| Şekil 5.11. Ebselen grubu mide mikroskobik görüntüsü, (100x) | 50 |
| Şekil 5.12. Famotidin grubu mide mikroskobik görüntüsü, (100x) | 50 |
| Şekil 5.13. Kontrol grubu mide mikroskobik görüntüsü, (200x) | 51 |
| Şekil 5.14. Absolu alkol grubu mide mikroskobik görüntüsü, (200x) | 51 |
| Şekil 5.15. Ebselen grubu mide mikroskobik görüntüsü, (200x) | 52 |
| Şekil 5.16. Famotidin grubu mide mikroskobik görüntüsü, (200x) | 52 |
| Şekil 5.17. Kontrol grubu mide mikroskobik görüntüsü, (400x) | 53 |
| Şekil 5.18. Absolu alkol grubu mide mikroskobik görüntüsü, (400x) | 53 |
| Şekil 5.19. Ebselen grubu mide mikroskobik görüntüsü, (400x) | 54 |
| Şekil 5.20. Famotidin grubu mide mikroskobik görüntüsü, (400x) | 54 |
| Şekil 5.21. Diskriminant analizi değerleri | 55 |

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|-------------------------------|---------------------------------|
| ATPaz | Adenozin trifosfataz |
| ROT | Reaktif Oksijen Türleri |
| CAT | Katalaz |
| CO ₂ | Karbondioksit |
| DNA | Deoksiribonükleik asit |
| DNES | Diffüz nöroendokrin sistem |
| EC | Enterokromafin |
| ECL | Enterokromafin benzeri |
| Fe ⁺³ | Ferro demir |
| Fe ⁺² | Ferrik demir |
| GPx | Glutasyon peroksidaz |
| GR | Glutasyon redüktaz |
| GSH | Glutasyon |
| GSSG | Glutasyonun yükseltgenmiş formu |
| H ⁺ | Hidrojen iyonu |
| HCl | Hidroklorik asit |
| HCO ₃ ⁻ | Bikarbonat anyonlarına |
| H ₂ O | Su |
| H ₂ O ₂ | Hidrojen peroksit |
| K ⁺ | Potasyum iyonu |
| MDA | Malondialdehid |
| Na ⁺ | Sodyum iyonu |
| NaCl | Sodyum klorür |
| NO | Nitrik oksit |
| ¹ O ₂ | Singlet oksijen |
| O ₂ ⁻ | Süperoksit anyon radikali |
| OH ⁻ | Hidroksil iyonu |
| ·OH | Hidroksil radikali |

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)

| | |
|-------------------|---------------------|
| ONOO ⁻ | Peroksinitrit |
| SOD | Süperoksit dismutaz |

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Etiyolojik faktörleri hala tartışmalı olan gastrik ülser, mukozaya saldıran etkenler ile koruyucu faktörler arasındaki dengesizlikten dolayı ortaya çıkmaktadır (1). Gastrik mukozayı hasara uğratan etkenler ve endojen koruyucu mekanizmalar arasındaki dengesizlik, akut inflamasyonlara neden olabilmektedir (2). Etanol, nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar, iskemi reperfüzyon ve stres ile deneysel olarak oluşturulan (3,4,5) ve çeşitli hastalıklarla insanlarda oluşan birçok nedenden dolayı hedef organda hücresel yapı ve fonksiyon ile ilgili aksaklıklar oluşmaktadır (6). Birçok hücresel mekanizmayı harekete geçiren ROT, özellikle etanol ile oluşan mide hasarında önemlidir (7,8). Etanol etkisiyle gastrik mukozada fonksiyonel olarak incelenen vasküler ve morfolojik bozukluklar oluşmaktadır (9,10,11). Etanol, gastrik mukozadan hızlı bir şekilde emilerek zarların hasarına, epitel altı kanama alanları, mukoza ödemi, hücresel ekfoliasyon ve inflamatuvar hücre infiltrasyonuna neden olmaktadır (11,12). ROT, bu tür inflamasyon durumlarında üretilmektedirler (13,14).

Normal şartlarda, organizmada ROT yapımı ve yıkımı arasında denge olduğundan dolayı oksidatif stres oluşmaz. Memelilerde oksijenden türevlenen bu türler, normal metabolik aktiviteler boyunca çeşitli uyarılarla üretilmektedir. Bunlar arasında süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($\cdot OH$) ve singlet oksijen (1O_2) bulunmaktadır ve en kuvvetli olan oksidan $\cdot OH$ 'dir. Membran lipidleri, serbest radikallerin hedefidir ve oksidasyon reaksiyonları ile lipid peroksil radikallerini daha sonra ise lipid hidroperoksitlerin yapımı sonucu lipid peroksidasyonunu oluşturmaktadır (15,16,17). Oksijenden türevlenen bu türlerin oluşumu ROT'nin ve lipid peroksidasyonunun artışıyla dolayısıyla dokularda hasara sebep olmaktadır (18).

Akut gastrik mukozal hasar nedeniyle gastrik mukoza bariyeri yıkılmaktadır. Oluşan gastrik ülser, endojen antioksidan enzimlerin inhibisyonu ile oksijenden türevlenen serbest radikallerin üretiminden kaynaklanmaktadır. Normal şartlar altında hücrelerdeki endojen antioksidan mekanizması, içerdikleri antioksidan enzimler olan süperoksit dismutaz (SOD), CAT, GPx ve enzimatik olmayan bileşenlerden olan vitamin E ve glutatyon (GSH) gibi antioksidan savunma sistemi elemanları sayesinde ROT'ni uzaklaştırarak dokuları korumaktadırlar (8,19,20). ROT seviyesi, bu türleri uzaklaştırıcı endojen antioksidan mekanizmaların azaldığı durumlarda artış göstermektedir. Bu durumda ortaya çıkan oksidatif stres, ROT uzaklaştırılması ve üretilmesi arasındaki dengesizliği ifade etmektedir. ROT'un artışı nükleik asitler, lipidler ve proteinler gibi önemli hücresel yapı ve bileşiklerin yıkımına sebep olduğundan dolayı önemlidir (21,22,23). Bu nedenle ROT, hücresel hasarın oluşmasında önemli role sahip olup oksidatif stres ile çeşitli hastalıklar ortaya çıkmaktadır (19).

Hücre dışında oluşturulan ROT artışı, gastrik mukoza hücreleri üzerinde direkt toksik olduğu in vitro (24) ve in vivo (25) çalışmalarla açıklanmıştır. Gastrik ülser tedavisi için yöntemlerden biri de; hücre koruyucu ajanların verilmesiyle gastrik mukozayı hasar oluşturan etkenlerden korumaktır. Bu amaca uygun olarak, bazı ajanlar mide içi asiditeyi düzenleyerek koruyucu etki göstermektedir (26,27). Farklı mekanizmalara sahip çeşitli ilaçlar gastrik mukozal bariyerin korunmasında önemli role sahiptir (28). Gastrik mukoza bariyeri, epitel hücrelerinin sıkı bağlantıları ve mukus tabakası ile gastrik mukozada hasara neden olabilecek hidrojen iyonlarına (H^+) ve çeşitli nekroz oluşturabilecek ajanlara karşı mideyi korumaktadır (29).

Oksidatif stresin neden olduğu birçok durumda kullanılabilir organik selenyum bileşiği olan ebselen (2- phenyl- 1,2-benzisoselenol- 3(2H)-one), oksidatif stresin neden olduğu hasarda koruyucu potansiyeli bulunan ilk bileşiktir (30). Ebselen, serbest tiol grupları (protein, non-protein) ile tepkimeye girdiğinden (GSH gibi) dolayı daha önem kazanmıştır (31,32). Ebselenin farmakolojik profili, onun antioksidan mekanizmasına dayanmaktadır ve ayrıca GPx'a benzer aktivitesinden

dolayı psödoenzimatik katalitik aktiviteye sahiptir. Ayrıca ebselen, serbest radikalleri çok fazla uzaklaştıramamakta ancak organik hidroperoksitleri özellikle lipid hidroperoksitleri etkili biçimde uzaklaştırabildiğinden dolayı antioksidan özelliğe sahiptir **(33,34)**. Ebselenin sıçanlarda aspirin ve su stresi ile oluşturulmuş deneysel gastrik ülserle karşı koruyucu etkisi incelenmiştir **(35,36)**. Non-protein sülfidrilin, özellikle GSH'un, organlardaki konsantrasyonları yüksektir ve yüksek derecede serbest radikallerin reaksiyonlarına maruz kalmaktadırlar. GSH, hücrel oksidatif savunmada önemli role sahiptir ve oksidanların dengesini sağlamak amacıyla onların indirgenmelerini gerçekleştirmektedir **(37,38)**. Nitrik oksit (NO), O_2^- ile reaksiyona girdiğinde oluşan peroksinitrit ($ONOO^-$), çeşitli toksik etkilere sahiptir **(39,40)**.

Gastrik mukozanın anatomik ve fonksiyonel bütünlüğünün korunmasındaki nedenlerden biri de; savunma mekanizması ve agresif faktör arasındaki dengeye bağlıdır. Denge bozulduğunda ise farmakolojik tedavi ile veya geliştirilen mukozayı koruyucu faktörlerle, ülseratif lezyonlar bir dereceye kadar önlenmektedir. Gastrik mukozal hasar durumunda oluşan bölgeyi bir dereceye kadar koruyan ilaçlar, mide asidinin salınımını inhibe etmesi nedeniyle gastroprotektif özellik göstermektedir **(41,42)**. Bu çalışmada, absolu alkolün neden olduğu akut gastrik mukozal hasar üzerine ebselenin ve referans ilaç olarak seçilen H_2 reseptör antagonisti olan famotidin koruyucu etkileri karşılaştırıldı. Bu çalışmada geliştirilen deneysel modelin amacı, absolu alkol ile oluşturulan akut mide hasarını gözlemlemek ve biyokimyasal analizlerle araştırmak, ebselenin gastrik mukozayı koruyucu etkisini incelemektir.

Başlangıçta oluşan biyokimyasal değişiklikleri inhibe etmek ve gastrik mukozayı absolu etanolün zararlı etkilerine **(8)** karşı korumak amacıyla, antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklerinden dolayı sıçanlara ebselen verilmiştir **(30,34)**. Aynı zamanda GPx, hücrel korumada önemli role sahiptir. Ebselenin, GPx'a benzer katalitik aktivitesi ve gastrik mukozanın bütünlüğünü sağlayan GSH ile tepkimeye girmesi **(31,32)** göz önünde bulundurularak, ebselen bu çalışmada gastrik mukozayı koruyucu kimyasal ajan olarak kullanılmıştır.

BÖLÜM 2

AMAÇ

Bu çalışmada; antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklere sahip ebselenin akut gastrik mukoza hasarı üzerine etkilerinin histolojik ve biyokimyasal yönlerden incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla absolu alkol ile deneysel olarak akut mide hasarı oluşturulmuştur. Ayrıca ebselenin gastrik dokuyu koruyucu etkisini karşılaştırmak amacıyla mide ülserlerinde yaygın olarak kullanılan famotidin verilmiştir.

BÖLÜM 3

GENEL BİLGİLER

3.1. MİDE

Sindirim kanalı, ağız boşluğu ile devam eden sindirim sisteminin boru şeklindeki parçasıdır. Morfolojik olarak tanınabilir bölgelere ayrılmıştır; özofagus, mide, ince barsak (duodenum, jejunum, ileum) ve kalın barsak (çekum, kolon, rektum, anal kanal). Sindirim sisteminin fonksiyonu, vücudun büyüme ve enerji ihtiyaçları için gerekli metabolitleri sindirilmiş besinlerden sağlamaktır. Besinler sindirilir ve küçük moleküller halinde sindirim kanalı boyunca kolayca absorbe edilebilecek şekilde taşınır, ancak yine de vücudun iç ortamı ile çevresi arasındaki bariyer devam etmektedir. Gastrointestinal kanal ortak yapısal özelliklere sahip olup ortasında değişen çaplarda lümen içeren organlar konsantrik yerleşimli mukoza, submukoza, muskularis eksterna ve seroza/adventisya katlarını içermektedir (43).

Sindirim kanalının en gelişmiş segmenti olan mide, yiyecekleri sindiren ve hormon salgılayan hem ekzokrin hem de endokrin bir organdır. Ağızda başlayan karbonhidrat sindirimini devam ettirmek, sindirilmiş besinlere asidik bir sıvı ekleyerek bunları visköz bir kitle (kimus) haline dönüştürmek, pepsin enzimi ile protein sindirimini başlatmak midenin temel fonksiyonlarından (44). Ayrıca onların sindirimine hidroklorik asit (HCl), renin ve gastrik lipaz enzimleri ile parakrin hormonların üretimi yoluyla devam edilmektedir. Mide dıştan anatomik olarak incelendiğinde konkav olan küçük kurvatur ve konveks olan büyük kurvatur sahiptir. Bunların dışında makroskobik olarak incelendiğinde, dört bölge bulunmaktadır (43). Gastroözofageal birleşim yerindeki dar bölge olan kardial, kardial ağzı çevrelemektedir. Diğer bölge olan fundusun genişlemiş superior kısmı, diaframın sol kubbesinin hemen altındadır. Inferior kısmı ise kardial ağzının yatay düzlemi ile sınırlıdır. Fundusun superior bölümü sıklıkla

beşinci interkostal boşluğa bakmaktadır. Fundus, gaz, sıvı veya besin ile genişleyebilmektedir (45). Kimus oluşumundan sorumlu olan korpus (gövde), en büyük kısımdır. Pilorik bölge ve fundus arasında uzanmaktadır (43). Antrum kısmını içeren pilorik bölge ise midenin huni şeklindeki bölgesidir. Genişlemiş kısım olan pilorik antrum, daralarak pilorik kanal ile devam etmektedir (45). Ancak mide histolojik yönden incelendiğinde fundusun ve korpusun yapısı birbirinin benzeri olarak incelendiğinden üç farklı bölge ayırt edilmektedir (43). Pylorus kalınlaşarak mide içeriğinin pilorik delikten duodenuma geçişini kontrol eden pilorik sfinkteri oluşturmaktadır (45).

3.1.1. Embriyonik Dönemde Mide

Mide ilk olarak basit tübüler bir yapı şeklinde gözlenmektedir ve ön barsağın distal kısmından gelişim göstermektedir. Ancak ön barsakta 4. hafta sonlarında orta kesimde genişleme olmaktadır ve midenin geliyeceği bölge, dönüş alanı büyüdükçe genişlemeye devam etmektedir. Ancak dorsal kısım ventral kısımdan daha hızlı gelişmektedir. 7. veya 8. haftalarda, mide kraniokaudal eksenini boyunca dönüş yapmaktadır ve midenin ventral kısmı sağa, dorsal kısmı sol tarafa doğru yer değiştirirken sırasıyla küçük ve büyük kurvatur oluşmaktadır. Bu rotasyonun dorsal mezogastriumun çekme hareketine bağlı olduğu düşünülmektedir. Bu dönme hareketi süresince önceleri medyan ekseninde yerleşik olan midenin kranial ve kaudal uçları da yer değiştirmektedir ve kranial kısım sola ve hafifçe aşağıya doğru hareket ederken kaudal kısmı sağa ve yukarı doğru yön değiştirir. Rotasyon sonrasında midenin eksenini vücudun uzun eksenine yaklaşık transvers olacak şekilde bir yerleşim gösterir ve sol nervus vagus midenin ön duvarını innerve ederken sağ nervus vagus midenin arka duvarını innerve etmeye başlar (46,47,48). 8. ve 9. haftalarda mukozanın ve submukozanın gelişimi olmaktadır. Diğer gastrointestinal sistem organlarının aksine herhangi bir vilus oluşumu görülmez ancak gastrik girinti adı verilen yapılar oluşmaktadır. 10. haftada parietal hücreler pilor ve kardiada ortaya çıkar. Asit salgısı, 32. haftada başlar. Bununla birlikte intrinsik faktör, 11. haftadan sonra ortaya çıkmaktadır. Esas hücreler ise 12-13. haftalarda ortaya çıkar ancak pepsinojen içermezler (46).

3.1.2. Midenin Histolojik Özellikleri

Boş midenin mukozası ve submukozası rugra denilen makroskopik incelenebilen longitudinal katlantılara sahiptir. Rugra sayesinde midenin besin alma yüzeyi genişletilmiş olur. Mide besinle dolu olduğu zaman bu katlantılar yassılaşımaktadır (49). Besin maddeleri fundus ve korpus bölgesine yerleştiği için rugra daha belirgin olup en büyük genişlemeyi göstermektedir. Antrum kısmının mukozası daha düz olduğundan diğer kısımlardan makroskopik olarak ayrılabilir ve ayrıca bu bölgenin mukozası, submukozaya daha sıkı bağlıdır. Mide, sindirim kanalının tipik doku katlarını yapısında bulundurmaktadır. Ancak sindirim kanalında bulunan organlarda duvar yapısını oluşturan dokuların özellikleri, tipleri ve kalınlıkları, organın fonksiyonuna ve anatomik olarak bulunduğu bölgeye göre farklılık göstermektedir (44).

3.1.2.1. Mukoza

Mide, kardial, fundus, pilorik bölgede farklı özellikler gösteren mukozaya sahiptir. Gastrik mukoza yüzey epiteli ile sarılmıştır. Bu hücreler, gastrik çukurcukları (gastrik pit) oluşturmaktadır. Ancak midenin her bölgesi için değişen tipte dallanmış tübüler bezler, lamina propria içlerine uzanmaktadır. Bu bezler, gastrik pitlere açılmaktadır (44). Midenin yüzeyini ve gastrik çukurcukları (foveolaları) örten hücreler, tek katlı prizmatik olup epitelyal mukus hücreleri olarak adlandırılmaktadır. Midenin epitelyal örtüsü altında bulunan, yapısında bezlerin ve foveolaların bulunduğu gevşek bağ dokusu katı olan lamina propria, kan ve lenf damarları yönünden zengin bir yapı göstermektedir. Ayrıca bu kat çok sayıda plazma hücresi, lenfosit, mast hücreleri, fibroblast içermektedir (49). Lamina propriadaki lenfoid nodüller, epitel ile birlikte organizmayı bakteriyel invazyondan korumaktadır. Ağız boşluğu, özofagus ve anal kanal hariç tüm sindirim borusunun tek katlı, ince zedelenebilir özellikte bir epitel yapısına sahip olmasından dolayı immunolojik desteğe ihtiyaç duyulmaktadır (44).

Mukozadaki bağ dokusunu örten içte sirküler, dışta longitudinal düz kas hücrelerinden oluşan muskularis mukoza bulunmaktadır (43,49).

3.1.2.2. Submukoza

Mukozanın altında düzensiz fibroelastik bağ dokusu yapısında submukoza tabakası bulunmaktadır. Submukoza bez içermemektedir. Kan ve lenf damarları dokuyu bakterial invazyondan korumaktadır. Enterik sinir sisteminin bileşeni olan, yapısında postganglionik parasempatik sinir hücre gövdeleri olan submukozal Meissner's sinir pleksusunu içermektedir (43).

3.1.2.3. Muskularis eksterna

Muskularis eksterna, submukoza tabakasını saran peristaltik aktiviteden sorumlu olan kalın kas tabakasıdır. Özofagus hariç içte sirküler, dışta longitudinal düz kas tabakası içeren bu kas tabakası midede farklılık göstermektedir. Bu tabakadaki mide kas katları, sindirim kanalından farklı olarak en içte oblik yerleşimli düz kas tabakası içermektedir. Pilorda sirküler düzenlenmiş düz kas tabakası pilorik sfinkteri oluşturduğundan çok kalındır. Enterik sinir sisteminin ikinci elemanı olan myenterik Auerbach's sinir pleksusu, yapısında postganglionik parasempatik sinir hücre gövdelerini bulundurmaktadır (43,49).

3.1.2.4. Seroza

Mide ince, gevşek, subseröz bağ dokusu ile kaplıdır. Seroza adı verilen bu kat kan ve lenf damarları ve yağ dokusu bakımından zengindir. Tek katlı yassı epitel olan mezotelyum ile örtülüdür. (43,44).

3.1.3. Midedeki Hücre Tipleri

Midede birbirini takip eden kardial, fundus ve pilor bölgeleri arasındaki mukoza tabakasında farklılıklar bulunmaktadır. Diğer anatomik bölgeler, fundus bölgesinin varyasyonu şeklinde olup, lamina propriası dallanmış, tübüler yapıda fundus bezleriyle doludur (43,44). Fundik mukozadaki gastrik pitler mukozal kalınlığın yaklaşık ¼'i kadardır. Kardial ve pilorik mukozanın aksine bezler sıkı paketlenmiş, düz bir yapıya sahiptir. Her gastrik bez, gastrik pitlerin tabanından

muskularis mukozaya kadar uzanmaktadır. Mukozanın mikroskopik longitudinal kesitlerinde, yüzey epitel hücrelerinden muskularis mukozaya kadar olan kısım istmus, boyun, bazal bölge olarak ayrılmıştır. Basit kübik epitel içeren fundik bez altı tip hücre içermektedir. Mide mukozasında farklı seviyelerde farklı hücre tipleri bulunmaktadır ve hücrelerin yoğunluğu histolojik bölgelere göre değişim göstermektedir. Bu hücreler; yüzey mukus hücreleri, parietal (oksintik) hücreler, farklılaşmamış hücreler, mukus boyun hücreleri, esas (zimojenik) hücreler, diffüz nöroendokrin sistem (DNES) hücreleri (enteroendokrin hücreler) şeklinde sınıflandırılır (43).

Yüzey mukus hücreleri:

İstmus bölgesinde bulunan prizmatik şekilli epitel hücreleridir (43). Bu hücreler, musin salgılayarak bir tabaka oluştururlar. Musin hücreleri mide tarafından salgılanan kuvvetli asidin etkisinden korumaktadır (44). Bu yüzey epitel hücreleri midenin mukozal zonu boyunca aynıdır. Elektron mikroskopik incelemelerde yüzey mukus hücrelerinin apikal yüzlerinde, kısa, ince sitoplazmik uzantıları örten glikokaliks bulunmaktadır. Yüzey epitel hücreleri, bazale yerleşmiş hücre çekirdeğine ve apikalde salgı granülleri içeren sitoplazmaya sahiptirler. Homojen olan bu granüller, gastrik bariyeri oluşturan mukus salgısının öncüleridir. Hücreler, yan yüzlerindeki zonula okludens ve zonula adherens tipindeki bağlantı kompleksleriyle birbirlerine tutunmaktadırlar (43). Bu hücreler, hematoksilen-eozin boyamasında bazalde yoğun, koyu görünüm veren bir çekirdeğe sahiptir. Sitoplazma ise açık boyanmaktadır. Ancak hematoksilen-eozin ile boyanmış olan kesitlerde kullanılan eozin, alkol bazlı olmayıp su bazlı olduğu takdirde sitoplazma yoğun eozinifilik boyanarak çok sayıda, küçük, birbirine yakın vakuoller şeklinde görülmektedir. Histokimyasal olarak mukus nötraldir. Periodic acid schiff boyaması ile pozitif, fakat Alcian blue pH 2,5 ile negatif reaksiyon vermektedir (50).

Mukus boyun hücreleri:

Kimus, bu hücrelerin eriyebilir mukus salgısı sayesinde kayganlaştırılarak sindirim yolundaki hareketini kolaylaştırmış olur. Hücreler prizmatik şekillidir.

Elektron mikroskopik gözlemlerde, mukus boyun hücrelerinin, kısa mikrovillusa, bazale yerleşmiş çekirdeğe, iyi gelişmiş golgi kompleksine ve granüler endoplazmik retikulumuna sahip olduğu gözlenmektedir. Mitokondri, hücrenin bazaline yerleşmiştir (43). Sitoplazma, elektron yoğun granüller ile doludur (49). Bu granüller salgı üretirler ancak yüzey epitel hücrelerinden farklı olarak bu salgı eriyebilir ve gastrik içeriği kayganlaştırıcı özelliindedir. Yan zar bağlantıları zonula okludens ve zonula adherens şeklindedir (43). Mukus boyun hücreleri gastrik bezlerin boyun kısmında bulunmasının yanında, istmusta çok az sayıda bulunmaktadır. Hematoksilen-eozin boyamasıyla soluk boyanan sitoplazmaları vardır. Periodic acid schiff boyaması uygulandığında pozitif reaksiyon vermektedir. Nötral ve asidik musin salgıladıklarından Alcian blue pH 2,5 ile pozitif boyanmaktadırlar (51).

Farklaşmamış hücreler:

Prizmatik şekilli olan bu hücreler, bol miktarda ribozoma sahiptir. Bu durum genç hücrelerin özelliği olduğundan, bu hücreler yüksek mitotik aktiviteye sahiptirler. Hücrenin çekirdeği, bazale yerleşmiştir. Her 5-7 günde, yüzey mukus hücreleri, mukus boyun hücreleri, DNES hücreleri, parietal ve esas hücrelerin yenilenmesini sağlamaktadır (43,44).

Parietal (oksintik) hücreler:

Parietal hücreler prizmatik veya yuvarlak olan şekilleriyle gastrik bezlerin üst yarısında bulunmaktadırlar, tabanında çok seyrekler. Hücrenin çekirdeği ortada ve yuvarlaktır. Sitoplazmaları eozinofiliktir (44). Hücrelerin bazal bölümü geniş bir taban şeklindedir ve apikale doğru daralmaktadır. Elektron mikroskobu ile incelendiğinde en belirgin özelliği, apikal plazma membranının derin hücre içi kanaliküllere sahip olmasıdır (43). Bu kanalcıklar sistemi çekirdeğin çevresini kaplar ve apikalde kendini oluşturan hücre zarıyla birleşerek bezin lümenine açılırlar. Bu kanaliküler yapı ile bağlantılı tübüller ve veziküllerden oluşan tübüloveziküler sistem olarak adlandırılan yapılar bulunmaktadır. Apikalde hücreler mikrovillus yapısına sahiptir (49). Çok iyi gelişmiş mitokodriye sahip olduklarından metabolik olaylarda yüksek enerji tüketimi olmaktadır. Parietal

hücreler gastrik sıvıda bulunan HCl sentezini yaparlar. Hücrenin HCl salgılama aktivitesi mikrovillusların sayısı ve tübuloveziküler sistemdeki veziküllerin bolluğu ile dolaylı olarak ilgilidir (43). Hücre HCl salgısı için uyarıldığında, tubuloveziküller hücre zarı ile kaynaşarak daha fazla mikrovillus oluşmaktadır. Böylece hücre zarı yüzeyinde 4-5 kat artış sağlanmış olur (43,49). Hücreler dinlenme fazında moleküler, salgılama esnasında polimerize olan aktin ve miyozin filamentleri içermektedir. Bu yapılar tubuloveziküllerin salgılama fazında birleşmesinde etkilidir. Hücrenin zarında yüksek oranda H⁺, potasyum iyonu (K⁺), adenzin trifosfaz (ATPaz) (sitoplazmadan hücre içi kanalcıklara protonları pompalayan protein) içermektedir (43). Ayrıca parietal hücrelerdeki golgi kompleksi ve granüler endoplazmik retikulumu B₁₂ vitamininin absorpsiyonu için gerekli glikoprotein olan gastrik intrinsik faktörün sentezini gerçekleştirmektedir. B₁₂ vitamini mide lümeninde intrinsik faktöre bağlanır. Hayvanlarda intrinsik faktör emilimin olduğu başka yapılarda bulunmaktadır (49).

Esas (Zimojenik) hücreler:

Gastrik bezlerdeki esas hücrelerin çoğu bazalde yer almaktadır. Şekilleri prizmatik olan bu hücrelerin bazofilik sitoplazmaları ve hücrenin bazaline yerleşmiş çekirdekleri vardır. Elektron mikroskopik olarak incelendiğinde, sitoplazmada çok sayıda granüler endoplazmik retikulum, golgi kompleksi, lizozom ve hücrenin salgı aktivitesine göre değişen salgı granülleri gözlenmektedir. Salgı yapan bu granüllerin salgısı, proenzim olan pepsinojen, renin ve gastrik lipazdır. Hücrenin apikal yüzünde kısa mikrovilus ve bunları saran ince glikokaliks yapısı gözlenmektedir. Esas hücrelerden pepsinojen salgılanması, nöronal ve hormonal uyarı ile olmaktadır. Nöronal uyarı yoluyla pepsinojen salgılanması temelde vagus sinirinin yardımıyla gerçekleşmektedir. Esas hücrelerin bazal hücre zarındaki reseptörlerin, sekretini bağlamasıyla tetiklenen ikincil uyarı pepsinojen salgılanmasını sağlamaktadır (43). İnaktif olan pepsinojen, mide asidinin etkisiyle proteolitik bir enzim olan pepsine dönüşmektedir (44).

DNES hücreleri:

Gastrik mukozadaki epitel hücreleri arasında bir grup hücre bazı özelliklerinden dolayı farklı isimler almıştır. Bu hücreler gümüş tuzları ile boyandıklarından argentaffin ve arginofil hücreler, enterik kanalda yerleşip, hormon benzeri madde salgıladıklarından enteroendokrin hücreler, nörosekresyon yaptıklarından DNES hücreleri olarak adlandırılmaktadır (43,44). Mide mukozasında epitel hücreleri arasında, apikal yüzleri bazen lümeneye uzanan hücrelerin biçimleri ve granül özellikleri bazı farklılıklar göstermektedir. Elektron mikroskopik incelemelerde hücre biçimleri, prizmatik veya oval olarak izlenebilmektedir. Hücre çekirdeği yuvarlak ve kromatinden yoksundur. Hematoksilen-eozin boyaması uygulandığında, sitoplazma granüllerden dolayı açık gözlenmektedir. Hücrede iyi gelişmiş granüler endoplazmik retikulum, golgi kompleksi ve çok sayıda mitokondri bulunmaktadır (49). Bazal laminaya oturan bu hücrelerin iki tipi vardır. Açık tipte hücrenin apeksinde mikrovilluslar vardır ve bu hücreler organın lümeniyle temas halindedir. Kapalı tip hücrenin ise apeksi diğer epitel hücreleri ile örtülüdür (44). Bütün DNES hücrelerinin salgı materyali bazal lamina yoluyla lamina propriaya geçmektedir. Hücrelerin salgıladığı madde yakın etkili olabilmektedir ve sinyal hedefe (parakrin salgı) bu ortamda ulaşmaktadır veya hedef hücreye kan damarlarıyla (endokrin salgı) ulaşabilmektedir. Bu tip hücrelerin bazı salgı maddeleri sinir sisteminde nörosekresyon şeklinde salgılanarak (nörokrin salgı) hedef yapıya ulaşmaktadır. Midedeki DNES hücreleri Çizelge 3.1.'de gösterilmiştir (43). Bu salgılar alınan gıdaların sindirim kanalı boyunca sindirilmesi, absorbe edilmesi ve vücuttan atılmasındaki işlevlerin uyumlu biçimde oluşmasını sağlamaktadır (49).

Mide çok yüksek miktarda hormon üreten hücreler içermektedir. Antrumda endokrin hücre popülasyonunun yaklaşık % 50 kadarı G hücreleridir ve bu hücreler gastrin, % 30'u olan enterokromafin (EC) hücreler, serotonin ve %15 kadarını oluşturan D hücreleri, somatostatin üretmektedir. Fundus bölgesinin mukozasında endokrin hücrelerin büyük bir kısmını enterokromafin benzeri (ECL) hücreler oluşturmaktadır ve bunlar histamin salgılamaktadırlar. Ayrıca bu bölgede EC hücreleri vardır (52).

Çizelge 3.1. Midedeki DNES hücreleri ve hormon salgıları (43).

| Hücre Tipi | Üretilen Hormon | Hormonun Etkisi |
|------------|---------------------------------|---|
| A | Glukagon | Glikoneojezi uyarmak. |
| GL | Glisentin | |
| D | Somatostatin | DNES hücrelerindeki hormon salınımını durdurmak. |
| G | Gastrin | Gastrik asit salgısının üretilmesini ve mide hareketi sağlamak. |
| EC | Serotonin substans P | Peristaltik hareketi sağlamak. |
| ECL | Histamin | HCl salgılanmasını başlatmak. |
| D1 | Vazoaktif intestinal polipeptit | Su ve iyon salgılanmasını arttırmak. |

3.1.4. Kardiak ve Pilorik Bölgenin Mukozasındaki Farklılıklar

Kardiak ve pilorik mukozadaki foveolalar, gastrik mukozadakinin aksine mukoza kalınlığının yaklaşık yarısı kadardır. Kardiak zondaki mukus salgılayan dallanmış tubuler bezler lamina propria da bulunmaktadır. Kardiak bezler olarak adlandırılan bu bezlerin son kısımları genellikle kıvrımlıdır. Ayrıca mukus bezleri hücre sınırları belli olmayan yapıları ve kabarcıklı görünen sitoplazmaları ile gastrik pitlerden ve yüzey epitelinden ayrılmaktadır. Bu bezler, duodenumdaki Brunner bezlerine benzetilmektedir. Salgı yapan hücrelerin büyük bir kısmı mukus ve lizozim salgılamaktadır. Az miktarda parietal hücre bulunabilmektedir (53). Pilorik bölgenin hücre tipleri, kardiak bölgesindeki hücre tipleri ile aynıdır, fakat bu bölgede baskın hücre tipi olarak mukus boyun hücreleri bulunmaktadır (43). Ayrıca G ve D hücreleri görülmektedir (44).

3.1.5. Midenin Damarları

Mide, arterleri bakımından zengin bir yapı göstermektedir (45). Sol gastrik arter, karın boşluğu ekseninden çıkarak küçük omentum yoluyla kardiak bölgeye ulaşarak bu bölgenin ihtiyacını karşılamaktadır (54). Hepatik arterden çıkan, sağ gastrik arter ve sağ gastro-omenta (gastroepiploik) arter sırasıyla küçük kurvaturun ve büyük kurvaturun kan ihtiyacını karşılamaktadır. Büyük kurvaturun kanını sağlayan sol gastro-omenta arter ve kısa gastrik arterler, splenik arterlerden çıkmaktadırlar (54). Bu gastrik arterler: A.gastrica sinistra, a.gastrica

dextra, a.gastromentalis dextra, a.gastromentalis sinistra ve a.gastricae breves'tir. Venleri, arterleri takip ederler ve aynı isimleri alırlar. Bunlar portal sisteme açılırlar. Gastro-özofageal bileşkedeki anastomozlar önemli porto-kaval anastomozlardır (55).

3.1.6. Sindirim Kanalının İnnervasyonu

Sindirim kanalının innervasyonu, enterik sinir sistemi ve parasempatik ve sempatik sistem elemanlarından oluşmaktadır. Özafagustan anüse kadar olan kısım kendi sinir sistemine sahiptir. Salgı ve hareket fonksiyonlarını kontrol eden enterik sinir sistemi; enterik sinir sistemi nöronları, myenterik (Auerbach) sinir pleksusundaki ve submukozal sinir pleksusu sinir hücre gövdeleri ile ilgili sinir liflerinden oluşmaktadır. Sindirim kanalının peristaltik hareketi myenterik sinir pleksusu tarafından kontrol edilmektedir. Submukozal (Meissner) sinir pleksusu, mukozal bezlerin salgı fonksiyonunu, mukozal hareketi ve gastrik kan seviyelerini düzenlemektedir (43).

Midede besinlerin kimus haline getirilmesi, depo edilmesi, işlenmek üzere duodenuma iletilmesi ve pilorik sfinkterin anlık gevşemesi ile mideden ince barsaklara iletilmesi, midenin motor fonksiyonlarını oluşturmaktadır. Mideye besin maddesi girdiği zaman mideden beyin sapına giden ve mideye tekrar geri dönen 'vagoagal refleksi', mide gövdesinin kas çeperindeki gerilimi azaltmaktadır. Bu sayede çeper esneyerek belli miktarda besini depolayabilmektedir. Myenterik ve submukozal pleksuslarının nöronları sayesinde lümen içi basınç sabit kalmaktadır (43,56). Kimus, antruma doğru ilerler ve buraya doğru, kontraksiyonu sağlayan dalgalar hızlanmaktadır. Bu dalgalar pilora ulaştığında pilor kasılarak besin içeriğini geriye doğru püskürtür ve duodenuma fazla boşalmasını engeller. Bu olay, midede 'retropulsiyon' denilen karıştırma mekanizmasını oluşturmaktadır (56). Midenin şişmesinin derecesi ve pilorik bölgedeki kas katındaki kasılmayı ve pilorik sfinkterdeki gevşemeyi uyaran hormon olan gastrin, midenin boşalmasını sağlayan faktörler arasındadır. Parasempatik lifler, postganlionik sinir hücre gövdeleriyle, enterik sinir

sistemindeki pleksusların sinir hücre gövdeleriyle sinaps yapmaktadır. Parasempatik innervasyon splanjik sinirlerden köken almaktadır. Sempatik lifler vazomotor olduklarından sindirim kanalındaki kan seviyesini kontrol etmektedirler. Genel olarak parasempatik elemanlar, peristaltik hareketleri uyarmaktadır. Ayrıca sfinkter kaslarının çalışmasını engellemektedir ve salgı aktivitesini harekete geçirmektedir. Sempatik elemanlar ise; peristaltik hareketleri durdurmaktadır ve sfinkter kaslarının aktivasyonunu sağlamaktadır (43).

3.1.7. Midenin salgı fonksiyonu

Midedeki hücreler ve bezler tarafından üretilen salgılar, organın lümenine verilirler. Midede gastrik bezlerden HCl, gastrik intrinsik faktör, pepsinojen, renin, gastrik lipaz ve mukus salgılanmaktadır. Pilorik bezlerden ise gastrin, mukus ve az miktarda pepsinojen salınmaktadır. HCl üretimi farklı uyarılarla sağlanmaktadır. Psikolojik şartlara göre değişen HCl salgılanması asetilkolin salgılanmasına bağlı olarak değişmektedir (43). Besin mideye girdiğinde oluşan gastrin, histamin ve asetilkolin salgılanması gastrik HCl salınmasını sağlamaktadır (43,56).

Gastrik HCl salgılanmasının mekanizması:

Parietal hücreler uyarıldıklarında karbonik anhidrazın etkisiyle karbonik asit oluşarak H^+ ve bikarbonat anyonlarına (HCO_3^-) ayrışır. H^+/K^+ , ATPaz sayesinde H^+ hücre içi kanaliküllere ve hücre dışındaki K^+ hücreye transfer edilmektedir. Bunun yanında sodyum iyonları (Na^+), sodyum pompası ile aktif olarak hücreler tarafından reabsorbe olmaktadır. Na^+ ve K^+ 'nın büyük bir kısmı hücreye pompalanmaktadır ve H^+ bunların yerini alarak kanaliküllerin lümeninde klor iyonu (Cl^-) ile HCl oluştururlar. Somatostatin, prostoglandin ve gastrik inhibitör peptitler, HCl salgılanmasını durdururlar (43). Pepsinojen, ancak HCl ile temas geçtiğinde aktif proteolitik bir enzim olan pepsini oluşturmaktadır. Pepsin, yüksek asidik ortamda aktiftir (56).

3.1.8. Gastrik Mukoza Bariyeri

Gastrik mukozanın yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünün korunması, mukus ve HCO_3^- salgısı sayesinde olmaktadır. Bu sayede midenin salgıladığı asit ve pepsin gibi kuvvetli asitler nedeniyle dokunun kendi kendini sindirmesi engellenmektedir (57,58). Yüzey epitel hücreleri, gastrointestinal mukozanın korunmasında önemli olan fizyolojik ve mekanik bariyer oluşturan musini üretmektedir (59).

Gastrik mukoza, bariyer oluşturarak asit dengesini korumaktadır. Musin, mukusun önemli bir parçasını oluşturur ve mukoza hasarı durumunda ilk adımda koruyucu olarak ortaya çıkmaktadır (60). Ayrıca musinin OH toplayıcısı olduğu bilinmektedir (61). Mukus ile epitel hücrelerinin sıkı bağlantıları, iyonların geçişine olanak vermemektedir. Böylece dokuda yapısal bütünlük sağlanmış olur (43).

Mukus boyun hücreleri tarafından salgılanan HCO_3^- , midenin asit içeriğinden dokuyu korumaktadır (43). HCO_3^- salgısının devamlılığı, mide ve duodenumda mukus salgısının artışı ile oluşan gastrik mukozal bütünlüğü, endojen prostoglandinler sağlamaktadır (26,62).

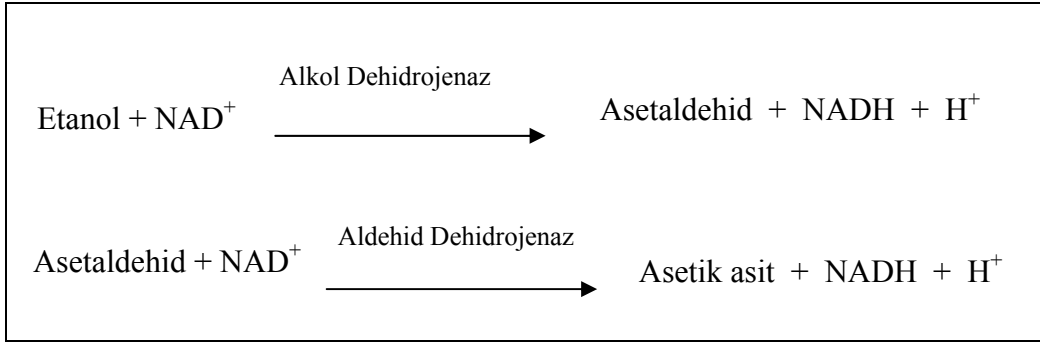
3.2. ALKOL

Toplum yaşantısında, toplumsal iletişimi arttırmak amacıyla sıklıkla kullanılan alkol çağımızın en önemli sağlık sorunlarından birini oluşturmaktadır. Bireyin beden ve ruh sağlığı, aile, toplumsal ve iş yaşamını tehlikeye düşürmektedir. Alkol, trafik kazaları, suça yönelme gibi toplumsal zararlara da neden olmaktadır. Alkol zehirlenmesi, alkol alımı sırasında ortaya çıkan ve akut rahatsızlıklara neden olan bir durumdur. Kan alkol düzeyi arttıkça zehirlenme belirtileri de artarak, solunumda baskılanma ve kusmaya bağlı aspirasyon, koma ve ölüm ile sonuçlanabilmektedir (63).

Alkol, organik bir bileşik olup doymuş karbon atomlarına bağlı hidroksil gruplarından meydana gelmektedir. Alkollü içeceklerde etil alkol (etanol) bulunmaktadır ve kimyasal yapısı $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$ olarak simgelenmiştir **(64)**. 19. yüzyıldan beri alkolün gastrik mukozada akut gastrik hasar oluşturduğu araştırılmaktadır **(63)**.

Etanolden türevlenen ve çeşitli hücre yapılarına zarar veren serbest radikallerin, ROT üretimini tetiklediği düşünülmektedir. Deneysel olarak verilen alkol, dokuda oksidan/antioksidan dengesini bozmaktadır. Alkolün etkisiyle oksidanların artışı araştırılmıştır **(65,66)**. Oral yolla alınan etanol, başka bir ürüne dönüştürülmeden gastrointestinal sistemden absorbe edilmektedir. Genel olarak etanol, karaciğerde metabolize edilmesine rağmen öncelikle mide olmak üzere beyin, cerebellum, retina, kalp ve böbrek gibi dokularda okside edilmektedir. Büyük bir bölümü karaciğerde ve az bir bölümü bazı organlarda okside edilen etanolün geriye kalan çok küçük bir kısmı ise değişikliğe uğramadan solunum, ter ve idrarla vücut dışına atılabilmektedir **(67)**.

Alkol, öncelikle asetaldehite oksitlenmektedir. Bu olay alkol konsantrasyonundan bağımsız olarak gerçekleşmektedir. Alkol alındığında alkol dehidrogenaz sayesinde metabolize olmaktadır. Alkol metabolizması, alkol dehidrogenazın enzimatik aktivitesiyle, artan NADH-NAD oranına bağlıdır **(64)**. Asetaldehitin aşırı sentezi ve NADH/NAD⁺ dengesinin bozulması, alkolün en önemli metabolik etkileri arasında yer almaktadır. Etanolün oksidasyonu Şekil 3.1.'de gösterilmiştir **(67)**. Etanolün oksidasyonu, asetaldehidin asetik aside dönüşümü ile devam etmektedir. Bu dönüşümü mitokondriyal enzim olan, aldehid dehidrojenaz kataliz eder. Bu basamaktaki dönüşüm hızı, ilkinden daha fazladır. Alkol alındıktan sonra asetaldehitte birikim olmamaktadır. Asetik asidin bir kısmı metabolize edilerek karbondioksit (CO_2) ve suya (H_2O) dönüşmektedir. Asetik asitin büyük kısmınının metabolize olmasını sağlayan enzim aldehid dehidrojenazdır **(64)**.



Şekil 3.1. Etanolün oksidasyonu (67)

3.3. MİDE ÜLSERİ

Etanol ve nonsteroidal anti-inflamatuar ilaçlar (3), stres (5), iskemi reperfüzyon (4), travma, sepsis, hemorajik şok, yanıklar, pulmoner ve karaciğer hastalıkları (6) gibi nedenlerden dolayı oluşan peptik ülser, endojen antioksidan mekanizmasının inhibisyonuna sebep olmaktadır.

Etanol, asit, aspirin gibi kimyasal ajanlar nedeniyle gastrik mukoza bariyeri yıkıldığında lümen içindeki asit, geri difüzyon ile gastrik mukozadan girerek hücrelerin hasarına ve kanama alanlarının artışına neden olmaktadır. Bu yüzden gastrik mukoza bütünlüğü bozulmaktadır (3,57,58). Nonsteroidal antiinflamatuar ilaçlar ve etanol akut aşındırıcı gastrite neden olduğundan dolayı gastrik mukozada da hasara neden olabilmektedir. Akut gastrik mukoza hasarı oluşturan etmenlerden dolayı gastrik mukoza bariyeri yıkılmaktadır (3,20,62,71). Gastrik mukoza bariyeri, epitel hücrelerinin sıkı bağlantıları ve mukus tabakası sayesinde mide lümenine gelen ve gastrik mukozayı hasara uğratabilecek kimyasal ajanlara karşı mideyi korumaktadır (29). Musin, yüzey epitel hücreleri tarafından oluşturulmaktadır ve gastrik mukozanın korunmasında önemlidir (50).

Etanolün gastrik ülser oluşumuna etkisi:

Etanolün neden olduğu hasar bazı dokularda daha fazla olup gastrik boşluk ve üst gastrointestinal kanal, etanol metabolizmasının temel yeridir (68,69). Etanol, kan dolaşımını bozmaktadır. Gastrik iskemi nedeniyle damarlarda daralmanın sonucu olarak akut gastrik mukoza hasarı oluşmaktadır (10,70). Etanol, gastrik mukozadan

hızlı bir şekilde emilmektedir. Bu durumda, gastrik mukoza hücreleri ve hücreler arasındaki sıkı bağlantılar zarar görmektedir ve gastrik mukoza bariyeri yıkılmaktadır (10,11,12). Ayrıca küçük kan damarları zarar görmektedir (9,10). Etanol verilmesiyle gastrik hasar oluşturulduğunda serbest oksijen radikallerin artışı ile alakalı bir durum ortaya çıkmaktadır (7,8). Böylece serbest radikaller, lipid peroksidasyonunun başlamasını tetiklemektedir (18). Böylece hücre hasarı oluşmaktadır (13,21). Sıçanlarda etanolün intragastrik verilmesinin hemen ardından vasküler hasarlar meydana gelmektedir. Bu kimyasal ajan hızlı bir şekilde meydana gelen arteriollerde genişleme ile beraber, venlerde daralmaya neden olmaktadır. Mukozal kapillerlerde tıkanıklık meydana gelmektedir (10,69).

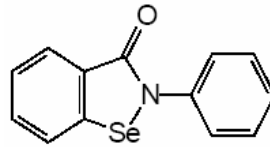
İskemi reperfüzyon süresince oluşan çok reaktif olan oksijenden türevlenen radikaller, hücre ölümleri gibi çeşitli patolojik durumlara sebep olmaktadır. Aldehitler ve yeni serbest radikaller gibi toksik bileşiklerin oluşumuna neden olarak nükleik asitler, proteinler ve lipidler gibi temel hücre elemanlarına zarar vermektedirler (72).

3.4. ORGANİK SELENYUM BİLEŞİKLERİ VE EBSELEN

Organoselenyum bileşiklerinin GPx aktivitesine benzer aktiviteleri, organik çatısında varolan selenyum atomundan kaynaklanmaktadır. Organik selenyum bileşikleri selenyum-nitrojen etkileşimi ile sağlamlaştırılmış bağlara sahiptir. Bu durum bu bileşiklerin antioksidan aktivitesini oluşturan temel nedenlerden biridir. Organoselenyum bileşiklerinin biyokimya ve uygulamalı biyolojide yaygın kullanılmasının bir nedeni de toksik bileşikler olmamalarından dolayıdır (73). GPx, biyolojik zarları ve hücresel yapıları oksidatif stresin hasarlarından korumaktadır. H₂O₂'in indirgenmesiyle katalizlenen bu reaksiyonda GSH indirgeyici substrat olarak kullanılmaktadır. GPx'in enzimatik aktivitesi, onun selenosistein artıklarından oluşan katalitik bölge içermesinden dolayıdır (74). Organik selenyum bileşiklerinin bulunmasıyla antioksidan, antiviral ve antikanser özellikleri selenyumun katalitik aktivitesine dayanmaktadır. Özellikle ebselenin çeşitli hastalık durumlarında iyileştirici etkisi bilinmektedir (75). Çeşitli organik

selenyum bileşikleri, peroksidleri uzaklaştırmaktadır ancak bu reaksiyon tiol varlığında gerçekleşmektedir. Karbon selenyum bağları, bu bileşikleri daha reaktif hale getirmektedir. Selenik asidin ve selenyum atomunun nitrojen ile birlikte etkileşimi ile tioller nötrofilleri uzaklaştırmaktadır (76,77). Organik selenyum bileşiklerinin tüm özelliklerine sahip olan antioksidan ebselenin, GPx'a benzer aktivitesi bulunmaktadır (31). Şekil 3.2.'de ebselenin kimyasal yapısı verilmiştir (78). Yağda çözünebilir bileşik olan ebselen, hidroperoksitleri ve lipoperoksitleri ve GPx aktivitesinden dolayı GSH'u indirgeyebilmektedir. Ebselen tiollerle ve tiol içeren proteinlerle tepkimeye girmektedir. Ebselen, serbest radikalleri çok fazla uzaklaştıramamakta ancak organik hidroperoksitleri özellikle lipid hidroperoksitlerini etkili biçimde uzaklaştırabilmektedir (30,34). Ebselen, tiollerle tepkimeye girerek sülfür-selenyum bağlarını oluşturur ve bu bağlarda isoselenazol bağlarının açılmasına eşlik etmektedir

Ebselenin geniş yelpazede iyileştirici özelliği bulunabildiğinden ve önemsenmeyecek kadar az toksisiteye sahip olduğundan, ebselen ile ilgili çalışmalara ilgi gösterilmiştir (31,79). Aynı zamanda ebselen, kararlı organik selenyum bileşiği olmanın yanında antioksidanları, enzim inhibitörleri, sitokinleri harekete geçirici ajan, radyasyona karşı ajan ve immunomodülatör olarak kullanılabilir (22,23). Ebselen aynı zamanda hücre koruyucu özelliğe sahiptir (31,78,80). Ebselen potansiyel olarak nöroprotektif bileşik olarak insanlarda (81) ve kemirgenlerde (82) kullanılmaktadır. Ebselen inflamasyonda rol alan bazı enzimleri anti-inflamatuar aktivite yoluyla inhibe etmektedir (34).



Şekil 3.2. Ebselenin kimyasal yapısı (78).

3.4.1. Ebselenin GPx'a Benzer Aktivitesi

Ebselen (2-phenyl-1, 2-benzisoselenazol-3-(2H)one), 1984'te hücrede serbest radikal süpürücü etkisine sahip ana enzim olan GPx' a benzer aktivitesiyle biyolojik olarak aktif bir bileşik olarak tanımlanmıştır. Düşük moleküler ağırlığa sahip olan ebselen GPx'ın katalitik aktivitesine sahip olduğu bilinen ilk bileşiktir. (30,31,83). Ebselen, özellikle sıçanların dokularında geniş dağılıma sahip olan fosfolipid hidroperoksit GPx'ın katalitik aktivitesi ile benzerlik göstermektedir (34). GPx, GSH sayesinde peroksitlerin indirgenmesini sağlamaktadır. GSH, dokuyu oksidatif stres anında indirgenerek hidroperoksitlerin hasarından korumaktadır (84). GPx, hidroperoksitlerin enzimatik indirgenmesini gerçekleştirmektedir.

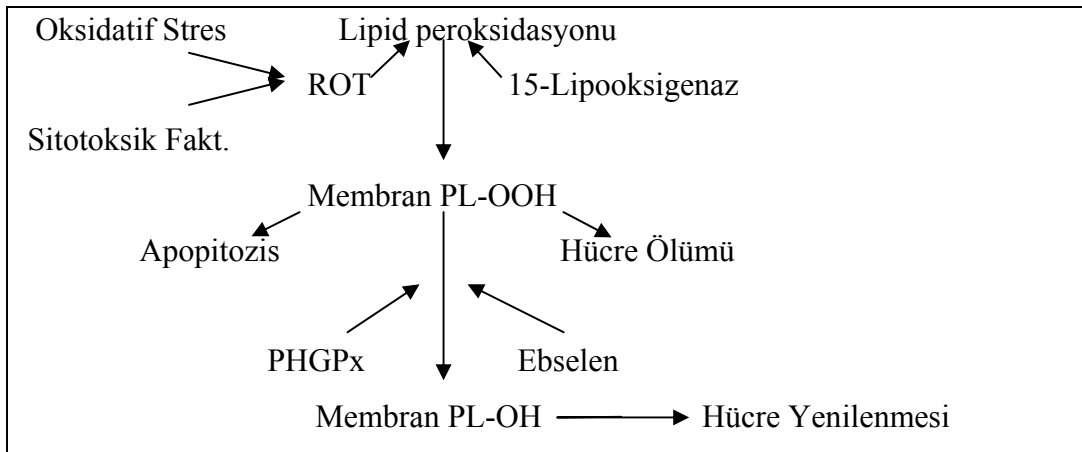
3.4.2. Ebselenin Hidroperoksitlere Etkisi

Ebselen, H₂O₂ ile reaksiyona girmesinin yanında organik hidroperoksitlerle de yüksek reaksiyon oranına sahip olup özellikle lipid hidroperoksitlerini indirgeyebilmektedir ve bu nedenden dolayı, serbest radikal oluşumunu düşük derecelerde olsa da engellemektedir (34,79,84). Ebselenin yanında onun metabolik türevleri de hidroksi bileşiklerini uzaklaştırabilmektedir. Hidroperoksitlerin zararlı etkilerinden organizmayı koruduğundan, ebselen farmakodinamik aktiviteye sahiptir (34,85,86).

3.4.3. Ebselenin Lipid Peroksidasyonuna Etkisi ve Hücre Koruyucu Özelliği

ROT ve lipooksijenazlar biyolojik zarlar üzerinde toksik etkiye sahiptirler ve lipid peroksidasyonunun sürecini başlatmaktadırlar (87,88). Alkoksil radikaller, serbest radikal reaksiyonlarını arttırmaktadırlar. Hidroperoksitleri indirgeme özelliğine sahip olan ebselen, iz metallerin verilmesiyle mikrozomlarda (30) ve mitokondrilerde (89) yeni oluşmaya başlayan lipid peroksidasyonunu durdurmaktadır (31). Ebselen, hidroperoksitlere karşı koruyucu etkisinin yanında yan etkisi olabilecek ilaçlara ve serbest radikallerin reaksiyonuna neden olabilecek

faktörlere karşı hücre koruyucu etki göstermektedir. Şekil 3.3.'te ebselenin hücre koruyucu özelliği şematize edilmiştir (88). Selenyum içeren ebselen, doğal antioksidanlar veya GSH gibi yüksek derecede ikincil reaksiyon oranına sahiptir. Bundan dolayı ebselen doku koruyucu özellik göstermektedir. Ebselenin en önemli özelliği, oksijen varlığında GSH'un oksidasyonunu gerçekleştirememesidir. Bu sayede serbest radikallerin kontrolsüz üremesi durdurulmaktadır (90). Farmakolojik özelliğe sahip olmasının nedenlerinden biri de antioksidan özelliğe sahip olmasıdır. Dolayısıyla dokularda hasar oluşturan oksidatif strese karşı koruyucu niteliktedir (31). Ebselen, antioksidan özelliğe sahip olmasından dolayı hücreleri, hidrojen peroksitleri ve lipid peroksitleri içeren hidroperoksitlerin hasarından korumaktadır (33,34). Bunların sonucu olarak ebselen, dokuda gerçekleşen hasarı indirgeyebilmektedir.



Şekil 3.3. Ebselenin hücre koruyucu özelliği. Hidroperoksi fosfolipidler (PL-OOH) ve fosfolipid alkoller (PL-OH) hücreler üzerinde toksik etkiye sahiptirler (88).

3.4.4. Ebselenin Organizmayı ONOO⁻'e Karşı Koruması

Reaktif türler, lipid peroksidasyonunu arttıran ve nükleik asitler, lipidler ve proteinler gibi makromoleküllerde yıkım olaylarına neden olmaktadır. Reaktif türlerden olan ONOO⁻ inflamatuvar durumlarda oksidatif yıkıma neden olmaktadır. ONOO⁻, O₂⁻ ve NO arasındaki reaksiyon sonucu oluşmaktadır (39,91,92,93). Bunun yanında ebselen, NO oluşumunda etkili enzim olan nitrik oksit sentazları bir dereceye kadar inhibe edebilmektedir (34,94). NADPHoksidaz ve/veya ksantin

oksidazın inhibe edilmesiyle $O_2^{\cdot-}$ 'nin oluşumu engellenmektedir. Dolayısıyla $ONOO^-$ oluşumu engellenerek, bu oksidanın organizmaya zararlı etkilerinden korunmuş olmaktadır (95).

$ONOO^-$, düşük yoğunluktaki lipoproteinleri oksitlemektedir (92). Düşük moleküler ağırlığa sahip olan ebselen, reaktif türlerden peroksi radikallerini ve $ONOO^-$ 'i uzaklaştırmaktadır ve $ONOO^-$ ile reaksiyona girerek, bu reaktif türün muhtemel zararlı etkilerini önlemektedir (40,95). Düşük moleküler ağırlıklı ebselenin, $ONOO^-$ ile hızlı reaksiyona girebildiği 1996 yılında bulunmuştur ve ortalama $2.10^6 M^{-1}s^{-1}$ ikincil reaksiyon oranına sahiptir. Ebselen $ONOO^-$ ile reaksiyona girdiğinde yükseltgenerek ebselen seleno-oksit oluşmaktadır (39,40). Bu bileşimde GSH oluşumuna neden olması ile ardarda iki adımda bir elektronun selenodisülfid kullanılarak indirgenmesi yoluyla tekrar ebselen oluşmaktadır. (85,96). Memelilerde selenoprotein tioredoksin redüktaz, ebselen seleno-oksidi NADPH varlığında indirgeyebilmektedir (95). Bu nedenle ebselen, hidroperoksitler ile birlikte $ONOO^-$ 'i katalizleyebilmektedir.

3.4.5. Çeşitli Enzimlerin İnhibitörü Olarak Ebselen

Esterazların, lipooksijenazların ve hidroperoksitlerin aktivasyonu ile eş zamanlı olarak gerçekleşen proteazların aktivasyonu sonucu hücre hasarı gerçekleşmektedir (97). Ebselen bu reaksiyon basamaklarını içeren ve inflamasyonda rol alan lipooksijenaz, nitrikoksit sentaz, NADPH oksidaz, protein kinaz C gibi bazı enzimleri anti-inflamatuar aktivite yoluyla düşük konsantrasyonlarda inhibe etmektedir (34). Bu durumda, prooksidan enzimlerin aktivitesi kısıtlanarak ve makrofajlar harekete geçerek oksidatif stresin neden olduğu hasarda oksidanların etkileri önlenmiş olur (98). H^+/K^+ ATPaz aktivitesini de indirgeyen ebselen, bu nedenden dolayı dokunun zarar gördüğü durumlarda koruyucu etki göstermektedir (36).

3.5. FAMOTİDİN

Histamin H₂ reseptör blokörleri ilk olarak 1972'de bulunmuştur ve halen kullanılmaktadır (99). Histamin H₂ reseptör blokörlerinden olan famotidin, peptik ülser tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır (100). Hücrelerde histamin reseptörlerini bloke ederler. Mide barsak kanalından emilimleri yaklaşık %45 oranındadır. Temel etkisi, midenin HCl salgılanmasını ve salgının miktarını güçlü biçimde azaltmalarıdır. Gastrik mukus salgılanması üzerine herhangi bir etkileri yoktur. Klinikte en fazla tüketilen ilaçlar arasındadır (99).

3.6. OKSİDATİF STRES VE HÜCRE HASARI

Oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki denge sayesinde aerobik organizmanın fonksiyonel bütünlüğü ve hayatta kalması sağlanmış olmaktadır (101). Redoks döngüsündeki denge, reaktif türlerin üretilmesi ve endojen antioksidan potansiyel arasındaki dengeye bağlıdır. Bu dengesizlik reaktif türlerin üretimi, yıkımından daha fazla orandaysa oksidatif stresi oluşturmaktadır. Bunların sonucu olarak doymamış yağ asitlerinin yıkılarak lipid peroksidasyonunun artmasına, biyolojik zarlarda geçirgenliğinin ve akışkanlığının değişimine neden olmaktadır. Bundan dolayı zar bütünlüğü bozulmaktadır (21,22). Oksidatif stres sonucu serbest radikallerin oluşumu yanında, mitokondriyal bozukluk oluşmakta ve endojen antioksidan mekanizmasında aksaklık meydana gelmektedir. Oksidatif stres ile alakalı olarak enzimatik ve non-enzimatik antioksidan sistemleri oksidatif stresin meydana gelmesini bir dereceye kadar engellemektedir (101). Ancak antioksidan savunma mekanizması serbest radikalleri uzaklaştırıp taktirde, serbest radikaller çeşitli hücre bileşenleri ile reaksiyona girebilmekte ve hücre ölümlerine sebep olabilmektedir (13,21,22). Reaktif oksijen türlerinin kontrolsüz üretilmesi sonucu inflamatuvar ve kardiyovasküler hastalıklar oluşmaktadır. ROT organizmada normal aerobik metabolizması sonucu ve çeşitli ksenobiyotiklerin metabolizmasında ve inflamasyon sırasında ortaya çıkmaktadır (13,14). O₂⁻ ve stabil olan H₂O₂ ve lipid peroksitler, hücreler üzerinde direkt hasar oluşturmaktadır (13,21,22,23). Plazma membran fosfolipidlerinin

oksidasyonundan türevlenen lipid peroksit gibi H₂O₂ ve organik hidroperoksitler, bu oksijen türleri arasındadır (13). En reaktif serbest oksijen radikali olan ·OH'dir.

GSH konsantrasyonunda azalma ve GSSG seviyesinde artış meydana geldiğinde oksidatif stresin belirtisi olarak sayılmaktadır. Etanol, gastrik hasarı indüklemektedir (102). O₂^{-·}'in ve peroksitlerin hücresele seviyesinde artış olduğu takdirde, oksidatif stresten kaynaklanan hücre hasarı meydana gelmektedir. Endojen antioksidanların azalmasıyla tepkimeli oksijen türlerinin artışı eş zamanlı olmaktadır (19,21). GSSG ve GPx, GSH redoks döngüsünün enzimatik bileşenleridir ve aktiviteleri selenyuma dayanmaktadır.

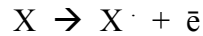
3.6.1. Serbest Radikaller

Reaktif türler, biyolojik sistemlerde serbest radikalleri içeren çoğu dış orbitallerinde çiftleşmemiş elektron çifti bulunan molekülleri içermektedir. Bu türler kuvvetli oksidan özelliğine sahiptirler. Serbest radikaller, üç yolla oluşabilmektedir: (67)

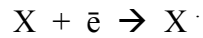
1. Bir molekülü oluşturan kovalent bağın homolitik kopması sonucu eşlenmiş elektronlardan her birinin ayrı parçada kalması ile meydana gelebilmektedir.



2. Bir molekülün elektron kaybetmesi sonucu oluşabilmektedir.



3. Bir moleküle tek bir elektronun eklenmesiyle elde edilebilmektedir.

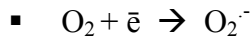


Tek elektronunu bir başka moleküle verebilen bu radikaller, bir başka molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturabilmektedirler. Sonuç olarak radikal olmayan bir yapı, radikal hale geçebilmektedir (67). Organizmadaki çoğu dokuda bulunan reaktif türler, oksidatif hücre hasarına neden olmaktadır (13,19,21). Reaktif türler, bağışıklık sistemi üzerinde etkilidir. Reaktif türler tepkimeli nitrojen türleri ve ROT olarak ayrılmaktadır (103). Serbest radikal reaksiyonlarında oksijenin moleküler formu başta olmak üzere; O₂^{-·}, H₂O₂, ·OH ve geçiş metal iyonları anahtar konumda rol oynamaktadır. Oksijenin eşleşmemiş iki elektron taşıma

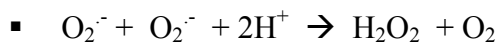
özelliği diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesini sağlar. Oksijenin tam olarak indirgenmesiyle su ağığa çıkarken, bu sũrecin ara basamaklarında kısmi indirgenmesi sonucunda da ROT oluşmaktadır **(67,104)**.

Oksijenin tamamlanmamış indirgenmesi sonucunda ũretilen ROT, çok hızlı tepkimeye girmektedir ve bunun sonucu olarak bu tũrler hũcrel lipidler, proteinler ve nũkleik asitlerle etkileşerek onların yapılarında ve fonksiyonlarında dengesizliklerle ortaya çıkan oksidatif metabolizmayı harekete geçirmektedir **(21,22,23)**.

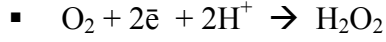
ONOO⁻ çok hızlı tepkimeye girebilmektedir ve endotelial hũcrelerde hasara neden olmanın yanında mikrovaskũler geçirgenliği arttırmaktadır **(105,106)**. ROT'nin ũretilmesinde önemli bir kaynak teşkil eden araşidonik asit metabolizması **(13)**, çeşitli nedenlerle radikallerin aığa çıktığı reaksiyonlar enzimlerin ya da demir, bakır gibi geçiş metali iyonlarının kataliz rlũđũnde gerçekleşir. Geçiş metalleri, O₂⁻ ve H₂O₂ reaksiyonlarını katalizleyerek, toksik etkili radikallerin oluşmasına yol açmaktadır **(68)**. ROT'den O₂⁻, H₂O₂ ve ·OH'leri, mitokondrial elektron transportu veya ksantin oksidaz, NADH/NADPH oksidaz, monooksijenaz ve siklooksijenaz gibi enzimatik reaksiyonlar sonucunda ortaya çıkmaktadır **(13)**. ROT, O₂⁻ larından oluşmaktadır ve H₂O₂'e d nũřmektedirler. H₂O₂, O₂⁻ dan daha az zararlıdır. O₂⁻, biyolojik membranlar arasında daha çabuk yayılabilmektedir ve oksidanların oluşturduğu hasarlara ilişkin mesajları ve fizyolojik sinyalleri hũcre b lũmleri arasında diğer tũrlere g üre daha hızlı iletmektedirler **(107)**. Oksijen atomunun bir elektron alarak indirgenmesi ile O₂⁻ aığa çıkmaktadır **(67)**.



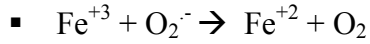
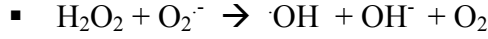
İki sũperoksidin birleşmesi sonucu gerçekleşen reaksiyonda H₂O₂ ve O₂ meydana gelir.



ROT' un temel olan bileşiği H₂O₂ ve oksijen molekülüne iki elektron eklenmesi ile oluşmaktadır (67).



O₂⁻ ile reaksiyona giren H₂O₂, hücre için toksik etkili ·OH'ini oluşturmak üzere *Haber-Weiss* reaksiyonu ile parçalanır. Oksidatif stres sırasında *Haber-Weiss* tepkimesi ile H₂O₂ ve O₂⁻'nin tepkimeye girmesiyle veya aynı tepkime metaloprotein varlığında geçiş metalleri aracılığıyla gerçekleşir. O₂⁻ tarafından ferri demir (Fe⁺³), ferro demire (Fe⁺²) indirgenmektedir ve *Fenton* tepkimesi olarak adlandırılır (104). Bu reaksiyonla ·OH, hidroksil iyonu (OH⁻) oluşabilmektedir (13).



H₂O₂ çok reaktif değildir. Bu radikaller içinde en reaktif ve yüksek toksisiteye sahip olanı ·OH'dir. ·OH, yarılanma süresi çok kısa olup, üretildiği her yerde pek çok molekülle tepkimeye girerek radikal tepkimelerini başlatmakta ve hücrel hasara neden olabilmektedir. Serbest radikallerin neden olduğu hasarın son adımında oluşmaktadır. ·OH'nin direkt üretilmesiyle lipit peroksitler oluşmaktadır (13,18).

O₂⁻ ise, reaktif nitrojen türü olan NO ile etkileşerek yüksek permeabiliteye sahip ONOO⁻ oluşturmaktadır (106). ¹O₂, ortaklanmamış elektrona sahip değildir ve bu nedenle radikal olmayan oksijen türevidir. Reaktif yapıya sahip olan ¹O₂ radikal reaksiyonları sonucu meydana gelmektedir ve radikal reaksiyonlarının başlamasına da neden olmaktadır. ·OH radikalinin doymamış yağ asitlerinden H⁺ kopararak başlattığı tepkimelerin aksine, ¹O₂ doymamış yağ asitleri ile tepkimeye girerek hidroperoksitlerin oluşumuna neden olur (67).

3.6.2. Lipid Peroksidasyonu

Serbest radikaller, antioksidan savunma mekanizmalarının uzaklaştırıcı etkisi durumunda dahi artış gösteriyorsa, organizmada çeşitli bozukluklara yol açarlar. Serbest radikallere en hassas biyomoleküller lipidlerdir **(21,87)**. Hücre membranındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünlerini oluştururlar. Lipid peroksidasyonu çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı olarak tanımlanmaktadır. Devam eden zincir reaksiyonu şeklinde ilerlediğinden dolayı oldukça zararlıdır. Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan membran hasarı geri dönüşümsüzdür **(87)**. Reaktif türlerin üretimi, yıkımından daha fazla orandaysa artan lipid peroksidasyonu, hücre zarının yıkımında etkilidir ve hücre membranındaki çoklu doymamış yağ asitlerini indirgeyerek zar bütünlüğünü bozmaktadır **(21,22)**. Bu nedenle memeli dokularının lipid peroksidasyonu nedeniyle hasar görmesi doymamış yağ asitlerinden kaynaklanmaktadır. Serbest radikallerin üretilmesiyle enzimatik olmayan lipid peroksidasyonunu indüklenerek sekonder ve birbirine değişen ürünler oluşmaktadır **(16,17)**. Öncelikle, moleküler oksijenin lipid radikal ile oksidasyon reaksiyonları sonucunda lipid peroksil radikali oluşur. Daha sonra bu radikaller doymamış yağ asitlerini etkileyerek bir başka lipide saldırırlar ve yeni lipid radikali olan lipid hidroperoksitlerini meydana getirir. Lipid hidroperoksitlerine metal iyonlarının etkisiyle alkoksi ve peroksi radikalleri oluşturabildiği gibi, reaktif aldehidler, MDA ve 4-hidroksinonenal gibi bir çok yıkım ürünü lipid peroksidasyonu sonucunda oluşmaktadır **(67, 87)**.

Lipid peroksidasyonunun ürünü olan MDA, üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu ile oluşmaktadır. Oluşan MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanmasına ve polimerizasyonuna neden olur. Sonuç olarak deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsek membran özelliklerini değiştirir. Ayrıca diffüze olabilen ve DNA'nın nitrojen bazlarıyla da reaksiyona giren MDA bu özellikleri nedeniyle mutajenik, genotoksik ve karsinojenik bir bileşiktir **(13, 87)**.

3.7. ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMİ

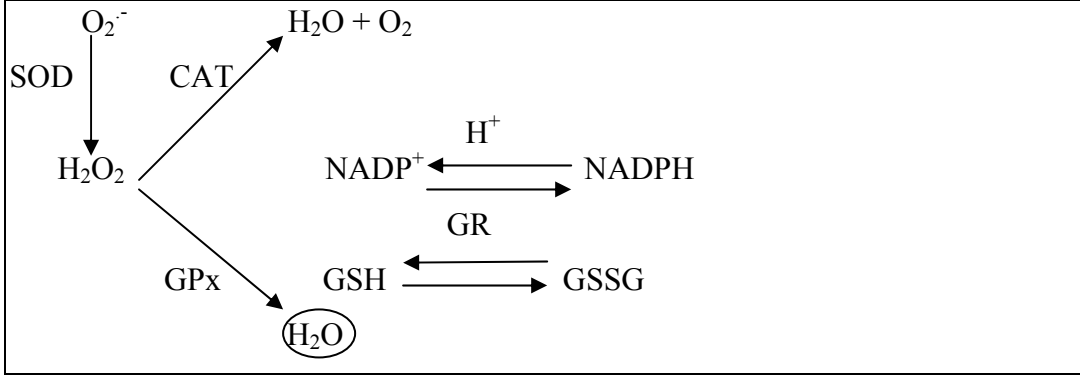
Yaşam sürekliliği açısından hücrelerde hemostazis önem taşımaktadır. Normal şartlarda çeşitli stres faktörleri hücrel dengeyi sürekli değiştirmektedir. Bu stres yapan faktörlere karşı korunmada, hücrenin kendi geliştirdiği ve serbest radikal zincir reaksiyonlarını inhibe eden bazı bileşikler rol almaktadır (15). Endojen antioksidan savunma sistemi sayesinde bütün dokuların oluşan oksijen radikallerini bir dereceye kadar nötrale etme yetenekleri vardır. Reaktif türler, hücrel savunma mekanizmasını harekete geçirmektedir (19). Antioksidan savunmada fizyolojik ve farmakolojik stratejiler önemlidir. Bunlar arasında koruma, önleme ve yenileme bulunmaktadır (108). Antioksidanlar aşağıdaki mekanizmalardan biri ile oksidanları inaktif duruma getirmektedir.

Antioksidanların, oksidanlar üzerinde nasıl etki gösterdiği aşağıda verilmiştir (67):

- 1- Oksidanları uzaklaştırıcı (scavenging) etkisi: Serbest oksijen radikalleri üzerinde etki oluşturarak oksidanları tutma ve onları zayıf bir moleküle dönüştürme şeklinde gerçekleştirilmektedir.
- 2- Baskılama (quenching) etkisi: Oksidanlara bir hidrojen aktararak aktivitelerinin azalmasına neden olacak veya etkisiz hale getirecek şekilde etki etmektedir.
- 3- Onarıcı (repairing) etkisi: Serbest radikallerin neden olduğu oksidatif stresin etkilerinden korunmak amacıyla, hasarın onarılması gerçekleşmektedir.
- 4- Zincir koparma (chain breaking) etkisi: Oksidanları kendilerine bağlayarak fonksiyonlarını engelleyecek şekilde etkili olmaktadır.

Reaktif türlere karşı savunmada dokunun fizyolojik bütünlüğü ve biyokimyası önem kazanmaktadır. Reaktif türlerin oluşumu hücrelerde çeşitli birimlerin hasarına neden olduğundan ikinci aşamada bu türlerin artışı önlenmektedir. DNA hasarının onarılması, proteolizisin durması ve hücrelerin yenilenmesi ile hasarın derecesine göre dokunun fonksiyonel ve yapısal bütünlüğü tekrar sağlanmaktadır (108). Antioksidan savunmada, selenyum ve GSH sistemi, dokudaki hasarı önleme yönünde etki göstermektedir (75,84).

Normal şartlar altında tepkimeli oksijen türleri O_2^- , H_2O_2 'yi ve organik hidroperoksitleri içermektedirler ve bunların seviyesi endojen antioksidan enzimlerden olan SOD, GPx ve CAT tarafından kontrol edilmektedir **(8,19)**. Dokuda iskemi, çeşitli tipte inflamasyonlar, fizyolojik yaşlanma oksidatif stres ile alakalıdır **(101)**. Antioksidan savunma sistemi ile enzimatik ve non-enzimatik bileşikleri içerdiğinden koruma gerçekleşmektedir. Enzimatik bileşenleri arasında SOD, CAT ve GPx bulunmaktadır **(67)**. SOD, O_2^- 'in H_2O_2 'e dönüşümünü sağlamaktadır. H_2O_2 , GPx ve CAT sayesinde O_2^- ve H_2O 'ya dönüşmektedir **(19)**. GPx, redükte glutasyonu (GSH), okside glutasyon (GSSG) formuna oksitleyen, sitozol ve mitokondride SOD tarafından üretilen H_2O_2 'i uzaklaştıran temel enzimdir. Lipid peroksitlerinin indirgenmesini de katalizler. Glutasyon redüktaz (GR), okside glutasyonun, GSH dönüşümünü sağlayarak dolaylı antioksidan etki göstermektedir **(67)**. Enzimatik olmayan endojen antioksidan savunma sisteminin en önemli bileşeni olan glutasyon, karaciğerde, genetik bilgiye gerek olmadan glutamat, sistein ve glisinden sentezlenebilen bir tripeptiddir. Çok önemli bir antioksidan olan glutasyon, serbest radikal ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Şekil 3.4.'te organizmadaki endojen antioksidan mekanizması gösterilmiştir **(71)**. SOD, temel antioksidan enzimdir. 3 çeşidi vardır: Sitoplazmik- Mitokondrial- Hücre dışı SOD **(109)**. Cu-Zn ve Mn içeren iki tip enzimden, Cu-Zn içereni sitoplazmada, diğeri ise mitokondride bulunmaktadır. Mitokondrinin, serbest radikal üretiminin kaynağı olabileceği düşünülmektedir. O_2^- , mitokondriyal aktiviteyle solunumda oluşmaktadır. Mitokondri aktif SOD içerdiğinden, H_2O_2 'nin artışına sebep olmaktadır. H_2O_2 ise mitokondriyal GPx aktivitesini bozmaktadır **(110)**. Oksidanların olduğu durumlarda GSH'ın yükseltgenmiş formu GSSG oluşmaktadır. Oksidanların uzaklaştırılmasında etkili olan bu reaksiyonu GPx tarafından katalizlenmektedir. İndirgenmiş GSH oluşumu, NADPH oksidasyonuna dayanan GSSG'un indirgenmesi ile gerçekleşmektedir **(111)**.



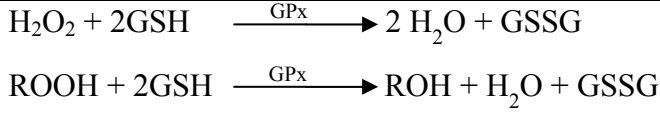
Şekil 3.4. Organizmadaki endojen antioksidan mekanizması (71).

Midede çeşitli faktörlerden dolayı, asidin geri difüzyonu ve oksijen radikallerinin artışı ile endojen savunma mekanizması ve mukus salgılanması harekete geçmektedir (1,37,60). GSH hücrel sinyal olayında görev almakta (112) ve ilaçları ve toksik metalleri içeren ksenobiyotikleri detoksifiye etmektedir (67,71). İndirgenmiş GSH, en bol bulunan ve temel hücrel non-protein tiol olup, hücrel redoks sisteminde hücre büyümesini ve fonksiyonlarını etkileyen önemli bir belirleyicidir (84,113).

Oksijen radikallerinin neden olduğu lipid peroksidasyonuna karşı midedeki endojen savunma sistemi çeşitli faktörlere bağlı olarak çalışmaktadır (114):

- Doymamış yağ asitlerini yakarak oksijen radikallerine karşı süpürücü etkiye sahiptir.
- α -tokoferol seviyesi peroksil radikalleri sonucu oluşan zincirleri kırmaktadır.
- GSH ve GPx sistemin aktivitesi lipid peroksidasyon oluşumunu engellemektedir.

Hidroperoksitlerin büyük kısmını metabolize eden GPx, endojen savunmada önemlidir. Oksidatif stresin hasarından koruyan ve bu sayede çok önemli role sahip olan GPx'in katalitik aktivitesidir (21,77). H_2O_2 ve organik hidroperoksitler, GPx tarafından katalizlenerek GSH'ın oksidasyonu ile H_2O 'ya indirgenmektedir. Bu yolla O_2^- detoksifiye edilmektedir (111). GPx, GSH'a spesifik olan H^+ vericisidir. Böylece hidroperoksitler indirgenmektedir. Şekil 3.5.'te H_2O_2 indirgenme reaksiyon basamakları anlatılmıştır (13).



Şekil 3.5. GPx tarafından H₂O₂ indirgenme reaksiyonu **(13)**. GPx'in katalizlediği bu reaksiyon H₂O₂'in suya, organik hidroperoksitlerin (ROOH) alkol (ROH) ve suya indirgenmesini içermektedir. Bu reaksiyon sırasında GSH yükseltgenmektedir. GSH sayesinde suya indirgenmektedir.

Ancak çeşitli hastalıkların tedavisi amacıyla kullanılan endojen enzimlerin kararlı olmadıklarından ve kısa yarılanma ömürleri olduğundan kullanımları sınırlıdır **(77)**. GPx'in yapı olarak birbirine benzer olan dört çeşidi bulunmaktadır: Sitosolik GPx, gastrointestinal GPx, plazma GPx, fosfolipid hidroperoksit GPx **(74)**. Sitosolik GPx ve fosfolipid hidroperoksit GPx, hidroperoksitlerin uzaklaştırılmasında çok önemlidir. GPx'in sitosolik formu inflamatuvar durumlarda endotelial hücrelerde ortaya çıkan yüksek seviyede O₂⁻, hipoklorus asit ve NO olduğunda aktif özelliğini kaybetmektedir. Bu durumda GPx eksikliği oluşmaktadır **(115,116)**. GPx ve onun katalitik aktivitesine benzer yönde aktivite gösteren bileşiklerin, hidroperoksitleri uzaklaştırarak lipid peroksidasyonunu indirgediği ve mitokondriyi oksidatif strese karşı koruduğu bilinmektedir. GPx'in içerdiği protein alt ünitelerin herbirinin aktif bölgesinde bir antioksidan özelliğini belirleyen selenyum atomu içermektedir. **(31,78,86)**.

BÖLÜM 4

MATERYAL VE METOD

4.1. MATERYAL

Ebselen (Sigma, St. Louis, MO, USA), %0.5' lik 5 ml/kg karboksimetil selüloz sodyum solüsyonunda çözüldü (117). Alkol, formaldehid, ksilol ve entellan Merck (Darmstadt, Germany), Alcian blue pH2,5 hazır kiti Bio-Optica (Milano, Italy) firmasından temin edildi.

Famotidin (Sigma, St. Louis, MO, USA), ağız yoluyla verildiğinden dolayı distile suda çözüldü (118).

Biyokimyasal analizler için kullanılan kimyasalların büyük bir kısmı Merck ve Sigma'dan temin edilmiştir. SOD ve GPx aktivitesinin belirlenmesinde Ransod and Ransel (Randox Laboratories GmbH, Deutschland) ticari kiti kullanılmıştır.

4.2. DENEY GRUPLARININ HAZIRLANMASI

Ebselenin anti-ülser etkisini araştırmak için Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Deneysel Hayvanları Ünitesi'nden sağlanan 32 adet 200-250 g ağırlığında 16 haftalık erkek Wistar Albino sıçan kullanılmıştır. Yeni ortama uyum için 1 hafta süresince beslenmiş ve deneme süresince ortam koşulları uygun bir odada barındırılmıştır. Standart pelet yem (Murat Animal Food Product CO., Ankara, Turkey) ve musluk suyu ile beslenen sıçanlar, oda ısısının 21 ± 2 °C ve nemin % 55 ± 5 olduğu, 12/12 saat gece/gündüz periyodu uygulanan bir ortamda tutuldu (117). Denemede kullanılacak sıçanların bakımı, Ulusal Sağlık Enstitüsü'nün yayınladığı Ulusal Bilim Akademisi tarafından hazırlanan 'Deneysel Hayvanlarının Kullanımı ve Bakımı' kılavuzunun ölçütlerine göre yapılmıştır.

Bu çalışma Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Deneysel Hayvanları Etik Komitesi'nin onayıyla gerçekleştirilmiştir. Çalışmadan 24 saat önce sıçanlar aç bırakılmışlardır ancak sadece su içmelerine izin verilmiştir (119).

Deneysel yapılacak anda 24 tanesi deneme, 8 tanesi kontrol grubu olarak rastgele ayrıldıktan sonra her grupta 8 sıçan olacak şekilde 4 (A,B,C,D) eşit gruba ayrılmıştır. Bütün gruplara verilen preparatlar, sıçanların dilleri ortası delikli bir çubuk ile ekarte edilerek pediatrik (6F) sonda aracılığı ile orogastrik yolla entübe edildi. A; kontrol grubu. 1 ml distile su, B; etanol, C; ebselen+etanol ve D; famotidin+etanol orogastrik yolla verildi. Ebselen, 30 mg/kg (120), dozda, famotidin ise 20 mg/kg (121) dozunda uygulandı Ebselen ve famotidin verilmesinden 2 saat sonra tüm deneysel hayvanlarına. 1 ml %100 etanol (26) uygulandı. Sıçanların ortalama ağırlığı üzerinden, verilen maddeler için gerekli hesaplamalar yapıldı. Verilen preparatların deneme yapılıncaya kadar sterilitesinin korunmasına özen gösterildi. Ayrıca sıçanların çevre koşullarından dolayı strese girmemelerine dikkat edildi. Hayvanlar, denemeden 1 saat sonra eter anestezi uygulanarak bayıltıldı (122). Denemede kan örnekleri alındı. Toplanan kanların serumları ayrıldı.

4.3. HİSTOLOJİK DEĞERLENDİRMELER

Makroskopik incelemeler:

Her gruptaki sıçanların mideleri çıkarılarak 10 ml, %0.9 sodyum klorür (NaCl) solüsyonu ile makroskopik incelemede kolaylık sağlanması amacıyla şişirildi ve %10'luk formalin solüsyonunda 10 dakika fikse edilmesinin ardından büyük kurvatür boyunca açıldı. (117). Gastrik mukozanın makroskopik incelenmesi görüntü analiz sistemi yardımıyla yapıldı. Makroskopik incelemede midenin üstüne temiz milimetrik çizgiler içeren asetat kağıdı konarak Nikon 8400 dijital fotoğraf makinesi ile resimler çekildi. Görüntü analiz programıyla incelendi.

Mikroskopik incelemeler:

Alınan mide dokuları %10'luk nötral formaldehit solüsyonunda 24 saat fikse edildi. 24 saat fiksasyondan sonra dokular %60, %70, %80, %96 ve %100'lük

alkol serilerinden geçirilerek dehidrasyon işlemi uygulandı. Daha sonrasında dokuyu alkolden kurtararak şeffaflaştırmak amacıyla ksilol serilerinden geçirildi. Ksilolün dokudan tamamen uzaklaşması için üç ayrı erimiş parafin içinde tutulan dokular, parafine gömme işlemine tabi tutularak hazırlanan parafin bloklar Shandon rotary mikrotomda 5 mikron kalınlığında alınan kesitler, mide dokusunun genel histolojik yapısını inceleyebilmek amacıyla hematoksilin-eozin ile boyama işlemine tabi tutuldu. Ayrıca Alcian blue pH2,5 ile boyanan kesitler ışık mikroskopunda incelenerek fotoğrafları çekildi. (Olympus BX51, Tokyo, Japan)

Bu çalışmada kullanılan temel doku takip prokolü şu şekildedir:

- Dokuların tespit (fiksasyon) edilmesi: %10' luk formalin solüsyonunda 24 saat.
 - Tespit sonrası yıkanması: 1 saat akan suda uygulanır.
 - Sudan kurtarma (dehidrasyon) işlemi:
 - % 60 Alkol 30 dakika
 - % 70 Alkol 30 dakika
 - % 80 Alkol 30 dakika
 - % 95 Alkol 30 dakika
 - % 100 Alkol 30 dakika
 - % 100 Alkol 30 dakika
 - Alkolden kurtarılması (şeffaflaştırma) ve parafine hazırlanması:
 - Ksilol 30 dakika
 - Ksilol 30 dakika
 - Parafine gömme metodu:
 - 59⁰C' deki etüvde sıvı parafine dokular aktarılır.
 - Sıvı parafin 30 dakika
 - Sıvı parafin 90 dakika
 - Sıvı parafin 90 dakika
- Dokular bloklara alınır ve soğutulur.
- Kesitlerin lamlara alınması

Standart prosedüre göre lam üzerine alınan 5 mikron kalınlığında kesitler ilk adımda 60°C’ de sabitlenmiş etüvde 30 dakika kurumaya bırakılmaktadır. İkinci aşamada, ksilol ile parafin giderme işlemi uygulanmakta ve iki seri %100 alkol aşamasından geçirilerek %95, %80, %70’ lik alkol serilerinden geçirilerek 10 dakika yıkanır. Daha sonra hücre çekirdeğini mor-maviye boyayan hematoksilin boyası 5 saniye ile 1 dakika arasında tutulmaktadır. Bu süre boya kalitesi, derişimi ve boyanacak doku tipine bağılı olarak değişmektedir. Bu nedenle boyama ışık mikroskobu ile bakılarak kontrollü olarak yapılmaktadır. Yine 10 dakika yıkama işlemine tabi tutulur. Bu aşamada ise sitoplazmanın pembe görünmesini sağlayan Eozin boyası 1.5-2 dakika uygulandıktan sonra 5 dakika boyunca yıkanır. Çıkan alkol serileri %95 alkol ve iki seri %100 alkol olacak şekilde uygulanmaktadır. Alkol giderme ve dokuların entellan ile uyumunu sağlamak amacıyla iki seri 5’er dakika ksilol aşamasından geçirilen kesitler üzerine bir damla entellan damlatılarak 45⁰’lik açıda lamel kapatılmaktadır.

Aynı şekilde lam üzerine alınan ve kurutulmuş kesitlere, ksilol ile parafin giderme işlemi uygulanmasının ve inen alkol serilerinden geçirilmesinin ardından, hazır kit şeklinde bulunan Alcian blue pH 2,5 boyaması yapıldı. Çıkan alkol serileri ve ksilol aşamalarından geçirilerek preparatlar, mikroskobik incelemeye hazırlandı.

Mikroskobik resimlerde lezyon indeksi literatürde belirtilen Lacy et al.evreleme yöntemi temel alınarak hazırlanmıştır. Mide mukozasındaki hasar 3 aşamada değerlendirilmiştir **(11)**.

0 : Hasar oluşumu gözlenmiyor.

1: Yüzey mukus hücrelerinde piknotik nükleus, hafif boyanan sitoplazma veya sitoplazmanın kaybı. Mide lümeninde yer yer hücre dökülmeleri, ancak gastrik pit hücreleri sağlam.

2: Yüzey hücrelerinin yoğun hasarının yanısıra gastrik pitlerin düzensizliği ve hücre dökülmesi gözlenmekte.

3: Gastrik pit ve yüzey epitel hücrelerinin hemen altındaki gastrik bezlerde de hasar ve parietal hücrelerde artış, hücrelerin yoğun bir şekilde lümeneye döküldüğü gözlenmekte.

Mide mikroskopik değerleri tüm grupların ayrı ayrı skorları hesaplanarak istatistiksel olarak ortaya konmuştur.

Gastrik mukozal hasarın histomorfometrik ölçümü:

Ölçümlerde kör çalışma prensipleri uygulanarak çalışma grupları bilinmeden resimlere numara verilerek görüntü analiz programı yardımıyla yapılmıştır. Görüntü analiz programı, PC, yazılım ve donanım (Image-Pro Plus 5.0, Media Cybernetics, USA) içermektedir. Mikroskoba sabitlenen kamera (Spot Insight QE (Diagnostic Instruments, USA)) ile mikroskopik görüntüler bilgisayar monitörüne aktarılabilen ve görüntünün analizi yapılabilmektedir. Bu kamera kullanımı için ayrı bir yazılım ve bu yazılımın da mikron ölçeğinde kalibrasyonunun yapılması gerekmektedir. Görüntü analiz programı, incelenen örneklerdeki morfolojik ölçümler amacıyla kullanılmaktadır. Makroskopik incelemede her bir sıçanın midesinden bir fotoğraf çekilmiştir. Mikroskopik incelemede ise her bir sıçan mide dokusundan elde edilen 10 preparattan rastgele seçilen 100 alanda ölçümler yapılmıştır.

4.4. BİYOKİMYASAL ANALİZLER

Doku örneklerinin hazırlanması:

Mide dokularından alınan örnekler, dört volüm soğuk Tris-HCl tamponunda (50 mM, pH 7.4), 2 dakika boyunca 5000 rpm'de Ultra Turrax T25 homojenizatör kullanılarak homojenize edildi. MDA seviyesi ve CAT aktivitesi belirlenen homojenatlardan bazılarında süpernatant ayrıldı. Süpernatant solüsyonunu ayırmak amacıyla eşit miktarda etanol/kloroform karışımı (5/3, her volüm için) kullanıldı. 30 dakika 5000xg da santrifüj edildi. Bütün hazırlama işlemleri +4°C'de yapıldı. Dokuların analizi yapılana kadar dokular -80°C'de saklandı. Plazmadaki klinik kimyasal analizler için Cobas integra 800 otomatik analiz cihazı kullanılmıştır. (Roche Diagnostic, USA). Kan örneklerinin analizi için potasyum-EDTA plazma 37 °C'de kullanılmıştır.

MDA seviyesinin belirlenmesi:

MDA seviyesi lipid peroksidasyonunu belirlemektedir. Bu çalışmada kan ve doku MDA seviyeleri, Draper ve Hadley metodu (123) kullanılarak belirlenmiştir. %8.1 sodyum dodesil sülfat, %20 asetat tamponu (pH 3.5), ve %0.8 tiobarbiturik asit içeren reaksiyon solüsyonu iyice karıştırılarak, 0,2 ml mide dokusu ile 3 dakika boyunca homojenize edilerek 95⁰C'deki inkübatörde 60 dakika tutuldu. Soğutulduktan sonra tiobarbiturik asit reaktif maddesi ve MDA'nın 1 ml su ve 2,5 ml n-bütanol piridin karışımında (15:1, v/v) sıcak ve asidik ortamda oluşturduğu renkli kompleksin 532 nm'de absorbansının okunup, absorbansla doğru orantılı olarak hesaplanmasından faydalanılarak ölçüldü. MDA ile tiobarbiturik asit reaktif maddesi arasındaki pH 2-3'te 95⁰C' deki 15 dakikada oluşan reaksiyona dayanmaktadır. Reaksiyonun kolorimetrik analizi yapılmıştır. MDA ve tiobarbiturik asit reaksiyona girerek, Shimadzu UV-1601 spektrofotometre (Japan) kullanılarak 532 nm de absorbansı ölçüldü. pembe pigmentler oluşmaktadır. Mide için µmol/g protein, plazma için ise µmol/gHb olarak sonuçlar değerlendirildi.

SOD ve GPx aktivitesinin belirlenmesi:

Doku SOD ve GPx aktivitesinin belirlenmesi, Ransod and Ransel ticari kiti ve Shimadzu UV-1601 spektrofotometre kullanılarak yapılmıştır. SOD ve GPx aktivitesi, bir ünite her mg proteine oranlanarak belirlendi.

CAT aktivitesinin belirlenmesi:

Doku CAT aktivitesi Aebi'nin metodu (124) kullanılarak belirlendi. Bu metod 340 nm'de NADPH oksidasyonuna dayanarak t-butil-hidroperoksit substrat gibi kullanılarak H₂O₂ yıkımının oranı, oran sabiti (s⁻¹, *k*) ile belirlendi. Sonuçlar her mg proteinde *k* (oran sabiti) kullanılarak hesaplandı.

NO seviyesi belirleme

NO üretimi (µmol/l), kantitatif kolorimetrik ölçümler yapılarak (125) Griess reaksiyonuna dayanarak yapılmıştır.

4.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Bütün istatistiksel analizler SPSS istatistiksel yazılım (windows için SPSS, 12.0 versiyonu) kullanılarak gerçekleştirildi. Tüm veriler standart sapma ile (\pm) anlamlandırıldı. Gruplar arasındaki farklılıkların değerlendirilmesi ANOVA belirlendi. Ölçülen tüm parametreler kullanılarak, grupların birbirinden farklı olup olmadığı diskriminant analizi ile yapıldı. Diskriminant verileri, 3 boyutlu Scatter plot ile düzenlendi.

BÖLÜM 5

BULGULAR

Histolojik bulgular:

Makroskobik incelemelerin sonuçları Çizelge 5.1.'de gösterilmiş ve grupların ortalaması alınarak oluşturulan sonuçlar standart sapma hesaplanarak verilmiştir. Buna göre; kontrol grubu hayvanlarında hasar gözlenmemiştir. Absolu alkol verilen B grubu hayvanlarında gasrik lezyon alanı $61.2 \pm 3.9 \text{ mm}^2$ değerinde ölçülmüştür. C grubundaki sıçanlara etanol verilmesinden önce ebselen uygulanması ile hasarlı alanlar, $14.3 \pm 1.2 \text{ mm}^2$, D grubundakilere famotidin+etanol verilmesinin ardından incelenen mide yüzeyindeki hasarlı alanlar, $18.2 \pm 1.2 \text{ mm}^2$ olarak icelenmiştir. Mide dokusunun makroskobik görüntüleri Şekil 5.1., 5.2., 5.3. ve 5.4.'te gösterilmektedir.

Yapılan mikroskobik incelemeler, hematoksilin-eozin, ve alcian blue pH2,5 boyamaları uygulanan kesitlerde incelenmiştir. Midenin bazalindeki boyun mukus hücreleri alcian blue pH2,5 ile boyandılar. Absolu alkol verilen grupta alcian blue pH2,5 ile boyanma daha belirgin olarak gözlenmiştir.

Mikroskobik incelemelerde kontrol gruplarında anormal bir oluşum gözlenmedi. Şekil 5.5., 5.9., 5.13., 5.17.'de normal olarak izlenen mide mukoza mikroskobik görüntüleri bulunmaktadır. Şekil 5.6., 5.10., 5.14., 5.18.'de gastrik mukozanın absolu etanol etkisiyle oluşan hasarın farklı büyütmelelerdeki mikroskobik görüntüleri incelenmektedir. Şekil 5.7., 5.11., 5.15., 5.19.'da incelenen preparatlarda ebselenin koruyucu etkisi göze çarpmaktadır. Absolu etanol ile akut gastrik mukoza hasarı oluşturulması öncesinde verilen ebselenin mikroskobik görüntüleri incelendiğinde, normale yakın bir görüntü izlenmektedir. Epitel hücrelerinin yapısında önemli derecede bozukluk gözlenmedi. Ancak famotidin

uygulanması ile lümen içine dökülmüş hücreler bulunmaktaydı. Gastrik pitlerin yer yer düzenli yapısını koruduğu gözlemlendi. Şekil 5.8, 5.12, 5.16, 5.20'deki mikroskopik görüntüler famotidin+absolu alkolün gastrik mukoza bütünlüğüne etkisini göstermektedir. Mikroskopik incelemeler sonucunda gastrik mukozadaki lezyon skorlaması Çizelge 5.2'de gösterilmektedir. Buna göre kontrol grubundaki dokularda hasar oluşumu gözlenmemiştir. Ancak alkol verilmesiyle gastrik mukozanın bütünlüğü bozulmuş lezyon skoru 2.7 ± 0.6 değerinde bulunmuştur. Ebselen+absolu alkol uygulaması sonrasında incelenen preparatlarda belirgin derecede gastrik mukoza hasarında indirgenme olup, lezyon değeri 0.6 ± 0.16 'dır. Ebselen yerine famotidin verilmesiyle absolu alkol grubuna göre indirgenme olmuştur ancak anlamlı derecede azalmayan hasarın mikroskopik lezyon skoru 1.3 ± 0.34 değerinde ölçülmüştür.

Biyokimyasal bulgular:

Biyokimyasal ölçümlerin sonuçları Çizelge 5.3.'te gösterilmiştir. Kontrol grubu değerlerinde herhangi bir anormal durum ölçülmemiştir. Gruplardaki sırasıyla eritrosit MDA ve gastrik doku MDA değerleri şu şekildedir. Kontrol grubunda eritrosit MDA, 8.94 ± 1.06 $\mu\text{mol/g}$ Hb ve 91 ± 11 $\mu\text{mol/g}$ protein, ancak B grubunda 16.15 ± 2.04 $\mu\text{mol/g}$ Hb ve 136 ± 23 $\mu\text{mol/g}$ protein, C grubunda 9.89 ± 1.23 $\mu\text{mol/g}$ Hb ve 99 ± 13 $\mu\text{mol/g}$ protein, D grubunda 14.76 ± 1.9 $\mu\text{mol/g}$ Hb ve 129 ± 21 $\mu\text{mol/g}$ protein değerlerinde ölçülmüştür. Absolu alkol verilmesiyle gruplar arasında eritrosit ve doku MDA değerleri, en yüksek olarak ölçülmüştür. Ebselen+absolu alkol verilmesi ile kontrol grubuna yakın değerler izlenmiştir. Anlamlı derecede azalma göstermiştir ($P < 0.05$) ancak famotidin+absolu alkol grubu MDA değerinde belirgin azalma olmamıştır.

NO sentezi, absolu alkol verilmesiyle kontrol grubu değerlerine göre artış göstererek 7.41 ± 1.21 $\mu\text{mol/l}$ değerinde, ebselen+absolu alkol verilmesiyle NO sentezi belirgin biçimde durdurulmuş olup 5.23 ± 0.84 $\mu\text{mol/l}$ kontrol grubuna çok yakın değerlerde (4.14 ± 0.66 $\mu\text{mol/l}$) ölçülmüştür. Famotidin+absolu alkol verilmesiyle istatistiksel olarak anlamlı bir düşme gözlenmemiştir ($P < 0.05$) ve NO değeri 7.03 ± 1.15 $\mu\text{mol/l}$ seviyesindedir.

Dokudaki GPx değeri ise kontrol grubunda, 0.38 ± 0.03 U/mg protein değerinde ölçülmüştür. Absolu alkol verilmesi bu enzimin seviyesini 0.22 ± 0.03 U/mg protein değerine düşürmüştür. Ancak ebselen+absolu alkol verilmesi ile GPx değeri, 0.32 ± 0.03 U/mg protein ve famotidin+absolu alkol uygulaması etkisiyle 0.24 ± 0.03 U/mg protein ölçülmüştür. Bu sonuçlara göre B ve D grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. ($P<0.05$) Halbuki ebselenin etkisiyle artan GPx seviyesi B grubu ile karşılaştırıldığında arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır.

A grubu; 21.56 ± 9.58 U/mg protein. B grubu; 11.89 ± 1.31 U/mg protein, C grubu; 19.06 ± 2.21 U/mg protein, D grubu; 13.28 ± 1.28 U/mg protein olarak ölçülen dokudaki SOD değerleri gruplar arasında karşılaştırılacak olursa B ve C grubu arasındaki farklılık önem taşımaktadır. ($P<0.05$) Ancak D grubundaki SOD artışı B grubuna göre dikkate değer nitelikte değildir. ($P<0.05$)

Gastrik dokudaki CAT değerleri, kontrol grubunda 0.35 ± 0.02 k/mg protein, absolu alkol verilenlerde 0.22 ± 0.02 k/mg protein, ebselen+etanol verilenlerde 0.31 ± 0.02 k/mg protein, famotidin+etanol verilenlerde 0.23 ± 0.02 k/mg protein'dir. Ebselen etkisiyle bu enzim seviyesi kontrol grubuna yakın değerlerde izlenmiştir. B grubuna göre ebselen verilmesiyle oluşan değerler farkı anlamlılık göstermektedir. ($P<0.05$) Famotidinin koruyucu etkisi önemsiz bulunmuştur. ($P<0.05$)

Şekil 5.21.'de tüm verilerin diskriminant analizine göre oluşturulmuş grafiği bulunmaktadır. Buna göre gruplar arasındaki değerlerin farklılığı görülmektedir. Ancak A ve C gruplarının değerleri, birbirine B ve D grundan daha yakın, B ve D gruplarının değerleri diğer gruplardan daha yakın ölçülmüştür.

Çizelge 5.1 Makroskopik gastrik lezyon alanlarının ortalaması ve standart sapması. Değerler için \pm Standart Sapma hesaplanmıştır. n= Sıçan Sayısı

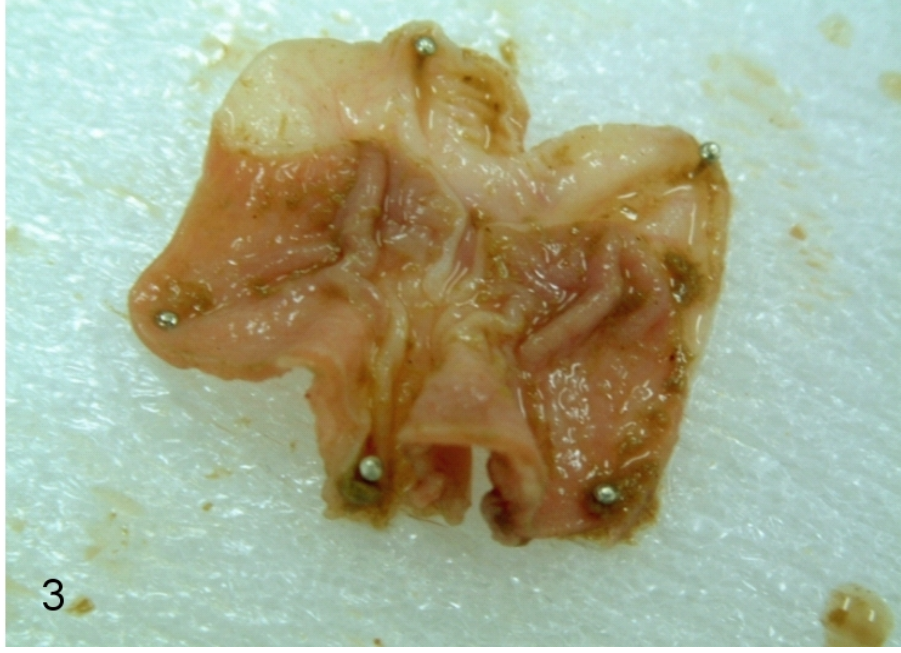
| Gruplar | Makroskopik Lezyonlar (mm²) |
|----------------|---|
| A (n=8) | 0 |
| B (n=6) | 61.2\pm3.9 |
| C (n=8) | 14.3\pm1.1 |
| D (n=7) | 18.2\pm1.2 |



Şekil 5.1. Kontrol grubu mide yüzeyi makroskopik görüntüsü.



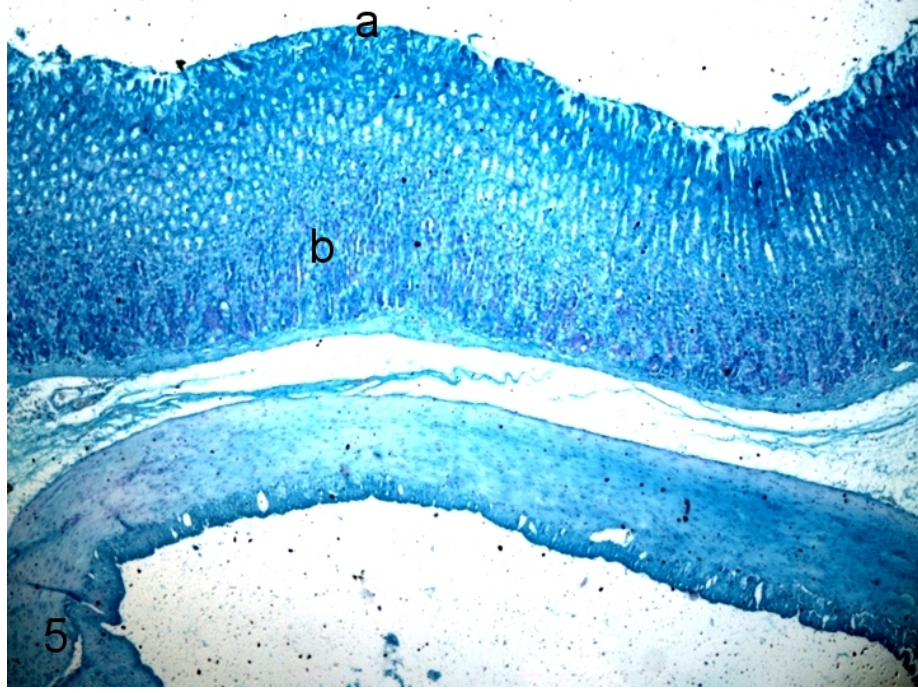
Şekil 5.2. Mide yüzeyi makroskopik görüntüsüne absolu alkolün etkisi. Absolu alkol verilen grupta mide yüzeyinde yaygın hemoraji. Kanama alanları çıplak gözle dahi görülmektedir.



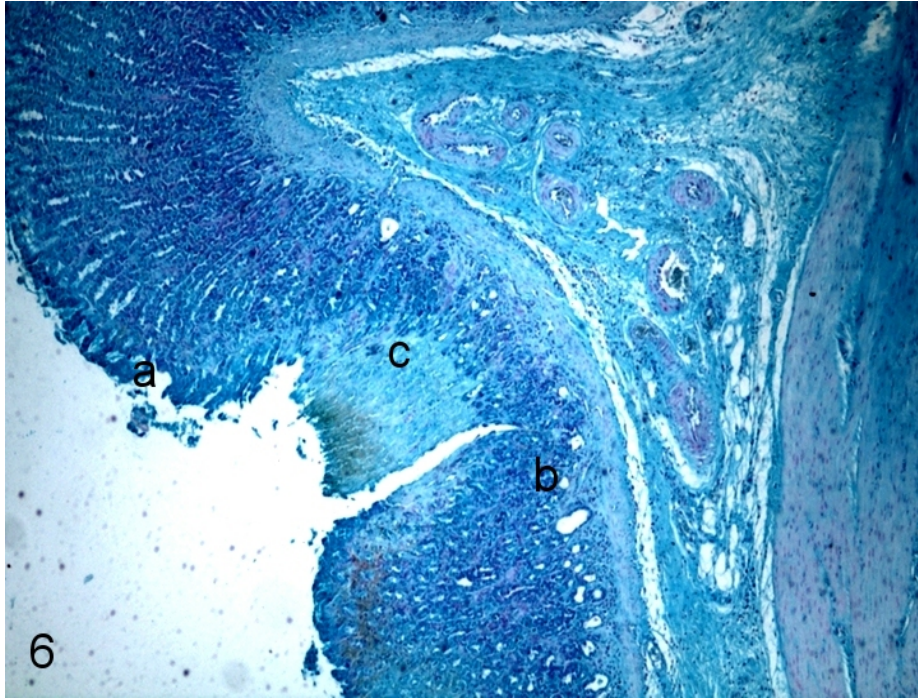
Şekil 5.3. Ebselen(30mg/kg)+alkol grubu mide makroskopik görünümü. Çok az kanama odakları ve normale yakın görünüm, kanama alanlarının belirgin derecede indirildiği incelenmektedir.



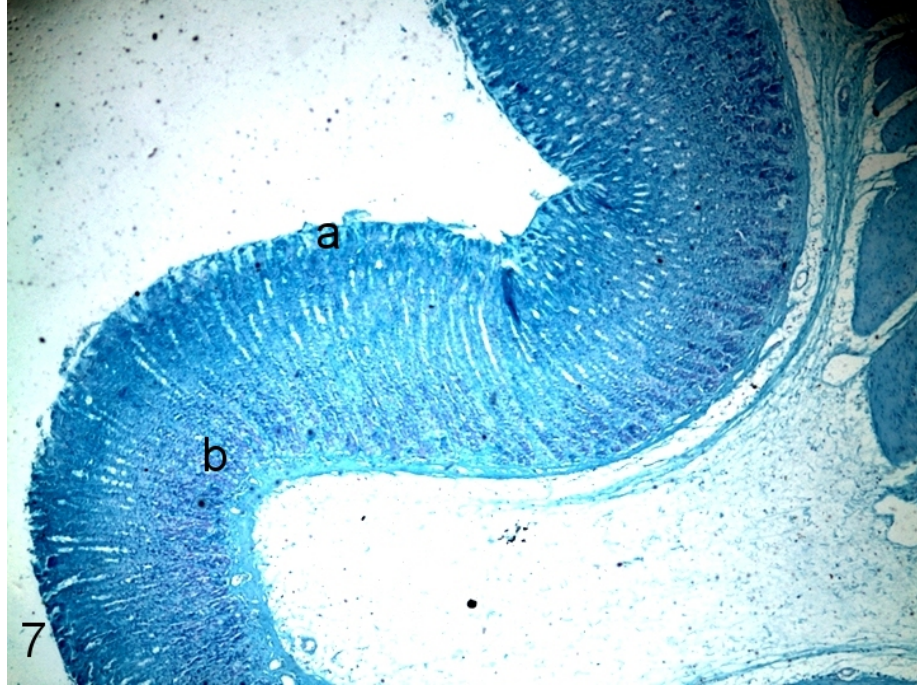
Şekil 5.4. Famotidin(20mg/kg)+alkol grubu mide makroskopik görünümü. Alkol grubuna oranla çok az kanama odağı görülmektedir.



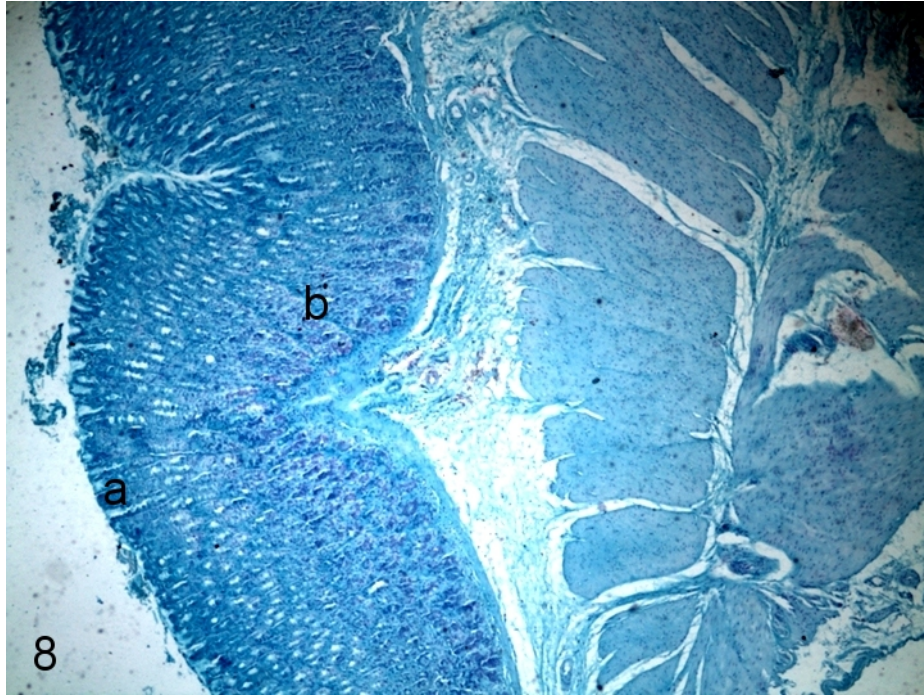
Şekil 5.5. Kontrol grubu mide mikroskopik görüntüsü (Alcian blue, 40x). Kontrol grubuna ait gastrik dokuda mukoza tabakasındaki tek katlı prizmatik epitel hücrelerinde bütünlük (a) ve lamina propria içindeki gastrik bezlerde (b) düzenli yapı görünmektedir. Midenin genel görünümünde de yapısal bütünlük izlenmektedir.



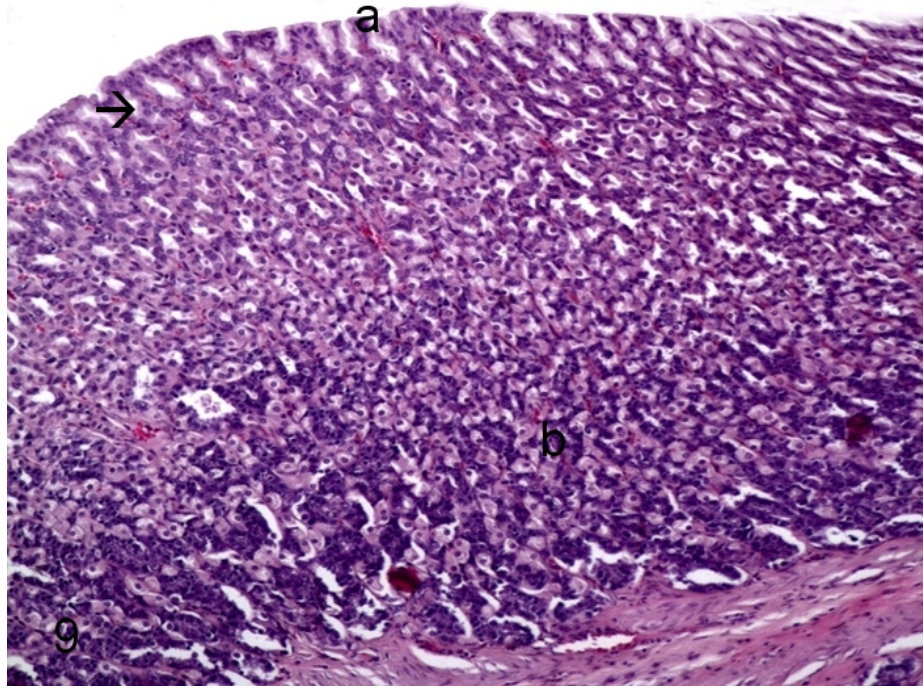
Şekil 5.6. Absolu alkol grubu mide mikroskopik görüntüsü, (Alcian blue, 40x). Yüzey mukus hücrelerinde (a) yoğun hasar lümeneye dağılmış hücreler bulunmaktadır. Mukoza derinlerine kadar çeşitli seviyelerde hasar gözlenmektedir. Gastrik bezlerde (b) hasarın, mukoza katında nekroz alanlarının (c) olduğu durum.



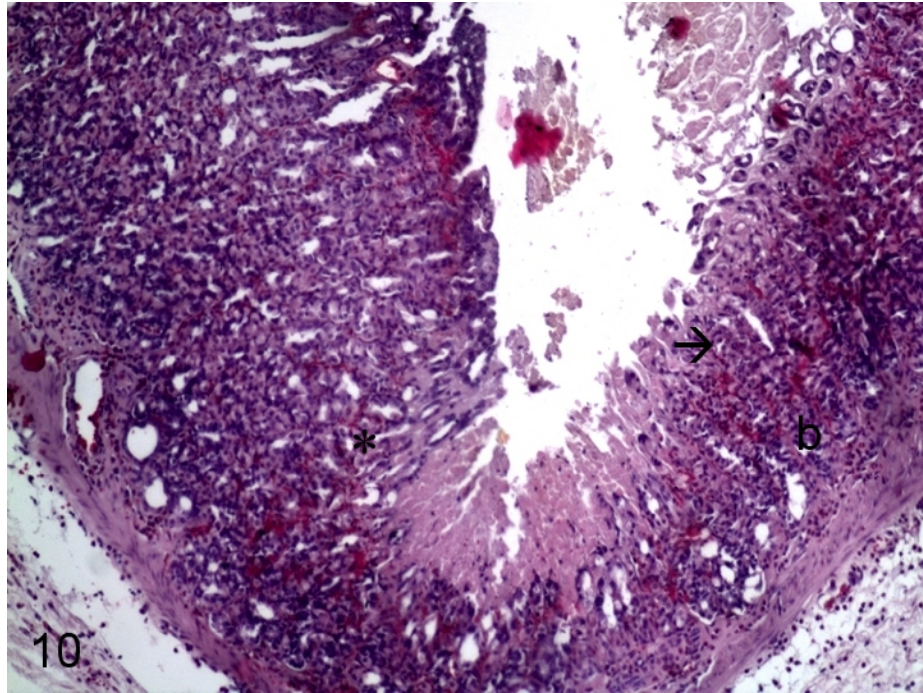
Şekil 5.7. Ebselen+alkol grubu mide mikroskobik görüntüsü, (Alcian blue, 40x). Yüzeş mukus hücrelerinin (a) yapısını yüksek oranda koruduğu, gastrik bez (b) yapısının düzenli olduğu izlenmektedir. Ebselen (30mg/kg) verilmesiyle dokunun bütünlüğünün kısmen korunduğu göze çarpmaktadır.



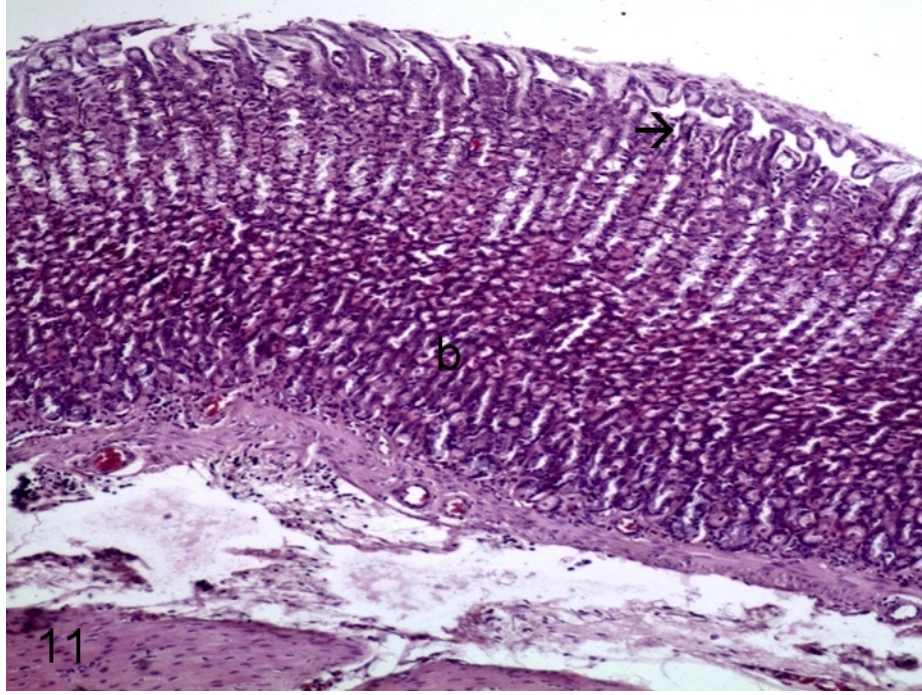
Şekil 5.8. Famotidin+alkol grubu mide mikroskobik görüntüsü, (Alcian blue, 40x). Etanol verilmesinin öncesinde famotidin (20mg/kg) verildiğinde epitel hücrelerinin (a) bütünlüğü kısmen devam etmektedir. Lümeninde az miktarda dökülen hücreler var, ancak gastrik bezlerin (b) bir kısmı sağlam.



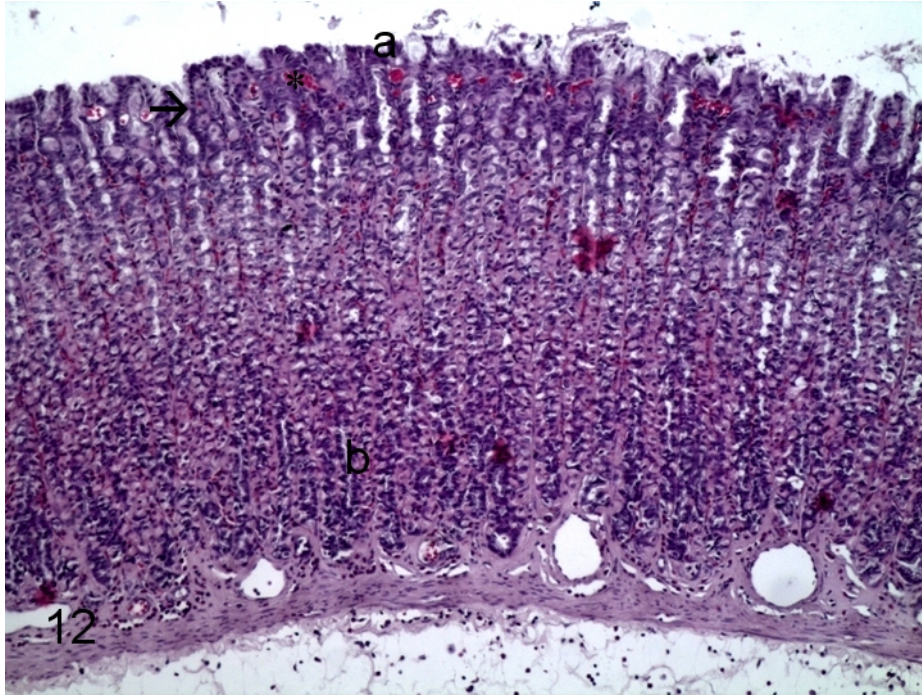
Şekil 5.9. Kontrol grubu mide mikroskopik görüntüsü, (Hematoksilen-Eozin 100x). Normal mide yapısında yüzey mukus hücrelerinin (a) invajinasyonları olan gastrik pit (→) yapısı daha ayrıntılı olarak görülmektedir. Gastrik bezler (b) bütünlük göstermektedir.



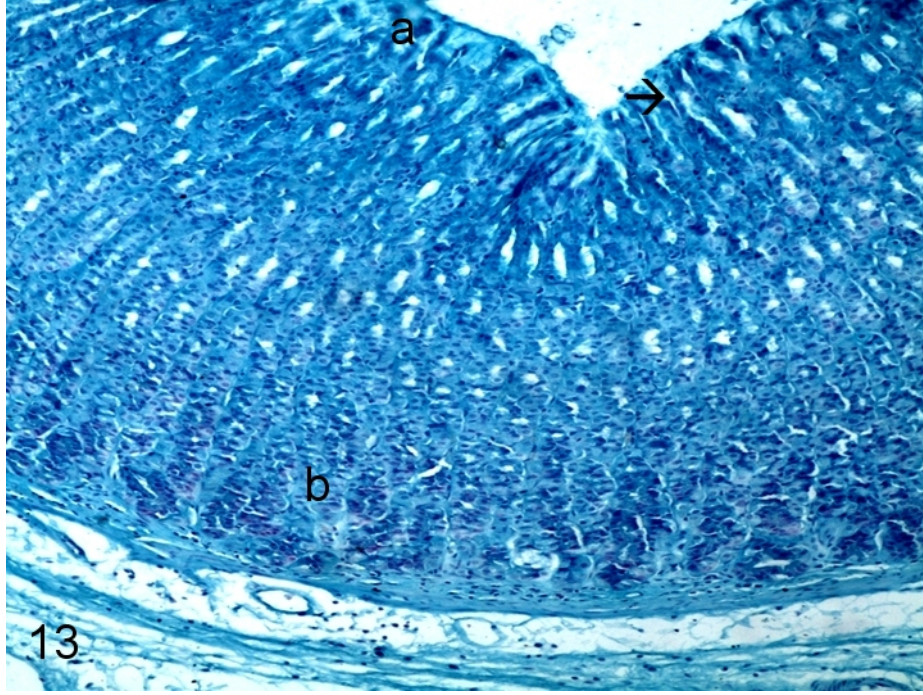
Şekil 5.10. Absolu alkol grubu mide mikroskopik görüntüsü, (Hematoksilen-Eozin 100x). Belirgin mukozal hücre harabiyeti, epitel katındaki hücrelerin yoğunlukla lümeneye döküldüğü, gastrik bezlerin (b) ve gastrik pitlerin (→) dağınık yapıda olduğu dikkati çekmektedir. Mukozada ödem ve kanama alanlarını (*) göze çarpmaktadır.



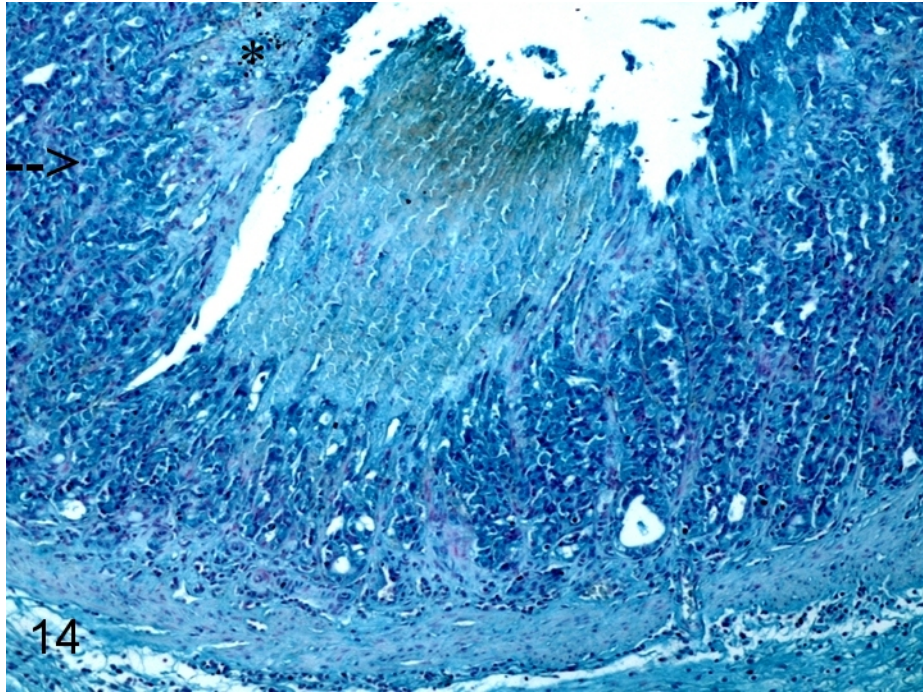
Şekil 5.11. Ebselen grubu mide mikroskopik görüntüsü, (Hematoksilen-eozin 100x). Kısım devam eden mukozal bütünlük izlenmektedir. Gastrik bezlerin (b) ve gastrik pitlerin (→) yapısı korunmuş ancak lümeninde çok az miktarda hücre dökülmesi vardır.



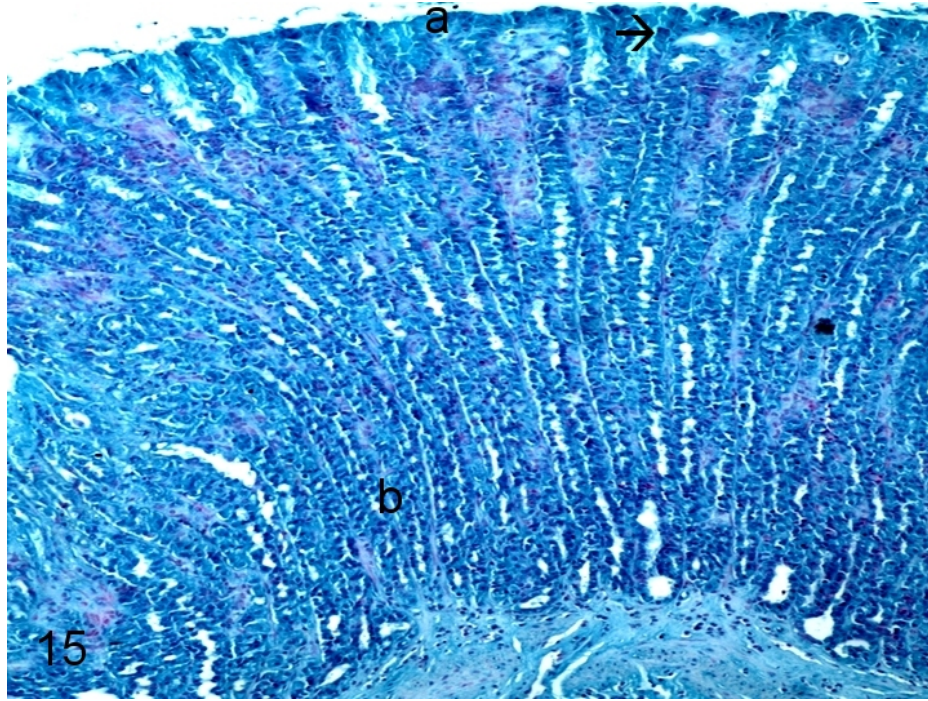
Şekil 5.12. Famotidin grubu mide mikroskopik görüntüsü, (Hematoksilen-eozin 100x). Yüzey mukus hücrelerinin (a), gastrik bezler (b) ve gastrik pitlerin (→) bazı bölgelerinde bütünlük izlenmemektedir. Kanama alanları (*) mukozanın derinlerine kadar inmemektedir. Mukozanın bir kısmı korunmuş durumdadır.



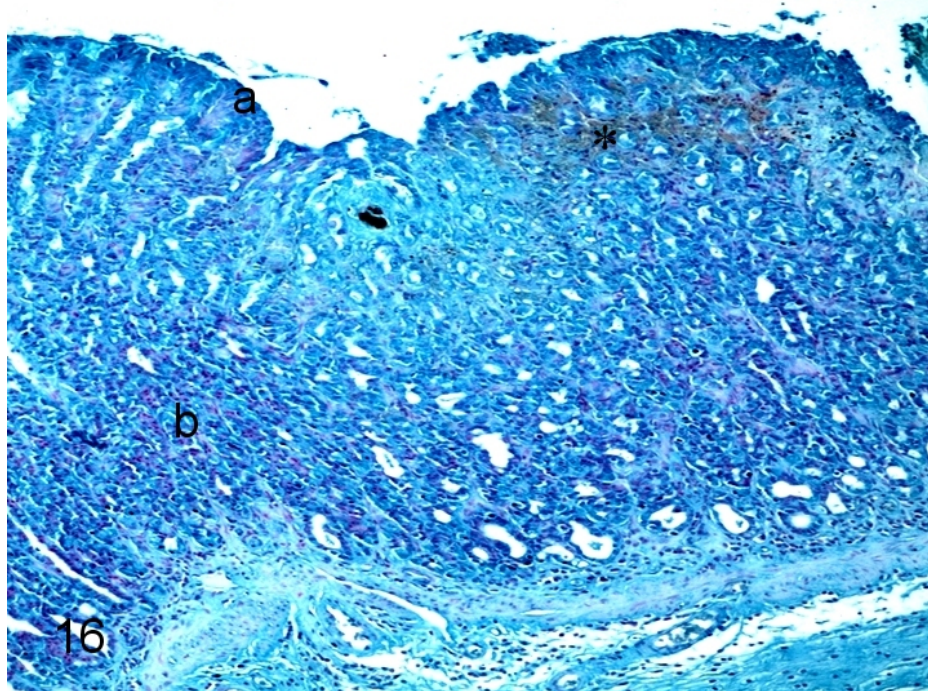
Şekil 5.13. Kontrol grubu mide mikroskopik görüntüsü, (Alcian blue, 200x). Nötral olan mukusun çok açık mavi renkte boyandığı ve tek katlı prizmatik epitel hücrelerini (a) ve gastrik pitleri (→) çevrelediği görülmektedir. Düzgün yapıdaki gastrik bezler (b) izlenebilmektedir.



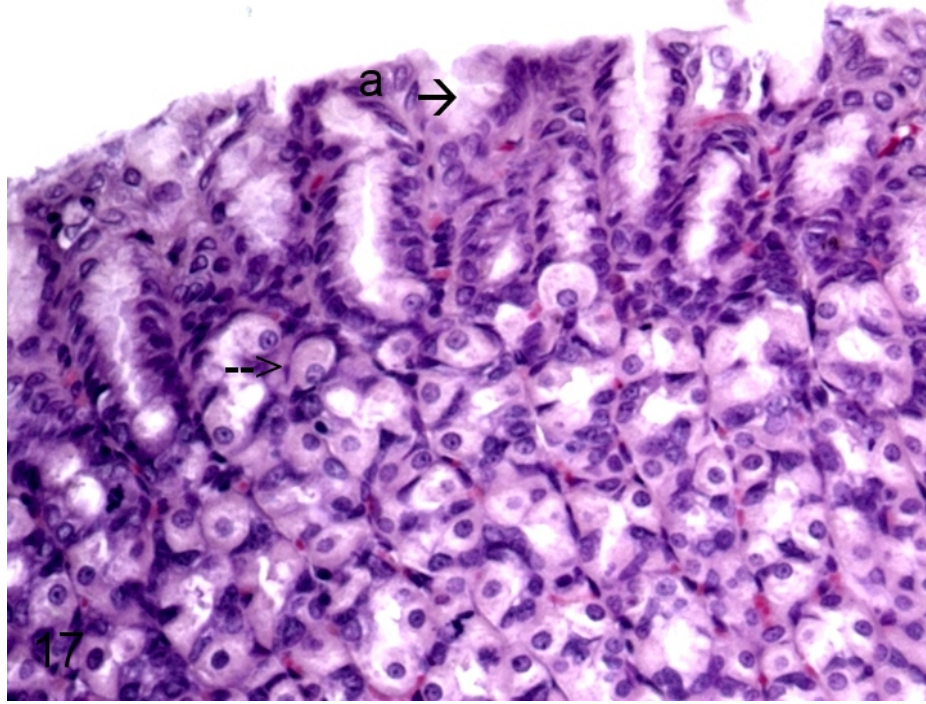
Şekil 5.14. Absolu alkol grubu mide mikroskopik görüntüsü, (Alcian blue, 200x). Yüzey mukus hücreleri tamamen hasar görmüş durumda. Belirgin mukozal hücre harabiyeti ile birlikte parietal hücre (-->) artışı izlenmektedir.



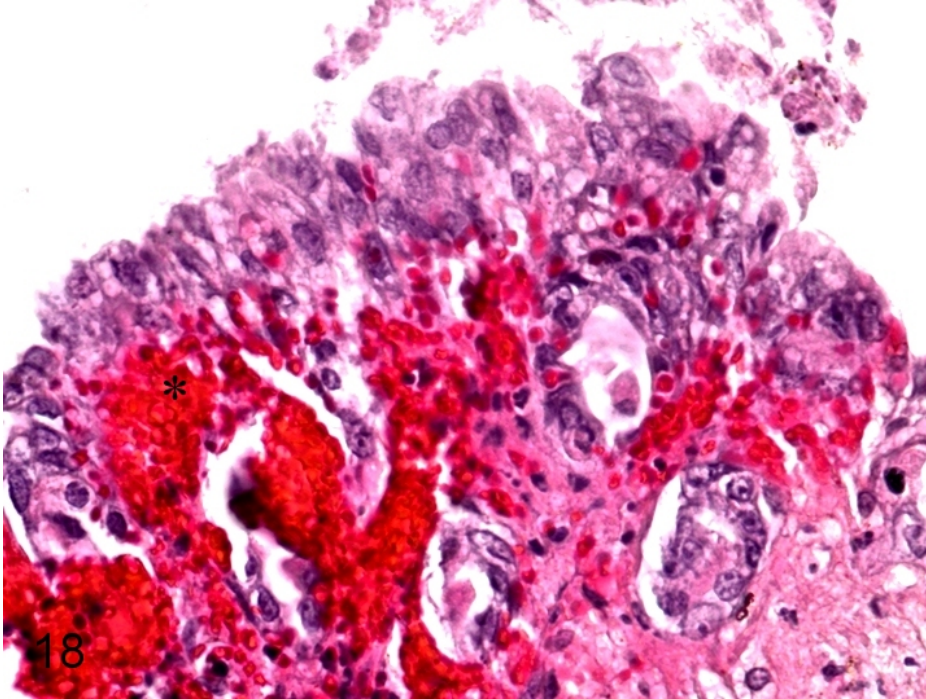
Şekil 5.15. Ebselen grubu mide mikroskopik görüntüsü, (Alcian blue, 200x). Genel olarak mukoza bütünlüğünün kısmen devam ettiği ve hasarın bir dereceye kadar indirildiği durumdur. Yüze mukus hücrelerin (a) ve gastrik pitlerin (→) yapısının hafif derecede bozulduğu ve gastrik bezlerin (b) sağlam olduğu izlenmektedir.



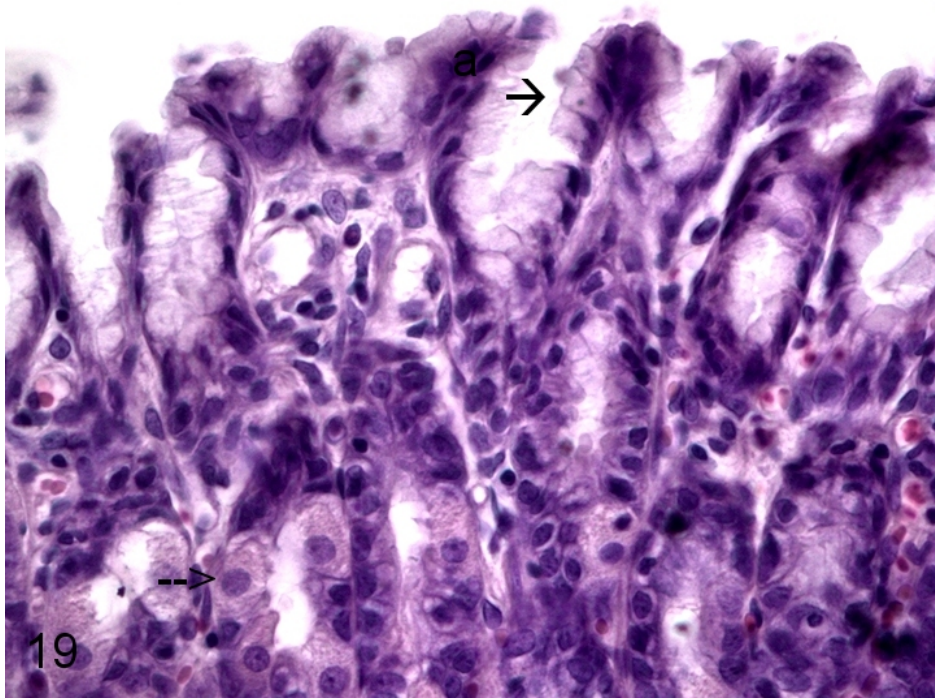
Şekil 5.16. Famotidin grubu mide mikroskopik görüntüsü, (Alcian blue, 200x). Bu preparatta gastrik bezlerde düzensizlik izlenmektedir.



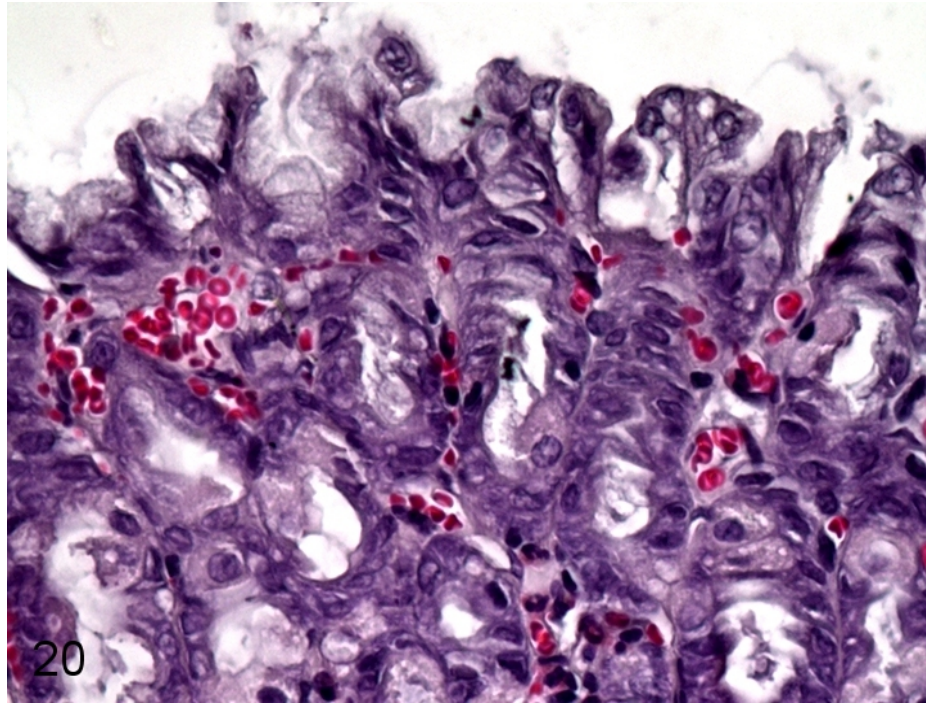
Şekil 5.17. Kontrol grubu mide mikroskopik görüntüsü, (Hematoksilen-eozin 400x). Tek katlı prizmatik epitel hücrelerinin (a) şekilleri ayırt edilmektedir. Gastrik pit (→) yapısı sağlam. Çok açık renkli boyanmış olan mukus, epitelyal bölgeyi ve gastrik pitleri sarmaktadır. Soluk boyanmış asidofil olan parietal hücreler (→) pembe gözlenmektedir.



Şekil 5.18. Absolu alkol grubu mide mikroskopik görüntüsü, (Hematoksilen-eozin 400x). Belirgin mukozal hücre infiltrasyonu ve yüzeyin kısmen sindirilmiş kanla örtülü olduğu görülmekte. Yoğun olan kanama alanlarının (*) yanısıra, yapıları belli olmayan epitel hücreleri dağılmış, lümeneye dökülmüş hücreler yaygın durumdadır.



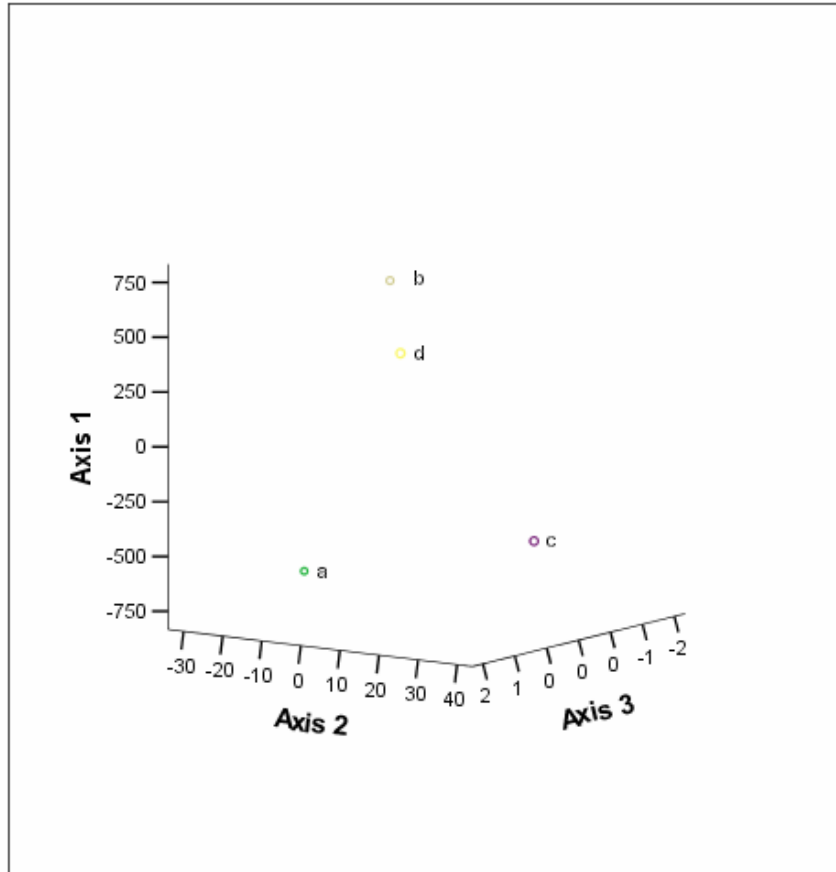
Şekil 5.19. Ebselen grubu mide mikroskopik görüntüsü, (Hematoksilen-eozin 400x). Epitel hücrelerinin (a) korunmuş olan yapısı mukusun devamlılığı parietal hücreler (-->) izlenmektedir. Gastrik pitler (→) düzenli görünümündedir.



Şekil 5.20. Famotidin grubu mide mikroskopik görüntüsü, (Hematoksilen-eozin 400x). Famotidin epitel hücrelerinin morfolojisinin ve bütünlüğünün korunmasında ebselen kadar etkili olmadığı izlenmektedir ancak alkol grubu ile karşılaştırıldığında kısmen korunduğu gözlenmektedir.

Çizelge 5.2. Mikroskobik gastrik lezyon alanlarının hesaplanması. Değerler için \pm Standart Sapma hesaplanmıştır.

| Gruplar | Mikroskobik Lezyonlar |
|---------|-----------------------|
| A (n=8) | 0 |
| B (n=6) | 2.7 \pm 0.6 |
| C (n=8) | 0.6 \pm 0.16 |
| D (n=7) | 1.3 \pm 0.34 |



Şekil 5.21. Diskriminant analizi değerleri. A,b,c,d deney gruplarını belirtmektedir.

Çizelge 5.3. Biyokimyasal analizlerin sonuçları. Bütün grupların eritrosit MDA ($\mu\text{mol/g Hb}$), serum NO ($\mu\text{mol/l}$) and gastrik doku MDA ($\mu\text{mol/g protein}$), SOD (U/mg protein), GPx (U/mg protein) and CAT (k/mg protein) degerleri verilmiştir. Değerler için \pm Standart Sapma ve ortalama hesaplanmıştır.

| Parametreler | A (n=8) | B (n=6) | C (n=8) | D (n=7) | ANOVA değerleri |
|---------------|------------------|------------------|------------------|------------------|--------------------|
| Eritrosit MDA | 8.94 \pm 1.06 | 16.15 \pm 2.04 | 9.89 \pm 1.23 | 14.76 \pm 1.93 | Anlamli |
| Doku MDA | 91 \pm 11 | 136 \pm 23 | 99 \pm 13 | 129 \pm 21 | Anlamli |
| Serum NO | 4.14 \pm 0.66 | 7.41 \pm 1.21 | 5.23 \pm 0.84 | 7.03 \pm 1.15 | Anlamli |
| Doku SOD | 21.56 \pm 9.58 | 11.89 \pm 1.31 | 19.06 \pm 2.21 | 13.28 \pm 1.28 | Anlamli |
| Doku GPx | 0.38 \pm 0.03 | 0.22 \pm 0.03 | 0.32 \pm 0.03 | 0.24 \pm 0.03 | Anlamli |
| Doku CAT | 0.35 \pm 0.02 | 0.22 \pm 0.02 | 0.31 \pm 0.02 | 0.23 \pm 0.02 | Anlamli |

Grup A,B,C ve D karşılaştırılırsa $P < 0.05$

BÖLÜM 6

TARTIŞMA VE SONUÇ

Oluşan gastrik ülser, ROT üretimi ve lökotirenlerin salınması ile dokunun geçirgenliği üzerinde etkili olup, dokuda iskekiye neden olmaktadır. Özellikle etanol, dokuda iskekiye ve doku hasarına neden olmaktadır. Deneysel araştırmalarda da etanol verilmesiyle oluşturulan akut gastrik ülser modeli kullanılmaktadır (3,122). İn vivo şartlarda yapılan çalışmalarda absolu etanol gastrik dokuda histolojik yönden incelendiğinde kanama odaklarının izlenmesine ve mukozanın hasarına sebep olmuştur (11,12). Bu çalışmada da etanol ile oluşturulan akut gastrik mukoza hasarı sonrasında histolojik yönden incelenen mide mukozasında hasar gözlemlendi. Makroskobik incelemelerde absolu alkolün etkisiyle mide yüzeyinde kanama odakları izlendi. Mikroskobik incelemeler sonucunda gastrik mukozada; epitel altında kanama alanları, lümen içine hücre dökülmeleri gastrik bezlerde ve pitlerde düzensizlik incelendi.

Oksidatif stres oluşturulduğunda, kullanılan ilaçlar ve endojen faktörler gastrik mukozal hasarını hafifletme yönünde çalışmaktadırlar (99,126). Organizmada deneysel olarak oluşturulan hücrelerin hasarında, endojen antioksidan savunmada etken olan maddelerin verilmesi durumunda iyileşme sınırlanmaktadır. Bunlar hızlı metabolize olan ve yüksek moleküler ağırlığa sahip olan solüsyonlardır. Kararsız olan bu solüsyonların, kısa yarılanma ömürleri vardır. Ayrıca bunların proteolitik sindirimi ve maddelerin üretim masrafları söz konusudur (77). Antioksidan maddelerin kullanılmasıyla alkol ile oluşturulan gastrik mukoza hasarının bir dereceye kadar azaldığı belirtilen çalışmalardan yola çıkarak (102,122) bu çalışmada ebselenin koruyucu etkisi araştırılmıştır. Ebselenin GPx'a benzer katalitik aktivitesinden dolayı antioksidan özelliği belirtilmiştir (35). Bu çalışmada, 1 ml absolu alkol ile deneysel olarak oluşturulan akut gastrik mukoza

hasarı histolojik yönden incelenmiş ve bu hasara karşı ebselenin (30 mg/kg) gastroprotektif etkisinin araştırılması amacıyla oluşturulmuştur. Ayrıca bu çalışmada, akut gastik mukoza hasarında famotidinin koruyucu etkisi araştırılmıştır. Gastrik ülser tedavisinde sıklıkla kullanılan H₂ reseptör antagonistlerinin etanol verilmesiyle oluşan akut gastrik mukoza hasarını indirgediği konusunda yapılan çalışmaları göz önünde bulundurarak famotidin verilmiştir (127). Histamin H₂ reseptör antagonistleri H⁺ ve Cl⁻ parietal hücrelerden salınımını baskı altına almaktadırlar (128). Bu nedenle gastrik mukoza bariyerinin yıkımını engellediği düşünülmüştür. Ancak bu çalışmanın sonuçları göstermiştir ki; mikroskopik incelemelerin sonuçlarına göre famotidin yüzey mukus hücrelerinde yapı yönünden etkili biçimde koruma izlenmemiştir.

Gastrik mukozadaki hasar etanol verilmesinden beş dakika sonra kendini göstermektedir (6). ROT üretimiyle proteinlerin, DNA ve lipidlerin hücresel yapısı bozulmaktadır (8,18,19). Midede oluşan hasarın, endojen antioksidan enzimlerin inhibisyonu ile oksijenden türetilen serbest radikallerin üretiminden kaynaklandığı düşünülmektedir (8,19,20). ROT seviyesi, bu türleri uzaklaştırıcı endojen antioksidan mekanizmaların azaldığı durumlarda artış göstermektedir (19,20). Bu çalışmada oksijenden türetilen türlerin neden olduğu doku hasarından koruyan mekanizmalardan biri olan SOD, CAT, GPx antioksidan enzimlerin seviyeleri ölçülmüş ve alkol verilmesiyle histolojik olarak incelenen hasarın artışı, bu enzim seviyelerinin azalması ile ters orantılı olarak gerçekleştiği kanısına varılmıştır.

Etanol verilmesinden bir saat sonra gastrik mukoza makroskopik olarak incelendi. Absolu etanol verilmesiyle mide yüzeyinde yoğun kanama gözlenmekteydi. Bu çalışmada yapılan mikroskopik değerlendirmeler sonucunda, absolu etanol, mukoza ödemi, epitel altı kanama odakları, nekroz alanları gözlemlendi. Etanolün, gastrik mukozadan hızlı bir şekilde emilerek zarların hasarına, dolayısıyla ROT oluşumuna neden olduğu düşünülmektedir. Artan ROT'nin gastrik mukoza bütünlüğünü bozarak yapısal olarak hasara neden olduğunu düşünmekteyiz. Bu çalışmada absolu alkol verilen gruplar morfolojik yönden incelendiğinde önceden

yapılan denemelerin sonuçlarını desteklediği kanısındayız **(11,12)**. Etanolün oluşturduğu bu gastrik mukozadaki hasar, ebselen etkisiyle mikroskobik ve makroskobik olarak azalma göstermiştir. Koruyucu amaçla ebselen verilmesinden sonra incelenen mide yüzeyinde kanama alanları gözle görülür biçimde indirgenmişti. Mikroskobik görüntülerinde ise gastrik pitler ve gastrik bezler düzenli görünmekteydi. Epitel hücreleri kısmen korunmuştu ve prizmatik olan şekilleri yer yer ayırt edilmekteydi. Çok seyrek biçimde kanama alanları mevcuttu. Famotidin verildiğinde makroskobik incelemeler sonucunda gastrik mukoza hasarı indirgenmiş, ancak mikroskobik lezyon skoru oluşturulduğunda, absolu alkol grubuna göre önemli derecede indirgenme gözlenmemiştir. Ebselen kadar koruyucu özellik göstermiş olan famotidin verilmesiyle kanama alanları alkol grubuna göre azalmıştır. Alkol grubundaki kadar yoğun hücre dökülmesi yoktu. Gastrik pitler tamamen düzensiz bir yapı göstermemektedir.

Birçok durumda kullanılabilir iyileştirici özelliği bulunan seleno-organik bileşik olan ebselen (2- phenyl- 1,2-benzisoselenol- 3(2H)-one), oksidatif stresin neden olduğu hasarda koruyucu potansiyeli olan ilk bulunan bileşiktir. İnflamatuvar etkenler nedeniyle oluşan klinik rahatsızlıklarda iyileştirici etkisi incelenen, anti-inflamatuvar aktiviteye sahip olan ebselen, koruyucu özellik gösterebilmektedir **(30)**. GPx aktivitesine benzerliğinden dolayı ebselen ile ilgili çalışmalar son yıllarda artmıştır **(34)**. Bu özelliklerinden dolayı bu çalışmada kullanılan ebselen, düşük moleküler ağırlıklı **(31)**, seleno-organik bir bileşiktir ve dolayısıyla antioksidan özelliğe sahiptir **(31,80)**. Deneysel olarak hücre hasarı oluşturulduğunda, ebselenin hücre koruyucu özelliğe sahip olduğu araştırılmıştır **(31)**. GPx aktivitesine benzerliğinden dolayı organik selenyum bileşiklerinin farmakolojik uygulamalarda ve oksidatif stres ile hasar oluşan durumlarda antioksidan özelliğinden dolayı yararlı olduğunu düşünmekteyiz **(35,83,90)**. Oluşturulan karaciğer hasarında, ebselenin hücrelerdeki hasarı indirgediği yönünde çalışmalar yapılmıştır **(98)**. Ebselen, alkolün karaciğere verdiği hasara karşı kullanıldığında koruyucu etki göstermiş, inflamasyonu ve oksidatif stresi azaltarak alkolün neden olduğu hücre hasarından dokuyu korumuştur **(129)**. Ebselen ile ilgili klinik denemelerde önemli adımlar atılmıştır. Ebselen, erken

tedavi sırasında akut iskemik hasarlarda subaraknoid hemorajiden sonra nörolojik olarak hasarları indirgeyebilmiştir **(130)**. Ebselenin deneysel olarak oluşturulan doku hasarını indirgemesi üzerine yapılan denemelerin sonuçlarını destekleyecek yönde sonuçlar elde edilen bu çalışmada, ebselenin verilen dozda absolu etanol ile oluşturulan akut gastrik mukoza hasarına karşı gastrik dokuyu koruyucu etki göstermiştir. Aynı zamanda ebselen, hasar oluşturan ajanlara karşı gastrik mukozada oluşan nekroz alanlarını inhibe etmektedir ve yüzey mukus hücrelerinin hasarını bir dereceye kadar engelleyebilmektedir.

Etanol verilmesiyle toksik oksijen metabolitleri üretilmektedir ve bu nedenle GSH oksidasyonu gerçekleşmektedir. Ancak hücre içi glutatyon seviyesinin artmasıyla gastrik mukoza hasarının indirgediği düşünülmektedir **(3,126)**. Ebselenin en önemli özelliklerinden biri GSH oksidasyonunu gerçekleştirememesidir. Bu sayede serbest radikal artışı bir dereceye kadar indirgenmektedir. **(90)**. Bu özelliğinden dolayı ebselenin, absolu alkol ile oluşturulan akut gastrik hasarı indirgediği düşünülmektedir.

Antioksidan savunma sisteminin enzimatik ve enzimatik olmayan bileşenlerinin etkisiyle ROT uzaklaştırabilmektedir ancak ROT indirgenemediği durumlarda lipid peroksidasyonu süreci başlamaktadır **(13)**. Etanol etkisiyle artan serbest radikaller, lipid peroksidasyonunun başlamasını tetiklemektedir **(18)**. Artış durumunda, lipid peroksidasyonunun ürünlerinden olan MDA artışı söz konusudur **(16,17,87)**. Bu çalışmada da absolu alkol verilmesiyle MDA seviyesi artış göstermiştir. Buna bağlı olarak lipid peroksidasyonunun artış gösterdiği düşünülmektedir. Serbest radikallerin etkisiyle ilk adımda, zar bütünlüğünü sağlayan doymamış yağ asitleri ile etkileşimi sonucunda yapının değişmesiyle dokunun bütünlüğü bozulmaktadır **(13,14)**. Yapılan araştırmalara ve bu çalışmanın sonuçlarına göre lipid peroksidasyonun artışı ile doku hasarının artış gösterdiği söylenebilir. Bu artış hücrelerde yapı ve fonksiyon bakımından aksaklıklara ve hatta hücre ölümlerine neden olmaktadır **(87)**. Yapısal ve fonksiyonel bozukluklar sonucu oluşan veya deneysel olarak oluşturulan patolojik durumlarda antioksidan maddelerin kullanılması ile membran bütünlüğünü bozan

lipid hidroperoksitlerini indirgeyebilmektedir **(131)**. Lipid hidroperoksitlerini etkili biçimde uzaklaştırabilen ebselen **(32,33)**, lipid peroksidasyonunun indeksinin belirlenmesinde kullanılan biyokimyasal ölçümler sonucunda elde edilen doku ve eritrosit MDA değerlerini indirgediği incelenmiştir. Buna göre MDA seviyesindeki artışa bağlı olarak artan lipid peroksidasyonu, morfolojik yönden incelenen gastrik mukoza hasar derecesinin artışına neden olduğu biyokimyasal ölçümlerle de desteklenmiştir. Absolu alkol grubuna göre ebselen+absolu alkol verilmesi ile önemli derecede azalan MDA değerleri ve histolojik değerlendirmelerde de dokunun hasarında azalma olması ile bağlantılı olarak lipid peroksidasyonunda düşüş olduğu sonucuna varılmıştır. Ebselenin doku koruyucu özelliğinin buna bağlı olduğu düşünülmektedir **(88)**.

Biyokimyasal ölçümler kontrol grubu ile karşılaştırılacak olursa %100 alkol, SOD, CAT, GPx aktivitesini kontrol grubu değerlerine göre belirgin derecede azaltmaktadır. Antioksidan enzim seviyelerinin azalması ile ROT uzaklaştırılmayacak ve hücrelerde hasar oluşacağı sonucuna varılmıştır.

Bu çalışmanın bulgularına göre, ebselenin NO inhibisyonunu gerçekleştirdiği ve nitrikoksit sentaz enziminin aktivitesini sınırladığından dolayı olduğunu düşünmekteyiz **(33,94)**. NO seviyesi kontrol grubuna yakın değerlerde izlenmiştir. B grubunda artan NO sentezi, koruyucu olarak ebselen verilmesiyle indirgenmiştir. D grubunda NO seviyesinde önemli derecede azalma ölçülmemiştir. GPx'in katalitik aktivitesine benzerliğinden dolayı aktivitesinden dolayı absolu alkol verilmesiyle azalan GPx seviyesini, artırma yönünde etki göstermiştir. Alkol etkisiyle azalan SOD ve CAT antioksidan enzim seviyelerinde de düşüş gözlenmiştir. Ebselen SOD, CAT, GPx enzim seviyelerini istatistiksel olarak dikkate değer biçimde yükseltmiş olduğu bu nedenle akut gastrik mukoza hasarından koruyucu özelliğe sahip olabileceği kanaatindeyiz. Hücrenin oksidatif hasara karşı oluşturduğu endojen antioksidan enzimler olan SOD, CAT, GPx serbest radikallerin neden olduğu toksisiteyi sınırlandırmaktadır **(67)**. Bu sonuçtan yola çıkarak, ebselen bu çalışmada, serbest radikallerin toksik etkisini sınırlandırarak hasarı indirgediği düşüncesindeyiz. Famotidin etkisiyle bu enzim

seviyeleri alkol grubuna yakın değerlerde ölçülmüş, aralarındaki fark anlamlı değildir. Bu yüzden famotidinin ölçülen biyokimyasal parametreler açısından, ebselen kadar koruyucu özellik göstermediği düşüncesindeyiz. SOD enzimatik aktivitesi hücrelerin antioksidan özelliklerin belirlenmesiyle ilişkilidir. Ebselen verilen grupta SOD aktivitesi kontrol grubuna yakın değerlerde belirlenmiş ancak etanol verilen gruptakilerde belirgin bir azalma ölçülmüştür. CAT aktivitesinde de etanol verilmesiyle aynı şekilde düşüş gözlenmiştir. Ancak ebselenin koruyucu olarak verilmesi, SOD, CAT ve GPx aktivitelerinde gözlenen artış ile kontrol grubu değerlerine yakın değerlerde ölçülmesine neden olmuştur. Her biyokimyasal parametre, gruplar arasında değerlendirilecek olursa aralarındaki fark anlamlıdır. Ancak makroskobik, mikroskobik ve biyokimyasal ölçümlerin sonuçları diskriminant analizine göre değerlendirilecek olursa; gruplar arasındaki farklılık A ve B grupları arasında en fazladır. C grubu sonuçları, A grubuna daha yakın değerlerdedir. Bu nedenle ebselen etkisiyle SOD, CAT ve GPx seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı derecede artış söz konusudur. Ebselen+absolu alkol verilmesiyle elde edilen tüm verilerin diskriminant analizi sonuçlarına göre diğer B ve D grubu ile karşılaştırılacak olursa kontrol grubuna daha yakın değerlerde ölçülmüştür. Buna göre ebselenin gastrik mukozadaki hasarını famotidine göre daha fazla indirdiği kanısındayız.

Bu sonuçlara göre absolu alkol verilmesi ile oluşturulan akut gastrik mukoza hasarında gastrik mukozadaki muhtemel koruyucu etkisi araştırılan ebselenin belirtilen dozda verildiğinde histolojik değerlendirmeler sonucu ebselenin koruyucu etkisi gözlenmektedir. Etanol ve ebselen grupları karşılaştırıldığında, biyokimyasal incelemelerin sonuçlarına göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiğinden dolayı ve histolojik bulguların sonuçlarını desteklemektedir. Histamin H₂ reseptör antagonisti olan famotidinin gastrik hücreleri koruyucu etkisi nekroz oluşturan ajanların dozuna bağlı olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada akut gastrik mukoza hasarı incelendiğinden, etkisini uzun sürede gösteren bir madde olan famotidin bu yüzden etkili biçimde koruma göstermediği düşünülmektedir (99). Bu nedenle ileride bu konuda yapacağımız çalışmalarda famotidinin bu özelliği gözönünde bulundurularak deneysel modellerin

oluřturulması dűřünűlmektedir. lűlen biyokimyasal parametrelere ve histolojik deęerlendirmelere göre; ebselenin akut gastrik mukoza hasarını koruyucu etkisi olduęu sonucuna varılmıřtır.

Bu sonuçlardan yola çıkararak, sıçanlarda etanol ile oluşturulan akut gastrik mukozal hasara karşı ebselenin hűcre koruyucu özelliğinin gösterilmesi ve koruyucu mekanizmasının anlaşılması űzerine yapılan diğer çalışmalara yol göstermek amacıyla bir adım olabileceği kanısındayız. Bu alışma, ebselenin antioksidan özelliğini desteklediğinden dolayı, klinik açısından da önemli olacağı kanaatindeyiz. Ebselenin etki mekanizmasının daha iyi anlaşılması ileride yapılacak çalışmalara yol gösterecektir.

KAYNAKLAR

1. **Gole RK, Bhattacharya S.K.** Gastroduodenal mucosal defense and mucosal protective agents. *Ind J Exp Biol* 1991;29:701–14.
2. **Konturek PC, Duda A, Brzozowski T, Konturek SJ, Kwiecien S, Drozdowicz D, Pajdo R, Meixner H, Hahn EG.** Activation of genes for superoxide dismutase, interleukin-1 β , tumor necrosis factor- α and intercellular adhesion molecule-1 during healing of ischemia-reperfusion gastric injury. *Scand J Gastroenterol* 2000;35(5):452-63.
3. **Pihan G, Regillo C, Szabo S.** Free radicals and lipid peroxidation in ethanol- or aspirin-induced gastric injury. *Dig Dis Sci* 1987;32:1395–01.
4. **Pery, M.A., Wadhwa, S., Parks, D.A., Pickard, W. and Granger DN.** 1986. , Role of oxygen radicals in ischemia-induced lesions in the cat stomach. *Gastroenterology* **90**, pp. 362–67.
5. **Cochran RA, Stefanko J, Moore C, Saik R.** Cytotoxic-free radicals in stress ulcerations. *Surg Forum* 1982;28:159–61.
6. **Mozsik G, Jovar T.** Biochemical and pharmacological approach to genesis of ulcer disease. *Dig Dis Sci* 1988;33: 92-105.
7. **Sun AY, Ingelman-Sundberg M, Neve E, Matsumoto H, Nishitani Y, Minova Y, Fukui Y, Bailey SM, Patel VB, Cunningham CC, Zima T, Fialova L, Mikulikova L, Popov P, Malbohan I, Janebova M, Nespork K, Sun GY.** Ethanol and Oxidative Stress. *Alcohol Clin. Exp Res* 2001;25:237-43.
8. **Szelenyi I, Brune K.** Possible role of oxygen free radicals in ethanol-induced gastric mucosal damage in rats. *Dig Dis Sci* 1988;33: 865-71.
9. **Konturek SJ, Stachura J, Konturek JW.** Gastric cytoprotection and adaptation to ethanol. in “*Alcohol and the Gastrointestinal Tract*” Ed. Preedy VR, Watson RR, CRC Press, New York, 1996, p.123–41.

10. **Szabo S, Trier JS, Brown A, Schnoor J.** Early vascular injury and increased vascular permeability in gastric mucosal injury caused by ethanol in the rat. *Gastroenterol* 1985;88:228-36,
11. **Lacy ER, Ito S.** Microscopic analysis of ethanol damage to rat gastric mucosa after treatment with prostoglandin. *Gastroenterol* 1985;83:619-25.
12. **Eastwood GI, Kircner JP.** Changes in the fine structure of mouse gastric epithelium produced by ethanol and urea. *Gastroenterol* 1974.67: 71-84.
13. **Freeman BA, Crapo JD.** Biology of disease. Free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982;47: 412-26,
14. **Halliwell B, Gutteridge JM.** The importance of free radicals and catalytic metal ions in human diseases. *Mol Aspects Med* 1985;8(2):89-193.
15. **Menteş G, Eröz B.** *Harper'in Biyokimyası.* Barış Yayınevi, İstanbul. 1993, s.306-7
16. **Esterbauer H, Schaur R.J, Zollner H.** Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med* 1991;11:81–128.
17. **De Groot JJMC, Veldink GA, Vliegthart JFG, Boldingh J, Wever R, Van Gelder BF.** Demonstration by EPR spectroscopy of the functional role of iron in soyabean lipoxygenase-1. *Biochim Biophys Acta* 1975;377:71-9.
18. **Nohl H.** A novel superoxide radical generator in heart mitochondria. *FEBS Lett* 1987;214(2):269-73.
19. **Halliwell B, Gutteridge JM, Cross CE.** Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? *J Lab Clin Med* 1992;119(6):598-620
20. **Brzozowski T, Konturek PC, Sliwowski Z, Drozdowicz D, Hahn EG, Konturek SJ.** Importance of nitric oxide and capsaicin-sensitive afferent nerves in healing of stress lesions induced by epidermal growth factor. *J Clin Gastroenterol* 1997; 25(1):28-38.
21. **Niki E, Noguchi N, Gotoh N.** Dynamics of lipid peroxidation and its inhibition by antioxidants. *Biochem Soc Trans* 1993;21:313–17.
22. **Fligiel S, Lee E, McCoy J, Johnson K, Varani J.** Protein degradation following treatment with hydrogen peroxide. *Am J Pathol* 1984;115: 418–25.

23. **Floyd RA.** Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia. *The FASEB Journal* 1990;4 (9), 2587–97.
24. **Hiraishi H, Terano A, Ota S, Ivey K.J, Sugimoto T.** Oxygen metabolite-induced cytotoxicity to cultured rat gastric mucosal cells. *Am J Physiol* 1987; 253:40-8.
25. **Esplugues JV, Whittle BJR.** Gastric damage following local intra-administration of reactive oxygen metabolites in the rat. *Br J Pharmacol* 1989;97:1085-92.
26. **Robert A.** Cytoprotection by prostaglandins. *Gastroenterol* 1979;77:761.
27. **McGuigan JE.** Peptic ulcer and gastritis. in “*Harrisons Principles of Internal Medicine*”, Ed. Wilson JD, Braunwald E, Isselbacher KJ, Peterdorf RG, Martin JB, Fauchi AS, Root RK. 12th edition, McGraw-Hill, New York, 1991, p.1229.
28. **Nosalova V, Babulova A, Bauer V.** Gastric trans mucosal potential difference: Effect of antisecretory and gastroprotective drugs. *Gen Pharmac* 1988;30(3):325-9,
29. **Konturek PC.** Physiological, immunochemical and molecular aspects of gastric adaptation to stress, aspirin and Helicobacter pylori-derived gastrottoxins. *J Physiol Pharmacol* 1997;48(1):3-42
30. **Muller A, Cadenas E, Graf P, Sies H.** A novel biologically active seleno-organic compound—I. Glutathione peroxidase-like activity in vitro and antioxidant capacity of PZ 51 (Ebselen). *Biochem Pharmacol* 1984;33:3235–9.
31. **Schewe T.** Molecular actions of ebselen an antiinflammatory antioxidant. *Gen Pharmacol* 1995;26(6):1153-69.
32. **Haenen, GRMM, De Rooij BM, Vermeulen NPE, Bast A.** Mechanism of the reaction of ebselen with endogenous thiols: dihydrolipoate is a better cofactor than glutathione in the peroxidase activity of ebselen. *Mol Pharmacol* 1990;37(3):412-22.
33. **Bettger WJ.** Zinc and selenium, site-specific versus general antioxidation. *Can J Physiol Pharmacol* 1993;71(9): 721–4.

34. **Maiorino M, Roveri A, Ursini F.** Antioxidant effect of Ebselen (PZ 51): Peroxidase mimetic activity on phospholipid and cholesterol hydroperoxides vs free radical scavenger activity. *Arch Biochem Biophys* 1992;295(2):404-9.
35. **Leyck S, Parnham MJ.** Acute antiinflammatory and gastric effect of the seleno-organic compound ebselen. *Agents Actions* 1990;30:426–31.
36. **Tabuchi Y, Kurebayashi Y.** Antisecretory and antiulcer effects of ebselen, a seleno-organic compound, in rats. *Jpn J Pharmacol* 1993;61:255–57.
37. **Boyd SC, Sasame HA, Boyd MR.** High concentrations of glutathione in glandular stomach: Possible implications for carcinogenesis. *Science* 1979;205: 4401-13.
38. **Kosower NS, Kosower EM.** The glutathione status of cells. *Int Rev Cytol* 1978;54:109-60.
39. **Masumoto H, Sies H.** The reaction of ebselen with peroxynitrite. *Chem Res Toxicol* 1996;9:262-7.
40. **Masumoto H, Kissner R, Koppenol WH, Sies H.** Kinetic study of the reaction of ebselen with peroxynitrite. *FEBS Lett.* 1996;398:179-82.
41. **Dajani EZ, Klamut MJ.** Novel therapeutic approaches to gastric and duodenal ulcers: an update. *Expert Opin Invest Drugs* 2000;9:1537-44.
42. **Peskar BM, Maricic N.** Role of prostaglandins in gastroprotection. *Dig Dis Sci* 1998;43(9):23–9.
43. **Gartner LP, Hiatt JL.** Digestive System: Alimentary Canal. in “*Color Textbook of Histology*”, Ed. Ware N. II. Edition, W.B. Saunder Company, Philadelphia. 2001, p.379-409.
44. **Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO.** Sindirim Kanalı. “*Temel Histoloji*”, Ed. Aytakin Y ve Solakoğlu S. VII. Edition, a Lange Medical Book, Barış Kitabevi, İstanbul. 1993, 336-370.
45. **Moore KL, Dalley AF.** Abdomen. “*Clinicaly Oriented Anatomy*”, Ed. Kelly PJ. IV. Edition, Lippincott Williams&Wilkins, 1999, p.226-36.
46. **Williams PL, Bannister LH, Berry MM, Collins P, Dyson M, Dussek JE.** Embryology and Development. in “*Gray’s Anatomy*”, Ed. Collins P. Thirty-Eighth Edition, Churcill Livingstone Inc, New York, 1995 p.181-5.

47. **Larsen WJ.** Development of the Gastrointestinal Tract. in “Human Embryology”, Churchill Livingstone Inc, New York, 1993 p.235-80.
48. **Moore KL, Persaud TVN.** Systema Digestorium. in “Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi”, Ed. Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H. 6. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul. 2002, p.271-303
49. **Tekelioğlu M.** Sindirim sistemi. “*Özel Histoloji İnce Yapı ve Gelişme*”, Ed. Tekelioğlu M. Antıp A.Ş. Yayınları, Ankara. 2002, p.49-92.
50. **Felipe I.** Mucins in the human gastrointestinal epithelium: a review. *Invest Cell Pathol* 1979;2:195-216.
51. **Goldman H, Ming SC.** Mucins in normal and neoplastic gastrointestinal epithelium. *Arc Pathol* 1968;85:580-6.
52. **Owen DA.** Stomach. In “*Histology for Pathologist*”, Ed. Sternberg SS. II. Edition, Wolters Kluwer Company, Philadelphia. 1997, p.281-93.
53. **Lewin KJ, Riddel RH, Weinstein WM.** Normal structure of stomach. in “*Gastrointestinal Pathology and its Clinical Implications*”, Ed. Shain I. New York. 1992, p.496-505.
54. **Piasecki C.** Blood supply to the human gastro-duodenal mucosa. *J Anat* 1974;118:295-335.
55. **Arıncı K, Elhan A.** “*Anatomi.*” Güneş Kitabevi, Ankara. s.241-245.
56. **Guyton AC, Hall JE.** Gastrointestinal Sistem Fizyolojisi. “*Tıbbi Fizyoloji*”, Ed. Çavuşoğlu H. X. Baskı, Nobel Tıp Kitapevi, 2001, p.728-70.
57. **Miederer SE.** The gastric mucosal barrier. *Hepatogastroenterology* 1986;33:88-91.
58. **Copeman M, Matuz J, Leonard AJ, Pearson JP, Dettmar PW, Allen A.** The gastroduodenal mucus barrier and its role in protection against luminal pepsins: the effect of 16,16 dimethyl prostaglandin E2, carbolpolyacrylate, sucralfate and bismuth salicylate. *J Gastroenterol Hepatol* 1994;9(1):55-9.
59. **Carlsson SR.** Isolation and characterisation of glycoproteins. in “*Glycobiology-A Practical Approach*” Ed. Fukuda M. and Kobata A. IRL Press, New York. 1993, p. 1–26.

60. **Flemstrong G, Garner A.** Gastroduodenal HCO_3^- transport: characteristics and proposed role in acidity regulation and mucosal protection. *American Journal of Physiology* 1982;242:153–193.
61. **Grisham MB, Von Ritter C, Smith BF, Lamont JT, Granger DN.** Interaction between oxygen radicals and gastric mucin. *Am J Physiol* 1987;253:93-6.
62. **Brzozowski T, Konturek PC, Konturek SJ, Pajdo R, Schuppan D, Drozdowicz D, Ptak A, Pawlik M, Nakamura T, Hahn EG.** Involvement of cyclooxygenase (COX-2) products in acceleration of ulcer healing by gastrin and hepatocyte growth factor. *J Physiol Pharmacol* 2000;51:751-73.
63. **Öztürk O.** Psikoaktif madde kullanımına bağlı bozukluklar. “*Ruh Sağlığı ve Bozuklukları*”, Ed. Öztürk O, 5.baskı, Hekimler Yayın Birliği, Medikomat, Ankara, 1994. s.393-420.
64. **Kayaalp O.** Alkoller. “*Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*”, Ed. Kayaalp O. 2. cilt. 9. baskı Hacettepe Taş Yayıncılık, Ankara. 2000, s.921-33.
65. **Albano E, Tomasi A, Gorla-Gatti L, Poli G, Vannini V, Dianzani M.** Free radical metabolism of alcohol by rat liver microsomes. *Free Radic Res Commun* 1987;3:243–249.
66. **Slater TF.** Free radicals mechanisms in tissue injury with special reference to the cytotoxic effects of ethanol and related alcohols. in “*Alcohol Toxicity and Free Radical Mechanisms, Advances in Biosciences*” Ed. Nordmann R, Ribiere C, Rouach H., Pergamon Press, Oxford, 1988, vol. 71, p.1–9.
67. **Akkuş İ.** Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları, Konya. 1995, s.1-132.
68. **Mansouri A, Demeilliers C, Amsellen S, Pessare D, Fromenty B.** Acute ethanol administration oxidatively damages and depletes mitochondrial DNA in mouse, liver, brain, heart and skeletal muscles: protective effects of antioxidants. *J Pharmacol Exp Ther* 2001;298:737-43.
69. **Baraona E, Julkunen R, Tannenbaum L, Lieber CS.** Role of intestinal bacterial over growth in ethanol production and metabolism in rats. *Gastroenterology* 1986;90(1):103-10.

70. **Szabo S, Trier JS.** Pathogenesis of acute gastric mucosal injury: sulfhydryls as a protector, adrenal cortex, as a modulator, and vascular endothelium as a target. In *“Mechanism of Mucosal Protection in the Upper Gastrointestinal Tract”*, Ed. Allen A, Flemström G, Garner A, Silen W, Turnberg LA. Raven Press, New York, 1984, p.287-93.
71. **Kwicien S, Brzozowski T, Konturek SJ.** Effect of reactive oxygen species action on gastric mucosa in various models of mucosal injury. *Journal of Physiology and Pharmacology* 2002;53(1):39-50.
72. **Glavin GB, Szabo S.** Experimental gastric mucosal injury: laboratory models reveal mechanisms of pathogenesis and new therapeutic strategies. *FASEB J.* 1992; 6: 825–30.
73. **DL Klayman, WH Gunther (Ed.).** Organic Selenium Compounds: Their Chemistry and Biology, Wiley, New York, 1973.
74. **Ursini F, Maiorino M, Brigelius-Flohe R, Aumann KD, Roveri A, Schomburg D, Flohe L.** Diversity of glutathione peroxidases. in *“Methods in Enzymology”*, Ed. Packer L., Vol. 252. Academic Press, San Diego, California, 1995, p.38-53.
75. **Mugesh G, Du Mont WW, Seis H.** Chemistry of biologically important synthetic organoselenium compounds. *Chem Rev* 2001;101:2125-79.
76. **Back TG.** Organoselenium chemistry: an overview. in: *“Organoselenium Chemistry: A Practical Approach”*, Ed. Harwood LM, Moody CJ. Oxford University Press, New York, 1999, p. 1-4.
77. **Mugesh G, du Mont WW.** Structure-activity correlation between natural glutathione peroxidase (GPx) and mimics: a biomimetic concept for the design and synthesis of more efficient GPx mimics. *Chem-Eur J* 2001;7(7):1365-70.
78. **Nakamura Y, Feng Q, Kumagai T, Torikai K, Ohigashi H, Osawa T, Noguchi N, Niki E, Uchida K.** Ebselen, a glutathione peroxidase mimetic seleno-organic compound, as a multifunctional oxidant. *The Journal of Biological Chemistry* 2002;277 (4): 2687-94.
79. **Parnham MJ, Graf E.** Seleno-organic compounds and the therapy of hydroperoxide-linked pathological conditions. *Biochem Pharmacol* 1987;36: 3095–102.

80. **Sies H.** Ebselen, a selenoorganic compound as glutathione peroxidase mimic. *Free Radic Biol Med* 1993;14(3):313-23.
81. **Yamaguchi T, Sano K, Takakura K, Saito I, Shinohara Y, Asano T, Yasuhara H.** Ebselen in acute ischemic stroke: a placebo-controlled, double-blind clinical trial. *Ebselen Study Group. Stroke* 1998;29:12-7.
82. **Dawson DA, Masayasu H, Graham DI, Macrae IM.** The neuroprotective efficacy of ebselen (a glutathione peroxidase mimic) on brain damage induced by transient focal cerebral ischaemia in the rat. *Neurosci Lett* 1995;185:65-9.
83. **MJ Parnham, S Leyck, E Graf, EJ Dowling, DR Blake.** The pharmacology of ebselen. *Agents Actions* 1991;32: 4-9.
- 834 **Maiorino M, Roveri A, Coassin M, Ursini F.** Kinetic mechanism and substrate specificity of glutathione peroxidase activity of ebselen (PZ 51). *Biochem Pharmacol* 1988;37(11):2267-71.
85. **Fisher H, Dereu N.** Mechanism catalytic reduction of hydroperoxides by ebselen: A selenium-77 NMR study. *Bull Soc Chim Belg* 1987;96:757-68.
86. **Morgenstern R, Cotgreave I, Engman L.** Determination of relative contributions of the diselenide and selenol forms of ebselen in the mechanism of its glutathione peroxidase-like activity. *Chem Biol Interactions* 1992;84:77-84.
87. **Köse K, Doğan P.** Lipid Peroksidasyonu. *Erciyes Tip Dergisi* 1992;Ek-1:340-50.
88. **Schewe T, Kühn H.** Do 15-lipoxygenases have a common biological role? *Trends Biochem Sci* 1991;16:369-73.
89. **Narayanaswami V, Sies H.** Oxidative damage to mitochondria and protection by ebselen and other antioxidants. *Biochem Pharmacol* 1990;40:1623-29.
90. **Chardiere J, Yadan JC, Erdelmeier I, Tailhan-Lomont C, Moutet M.** Design of new selenium containing mimics of glutathione peroxidase. In: *"Oxidative Processes and Antioxidants"*, Ed. Paoletti R. Raven Press, New York. 1994, p.165-84.
91. **Epe B, Ballmaier D, Roussyn I, Briviba K, Sies H.** DNA damage by peroxynitrite characterized with DNA repair enzymes. *Nucleic Acids Res* 1996;24:4105-10.

92. **Heinecke JW.** Mechanisms of oxidative damage of low density lipoprotein in human atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 1997;8:268–74.
93. **Ischiropoulos H, Al-Mehdi AB.** Peroxynitrite-mediated oxidative protein modifications. *FEBS Lett* 1995;364:279–82.
94. **Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG.** Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J* 2001;357:593-615.
95. **Arteel GE, Briviba K, Sies H.** Protection against peroxynitrite. *FEBS Letters* 1999;445: 226-30.
96. **Ziegler DM, Graf P, Poulsen LL, Stahl W, Sies H.** NADPH-dependent oxidation of reduced ebselen, 2-selenylbenzanilide, and of 2-(methylseleno)benzanilide catalyzed by pig liver flavin-containing monooxygenase. *Chem Res Toxicol* 1992;5(2):163-66.
97. **Spiteller G.** Enzymatic lipid peroxidation-a consequence of cell injury? *Free Radic Biol. Med* 1996;21:1003-9.
98. **Wang JF, Komarov P, Sies H, Groot H.** Inhibition of superoxide and nitric oxide release and protection from reoxygenation injury by Ebselen in rat Kupffer cells. *Hepatology* 1992;15:1112.
99. **Kayaalp O.** Peptik ülser tedavisinde kullanılan ilaçlar. “*Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*”, Ed. Kayaalp O. 2. cilt. 9. baskı, Hacettepe Taş Yayıncılık, Ankara. 2000, s. 1604-20.
100. **Okabe S, Takeuchi K, Urushidani T, Takagi K.** Effects of cimetidine, a histamine H₂-receptor antagonist, on various experimental gastric and duodenal ulcers. *Am J Dig Dis* 1997;22:677–84.
101. **Sies H.** Oxidative stress: introductory remarks. In “Oxidative Stress” Ed. Sies H. Academic Press, London. 1985, p. 1–8.
102. **La Casa C, Villegas I, de la Lastra CA, Motilva V, Calero MMJ.** Evidence for protective and antioxidant properties of rutin, a natural flavone, against ethanol induced gastric lesions. *J Ethnopharmacol* 2000;71:45-53.
103. **Yu B, Chung H.** Oxidative stress and vascular aging. *Diabetes Res Clin Pract* 2001;54(2):73–80.
104. **Weiss JS, Lobuglio AF.** Phagocyte-generated oxygen metabolites and cellular injury. *Lab Invest* 1982;47:5-16.

105. **Noiri E, Nakao A, Uchida K, Tsukahara H, Ohno M, Fujita T, Brodsky S, Goligorsky MS.** Oxidative and nitrosative stress in acute renal ischemia. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001;281(5):948-57.
106. **Beckman JS, Koppenol WH.** Nitric oxide, superoxide and peroxynitrite: The good, the bad and the ugly. *Am J Physiol* 1996;271:1424-37.
107. **Halliwell B, Cross C.** Oxygen-derived species: Their relation to human disease and environmental stress. *Environ Health Perspect* 1994;102(10):5-12.
108. **Sies H.** Strategies of antioxidant defense. *Eur J Biochem* 1993;215(2):213-9.
109. **Brzozowski T, Kwiecien S, Konturek PC, Konturek SJ, Mitis-Musiol M, Duda A, Bielanski W, Hahn EG.** Comparison of nitric oxide-releasing NSAID and vitamin C with classic NSAID in healing of chronic gastric ulcers; involvement of reactive oxygen species. *Med Sci Mont* 2001;7(4):592-9.
110. **Fernandez-Checa JC, Kaplowitz N, Garcia Ruiz C, Colell A, Miranda M, Mari M, Ardite E, Morales A.** GSH transport in mitochondria: defense against TNF-induced oxidative stress and alcohol-induced defect. *Am J Physiol* 1997;273:7-17.
111. **Hanzel CE, Villaverde MS, Verstraeten SV.** Glutathione metabolism is impaired in vitro by thallium(III) hydroxide. *Toxicology* 2005;207(3):501-10.
112. **Canals S, Casarejos MJ, Bernardo S, Solano RM, Mena MA.** Selective and persistent activation of extracellular signal-regulated protein kinase by nitric oxide in glial cells induces neuronal degeneration in glutathione-depleted midbrain cultures. *Mol Cell Neurosci* 2003;24:1012-26.
113. **Kimura M, Gato S, Ihara Y, Wada A, Yahiro K, Niidome T, Aoyagi H, Hirayama T, Kondo T.** Impairment of glutathione metabolism in human gastric epithelial cells treated with vacuolating cytotoxin from *Helicobacter pylori*. *Microb Pathol* 2001;31:29-36.
114. **Yoshikawa T, Minamiyama Y, Hiroshi I, Takahashi S, Naito Y, Kondo M.** Role of lipid peroxidation and antioxidants in gastric mucosal injury induced by the hypoxanthine-xanthine oxidase system in rats. *Free Radical Biology Medicine* 1997;23(2): 243-50.
115. **Cotgreave I A, Moldeus P, Brattsand R, Hallberg A, Andersson C M, Engman L.** Alpha-(phenylselenenyl)acetophenone derivatives with glutathione

peroxidase-like activity. A comparison with ebselen. *Biochem Pharmacol* 1992;43(4):793–802.

116. **Arai M, Imai H, Koumura T, Yoshida M, Emoto K, Umeda M, Chiba N, Nakagawa Y.** Mitochondrial phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase plays a major role in preventing oxidative injury to cells. *J Biol Chem* 1999;274(8):4924–33.

117. **Ohta Y, Kobayashi T, Inui K, Yoshino J, Nakazawa S.** Protective Effect of Ebselen, a Seleno-Organic Compound, Against the Progression of Acute Gastric Mucosal Lesions Induced by Compound 48/80, a Mast Cell Degranulator, in Rats. *Jpn J Pharmacol* 2002;90:295–303.

118. **Nosalova V, Babulova A, Bauer V.** Gastric transmucosal potential difference: Effect of antisecretory and gastroprotective drugs. *Gen Pharmac* 1988;30(3):325-29.

119. **Ohta Y, Kobayashi T, Ishiguro I.** Participation of xanthine oxidase system and neutrophils in development of acute gastric mucosal lesions in rats with a single treatment of compound 48/80, a mast cell degranulator. *Dig Dis Sci* 1999;44:1865–74.

120. **Tabuchi Y, Sugiyama N, Horiuchi T, Furusawa M, Furuhashi K.** Ebselen, a seleno-organic compound, protects against ethanol-induced murine gastric mucosal injury in both in vivo and in vitro systems. *European Journal of pharmacology* 1995;272:195-201.

121. **Yesilada E, Takaishi Y, Fujita T, Sezik E.** Anti-ulcerogenic effects of *Spartium junceum* flowers on in vivo test models in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2000;70:219–26.

122. **Coşkun O, Kanter M, Armutçu F, Çetin K, Kaybolmaz B, Yazgan O.** Protective effect of Quercetin, a flavonoid antioxidant, in absolute ethanol-induced acute gastric ulcer. *Eur J Gen Med* 2004; 1(3): 37-42

123. **Draper HH, Hadley M.** Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1990;186:421-431.

124. **Aebi H.** Catalase. in “*Methods of Enzymatic Analysis*”, Ed. Bergmeyer HU. Academic Press, New York. 1974, p. 673–7.

125. **Cattell V, Cook T, Moncada S.** Glomeruli synthesise nitrite in experimental nephrotoxic nephritis. *Kidney Int* 1990;38(6):1056-60.
126. **Szabo S, Trier JS, Frankel PW.** Sulfhydryl compounds may mediate gastric cytoprotection. *Science (Wash DC)* 1981;214:200-2.
127. **Hernandez-Munoz R, Montiel-Ruiz F.** Reversion by histamine H₂-receptor antagonists of plasma membrane alterations in ethanol-induced gastritis. *Digestive Disease and Sciences* 1996;41:2156-65.
128. **Ivey KJ, Mackercher PA.** Effect of cimetidine on ion fluxes and potential difference across the human stomach. *Gut* 1978;19(5):414-8.
129. **Kono H, Arteel GE, Rusyn I, Sies H, Thurman RG.** Ebselen prevents early alcohol-induced liver injury in rats. *Free Radic Biol Med* 2001;30:403-11.
130. **Saito I, Asano T, Sano K, Takakura K, Abe H, Yoshimoto T, Kikuchi H, Ohta T, Ishibashi S.** Neuroprotective effect of an antioxidant, ebselen, in patients with delayed neurological deficits after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 1998;42:269-77.
131. **Yang CF, Shen HM, Ong CN.** Protective effect of ebselen against hydrogen peroxide-induced cytotoxicity and DNA damage in HepG2 cells. *Biochem Pharmacol* 1999;57:273-79.

ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Kırklareli’de doğdu. İlk ve Orta öğrenimini aynı şehirde, Lise öğrenimini Edirne Anadolu Öğretmen Lisesi’nde tamamladı. Yüksek öğrenimini 1998-2003 yılları arasında Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde yaptı. 2003 yılında başladığı Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans öğrenimini sürdürmektedir.