



**T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**



**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**SIÇANLARDA D-GALAKTOZAMİN İLE OLUŞTURULAN MİDE  
HASARINDA U VİTAMİNİN ROLÜ**

**Dileknur TOPALOĞLU**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ**


**Kimya Anabilim Dalı**


**Biyokimya Programı**


**İSTANBUL-2019**

Bu çalışma, 2.05.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı, Biyokimya Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

### Tez Jürisi

  
Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ (Danışman)  
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa  
Mühendislik Fakültesi

  
Prof. Dr. Nuriye AKEV  
İstanbul Üniversitesi  
Eczacılık Fakültesi

  
Prof. Dr. Özlem SAÇAN  
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa  
Mühendislik Fakültesi



20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa’nın aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Lisansüstü Eğitim Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Bu tez, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin 31194 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

## ÖNSÖZ

Yüksek Lisans öğrenimim boyunca her türlü yardımlarını esirgemeyen, tezimin konusunu veren ve tez çalışmalarım boyunca tecrübelerinden yararlandığım, desteğini gördüğüm danışman hocam, Sayın Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ'a teşekkürlerimi sunarım.

Çeşitli aşamalarda yakın ilgi, yardım ve desteğinden dolayı, Sayın Prof. Dr. Özlem SAÇAN'a çok teşekkür ederim. Çalışmalarımda desteğini esirgemeyen Sayın Doç.Dr. Sevim TUNALI'ya ve Doktor Öğretim Görevlisi Bertan Boran BAYRAK'a teşekkür ederim. Çalışmalarım boyunca yardımını esirgemeyen ve her aşamada fikirlerinden yararlandığım Sayın Doktor Öğretim Görevlisi İsmet Burcu TÜRKYILMAZ'a da çok teşekkür ederim. Her aşamada yakın ilgi ve desteğini gördüğüm Arş. Gör. Onur ERTİK ve Arş. Gör. Eda DAĞSUYU'na teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarımın uygulama kısmını destekleyen İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliği'ne teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca ilgi, sabır ve desteğini esirgemeyen aileme özellikle annem Nebahat TOPALOĞLU, kardeşim Fatih Mehmet TOPALOĞLU ve dayım Mustafa TOPAL'a, şu an hayatta olmasa da her zaman beni destekleyen ve onun sayesinde buralara kadar geldiğim babam Abdullah TOPALOĞLU'na sonsuz minnettarım.

Mayıs, 2019

Dileknur TOPALOĞLU

# İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ .....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ .....	viii
TABLO LİSTESİ.....	x
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ .....	xi
ÖZET .....	xiii
SUMMARY .....	xv
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL KISIMLAR</b> .....	<b>3</b>
2.1. MİDE.....	3
2.1.1. Mide Embriyolojisi.....	3
2.1.2. Mide Anatomisi .....	4
2.1.3. Mide Histolojisi .....	4
2.1.4. Mide Bezleri ve Salgıları.....	6
2.1.5. Mide Asit Salgısının Düzenlenmesi .....	7
2.1.5.1. Asetilkolin ( <i>Ach</i> ) .....	7
2.1.5.2. <i>Gastrin</i> .....	8
2.1.5.3. <i>Histamin</i> .....	8
2.1.6. Midenin Fonksiyonları .....	8
2.1.7. Mide Asit Salgısının Evreleri .....	8
2.1.7.1. <i>Sefalik Uyarılar</i> .....	8
2.1.7.2. <i>Gastrik Uyarılar</i> .....	8
2.1.7.3. <i>İntestinal Uyarılar</i> .....	9
2.1.8. Mide Özsuyu .....	9
2.1.9. Mideyi Koruyan Faktörler .....	10
2.1.9.1. <i>Mukus</i> .....	10
2.1.9.2. <i>Bikarbonat (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>)</i> .....	11
2.1.9.3. <i>Mukozal Kan Akımı</i> .....	11
2.1.9.4. <i>Hücre Yenilenmesi</i> .....	11
2.1.9.5. <i>Prostaglandinler</i> .....	12

2.1.10. Mukozaya Zarar Verici Faktörler .....	12
2.2. DENEYSEL MİDE HASARI OLUŞTURMA MODELLERİ .....	12
2.2.1. NSAİİ'lar ile Oluşturulan Mide Hasar Modelleri .....	12
2.2.2. Kimyasal Maddelerle Oluşturulan Mide Hasar Modelleri .....	12
2.2.3. Stres ve Yaşam Tarzı.....	13
2.2.4. Yaş.....	13
2.2.5. Alkol.....	13
2.3. SERBEST RADİKALLER .....	13
2.3.1. Serbest Radikal Çeşitleri .....	15
2.3.2. Serbest Radikallerin Biyomoleküllere Zararları.....	16
2.3.2.1. Serbest Radikallerin Oluşturduğu Nükleik Asit ve DNA Hasarı .....	16
2.3.2.2. Serbest Radikallerin Lipitler Üzerine Etkileri.....	17
2.3.2.3. Serbest Radikallerin Karbohidratlar Üzerine Etkileri .....	17
2.3.2.4. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri .....	17
2.4. ANTİOKSİDANLAR .....	18
2.4.1. Enzimatik Antioksidanlar .....	19
2.4.2. Non-Enzimatik Antioksidanlar.....	20
2.4.3. Eksojen Antioksidanlar .....	21
2.5. U VİTAMİNİ (S-METİL METİYONİN) .....	22
2.6. D-GALAKTOZAMİN (GALN) .....	23
<b>3. MALZEME VE YÖNTEM.....</b>	<b>26</b>
3.1. DENEYLERDE KULLANILAN ARAÇ VE GEREÇLER .....	26
3.2. DENEYLERDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER .....	27
3.3. DENEY HAYVANLARI.....	27
3.4. MİDE HASARININ OLUŞTURULMASI.....	28
3.5. MİDE DOKUSU ÖRNEKLERİNİN ALINMASI.....	28
3.6. MİDE DOKU HOMOJENİZATLARININ HAZIRLANMASI.....	28
3.7. MİDE DOKUSUNDA GLUTATYON (GSH) MİKTAR TAYİNİ .....	29
3.8. MİDE DOKUSUNDA LİPİT PEROKSİDASYONU (LPO) MİKTAR TAYİNİ .....	30
3.9. MİDE DOKUSUNDA KATALAZ (CAT) AKTİVİTESİNİN TAYİNİ.....	32
3.10. MİDE DOKUSUNDA SÜPEROKSİT DİSMUTAZ (SOD) AKTİVİTESİNİN TAYİNİ .....	33
3.11. MİDE DOKUSUNDA GLUTATYON PEROKSİDAZ (GPX) AKTİVİTESİNİN TAYİNİ.....	35

3.12. MİDE DOKUSUNDA GLUTATYON REDÜKTAZ (GR) AKTİVİTESİNİN TAYİNİ .....	36
3.13. MİDE DOKUSUNDA GLUTATYON-S-TRANSFERAZ (GST) AKTİVİTESİNİN TAYİNİ.....	37
3.14. MİDE DOKUSUNDA MİYELOPEROKSİDAZ (MPO) AKTİVİTESİNİN TAYİNİ .....	39
3.15. MİDE DOKUSUNDA LAKTAT DEHİDROJENAZ (LDH) AKTİVİTESİNİN TAYİNİ .....	40
3.16. MİDE DOKUSUNDA SODYUM-POTASYUM ATP <sub>AZ</sub> AKTİVİTESİNİN TAYİNİ .....	41
3.17. MİDE DOKUSUNDA KSANTİN OKSİDAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ.....	43
3.18. MİDE DOKUSUNDA İLERİ OKSİDE PROTEİN ÜRÜNLERİ TAYİNİ (AOPP).....	44
3.19. MİDE DOKUSUNDA HEKSOZ MİKTARININ TAYİNİ .....	45
3.20. MİDE DOKUSUNDA HEKSOZAMİN MİKTARININ TAYİNİ.....	47
3.21. MİDE DOKUSUNDA FUKOZ MİKTARININ TAYİNİ.....	48
3.22. MİDE DOKUSUNDA SİYALİK ASİT MİKTARININ TAYİNİ .....	50
3.23. MİDE DOKUSUNDA TOTAL PROTEİN TAYİNİ .....	52
3.24. İSTATİSTİKSEL ANALİZ .....	53
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>54</b>
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....</b>	<b>65</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>71</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>86</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>87</b>

## ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 2.1: Midenin dönüş hareketleri ( <a href="http://www.dicle.edu.tr">www.dicle.edu.tr</a> ).....	3
Şekil 2.2: Midenin insan vücudundaki yeri ve genel görünümü ( <a href="http://www.hastalikvesaglik.net">www.hastalikvesaglik.net</a> ).....	4
Şekil 2.3: Midenin bölümleri ( <a href="http://www.gastrit.gen.tr">www.gastrit.gen.tr</a> ).....	5
Şekil 2.4: Mide hücreleri ve salgıları ( <a href="http://www.turkcerrahi.com">www.turkcerrahi.com</a> ).....	7
Şekil 2.5: Mide salgıları ( <a href="http://www.slideshare.net">www.slideshare.net</a> ).....	7
Şekil 2.6: Mide salgılarının evreleri ( <a href="https://slideplayer.biz.tr">https://slideplayer.biz.tr</a> ).....	9
Şekil 2.7: Mukus ( <a href="http://www.drahmetdobrucali.com/peptik-ulser">www.drahmetdobrucali.com/peptik-ulser</a> ).....	11
Şekil 2.8: Reaktif oksijen türlerinin makromoleküllerle etkileşimleri sonucu oluşan ürünleri (Valko ve diğ., 2006).....	18
Şekil 2.9: U vitaminin'in yapısı ( <a href="https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov">https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov</a> ).....	22
Şekil 2.10: Galaktozaminin yapısı ( <a href="https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov">https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov</a> ).....	24
Şekil 4.1: Kontrol ve deney grubu sıçanların GSH değerleri.....	54
Şekil 4.2: Kontrol ve deney grubu sıçanların LPO değerleri.....	55
Şekil 4.3: Kontrol ve deney grubu sıçanların CAT aktiviteleri.....	55
Şekil 4.4: Kontrol ve deney grubu sıçanların SOD aktiviteleri.....	56
Şekil 4.5: Kontrol ve deney grubu sıçanların GPx aktiviteleri.....	57
Şekil 4.6: Kontrol ve deney grubu sıçanların GR aktiviteleri.....	57
Şekil 4.7: Kontrol ve deney grubu sıçanların GST aktiviteleri.....	58
Şekil 4.8: Kontrol ve deney grubu sıçanların MPO aktiviteleri.....	59
Şekil 4.9: Kontrol ve deney grubu sıçanların LDH aktiviteleri.....	59
Şekil 4.10: Kontrol ve deney grubu sıçanların Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPaz aktiviteleri.....	60
Şekil 4.11: Kontrol ve deney grubu sıçanların XO aktiviteleri.....	61



<b>Şekil 4.12:</b> Kontrol ve deney grubu sıçanların AOPP değerleri. ....	61
<b>Şekil 4.13:</b> Kontrol ve deney grubu sıçanların heksoz değerleri. ....	62
<b>Şekil 4.14:</b> Kontrol ve deney grubu sıçanların heksozamin değerleri. ....	63
<b>Şekil 4.15:</b> Kontrol ve deney grubu sıçanların fukoz değerleri. ....	63
<b>Şekil 4.16:</b> Kontrol ve deney grubu sıçanların siyalik asit değerleri. ....	64



## TABLO LİSTESİ

Sayfa No

<b>Tablo 2.1:</b> Reaktif oksijen ve azot türleri (Kılınç ve Kılınç, 2002; Gruhlke ve Slusarenko, 2012).....	14
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----



## SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

### Simgeler Açıklama

$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
$\mu\text{L}$	Mikrolitre
$\mu\text{M}$	Mikromolar
mg	Miligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
mm	Milimetre
nm	Nanometre
nM	Nanomolar

### Kısaltmalar Açıklama

Ach	Asetilkolin
ANSA	1-Amino-2-Naftol-4-Sülfonik Asit
AOPP	İleri Okside Protein Ürünleri
ATP	Adenozin 5'-Trifosfat
BHA	Bütillenmiş Hidroksianizol
BHT	Bütil Hidroksitoluen
CAT	Katalaz
CGRP	Kalsitonin Gen İlişkili Peptit
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DNPH	2,4-Dinitrofenilhidrazin
DTNB	5,5'-Ditiyo-Bis-2-Nitro Benzoik Asit
ECL	Enterokromaffin Hücreler
EDTA	Etilendiamintetraasetik Asit
FAD	Flavin Adenin Dinükleotit
FSH	Folikül Uyarıcı Hormon
GalN	Galaktozamin
GPx	Glutasyon Peroksidaz

<b>GR</b>	Glutasyon Redüktaz
<b>GSH</b>	İndirgenmiş Glutasyon
<b>GSSG</b>	Yükseltgenmiş Glutasyon
<b>GST</b>	Glutasyon-S-Transferaz
<b>LDH</b>	Laktat Dehidrojenaz
<b>LPO</b>	Lipit Peroksidasyonu
<b>LPS</b>	Lipopolisakkarit
<b>MPO</b>	Miyeloperoksidaz
<b>NADH</b>	İndirgenmiş Nikotinamit Adenin Dinükleotit
<b>NADPH</b>	İndirgenmiş Nikotinamit Adenin Dinükleotit Fosfat
<b>Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPaz</b>	Sodyum-Potasyum ATPaz
<b>NSAII</b>	NonSteroid Antiİnflamatuar İlaçlar
<b>SOD</b>	Süperoksit Dismutaz
<b>SMM</b>	S-Metil Metiyonin
<b>SOR</b>	Serbest Oksijen Radikali
<b>TBA</b>	Tiyobarbitürik Asit
<b>TCA</b>	Trikloroasetik Asit
<b>TEP</b>	1,1,3,3-Tetraetoksi Propan
<b>TNF- <math>\alpha</math></b>	Tümör Nekroz Faktör Alfa
<b>UDP</b>	Uridin Difosfat
<b>UTP</b>	Uridin Trifosfat
<b>PG</b>	Prostaglandin
<b>VIP</b>	Vazoaktif İntestinal Polipeptit

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

#### SIÇANLARDA D-GALAKTOZAMİN İLE OLUŞTURULAN MİDE HASARINDA U VİTAMİNİN ROLÜ

**Dileknur TOPALOĞLU**

**İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa**

**Lisansüstü Eğitim Enstitüsü**

**Kimya Anabilim Dalı**

**Danışman : Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ**

Gastrointestinal sistemde meydana gelen mukozal hasar veya ülserler, ülkemizde ve dünyada önemli bir sağlık sorununu oluşturmaktadır. Gastrik mukozanın fonksiyonel bütünlüğünün olabilmesi için hasar verici ve koruyucu faktörler arasında dengenin olması gerekmektedir. Bu dengenin bozulması ile hücresel hasarın oluşması kaçınılmazdır. Serbest oksijen radikalleri, stres ve antienflamatuar ilaçlar mukozal hasar oluşturan faktörlerdendir.

Galaktozun 6-karbonlu amino şeker türevidir olan galaktozamin (GalN) toksin olarak rol oynar. Karaciğer hasarı oluşturmak için kullanılan GalN, pek çok doku ve organda birikerek toksisite oluşturmaktadır.

U vitamini (S-metil metiyonin sülfonyum klorür), lipit düşürücü özelliğiyle birlikte antiülser, antidepresan ve antioksidan özellik gösteren vitamene benzer bir maddedir.

Bu çalışmada, galaktozamin ile oluşturulan mide hasarı üzerine U vitamininin etkileri araştırıldı. Galaktozamin verilmesi mide dokusunda katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glutatyon-S-transferaz, sodyum-potasyum ATPaz aktiviteleri ve glutatyon miktarı azaldı. Miyeloperoksidaz, laktat dehidrojenaz ve ksantin oksidaz aktiviteleri, lipit peroksidasyonu, ileri okside protein ürünleri, heksoz, heksozamin, fukoz ve siyalik asit değerleri arttı. U vitamini verilmesi ile bu etkiler tersine çevrildi.

Bu sonuçlardan, U vitaminin galaktozamin ile oluşturulan mide hasarına karşı koruyucu etkileri olduğu ileri sürülebilir.

Mayıs 2019, 103 sayfa.

**Anahtar kelimeler:** Galaktozamin, mide hasarı, serbest radikaller, sıçan, U vitamini,.



## **SUMMARY**

### **M.Sc. THESIS**

#### **THE ROLE ON VITAMIN U ON D-GALACTOSAMINE-INDUCED GASTRIC DAMAGE OF RATS**

**Dileknur TOPALOĞLU**

**Istanbul University-Cerrahpasa**

**Institute of Graduate Studies**

**Department of Chemistry**

**Supervisor : Prof. Dr. Refiye YANARDAG**

Mucosal damage or ulcers in the gastrointestinal tract constitute an important health problem in our country and in the world. In order to maintain the functional integrity of the gastric mucosa, balance between the damaging and protective factors is required. It is inevitable that cellular damage will be caused by the deterioration of this balance. Free oxygen radicals, stress and anti-inflammatory drugs are mucosal damaging factors.

Galactosamine (GalN) a 6-carbon amino sugar derivative of galactose acts as a toxin. GalN which is used to create liver damage accumulates in many tissues and organs, and causes toxicity.

Vitamin U (S-methyl methionine sulfonium chloride) is an anti-ulcer, antidepressant and antioxidant vitamin-like substance with lipid-lowering properties.

In this study, the effect of vitamin U on gastric injury induced by galactosamine was investigated. Administration of galactosamine reduced the levels of catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione-S-transferase, and sodium-potassium ATPase activities, as well as glutathione level in gastric tissue. Myeloperoxidase, lactate dehydrogenase and xanthine oxidase activities, lipid peroxidation,

advanced oxidized protein products, hexose, hexosamine, fucose and sialic acid values were elevated. These effects were reversed by the administration of vitamin U.

From these results, it can be argued that vitamin U has protective effects against galactosamine induced gastric damage.

May 2019, 103 pages.

**Keywords:** Free radicals, galactosamine, gastric damage, rat, vitamin U





## 1. GİRİŞ

Karaciğer organizma için hayati öneme sahip olan birçok maddenin sentez ve metabolize edildiği bir organdır. Farklı yollarla alınan ve zedelenme oluşturabilen, kimyasal ve biyolojik ajanlar oldukça fazladır. Bu toksik maddeler enzim aktivitelerini ve hücre yapısını değiştirirler. Karaciğerdeki morfolojik değişimler organizmadaki metabolik olayları etkilemektedirler.

D-Galaktozamin (D-GalN), karaciğerde hasar oluşturan, çeşitli karaciğer hastalıklarının patojenezinde ortaya çıkan ve birçok özelliği taklit eden bir kimyasal ajandır. Karaciğer hasarı için uygun bir deneysel model olan D-GalN (Sugimoto ve diğ., 1999; Gujral ve diğ., 2003) tek başına kullanıldığı gibi, hepatik hasarı şiddetlendirmek için çeşitli kimyasallar ile birlikte kullanılabilir. Bunlar; lipopolisakkarit (Kato ve diğ., 1998; Josephs ve diğ., 2000), endotoksin (Cheng ve diğ., 1996) ve TNF- $\alpha$  (Van-Molle ve Libert, 2003)'dir.

Karaciğere spesifik bir hepatotoksin olan D-GalN dolaylı olarak mide toksisitesine de yol açar. Gastrointestinal sistemde meydana gelen mukozal hasar veya ülserler, dünyada ve ülkemizde hala önemli bir sağlık sorunudur. Mide ve duodenumda mukus, bikarbonat, prostaglandin sentezi gibi mukozal koruma mekanizmaları ile mukozaya zarar verebilen asit-pepsin arasındaki dengenin bozulması ve *Helicobacter pylori* ile hasar ortaya çıkar. Hasar midedeki savunma ve saldırgan faktörlerin arasındaki dengenin bozulmasından meydana gelmektedir. Gastrointestinal sistemdeki hasar oluşumu; indometazin, aspirin gibi nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar, etanol, hidroklorik asit (HCl) gibi kimyasallarla etkileşim, serbest radikaller, safra asitleri, proteazlar, stres gibi iç kaynaklı faktörlerin etkisinde de meydana gelir.

S-metil metiyonin (SMM), U vitamini, ismini Latince ulcus anlamına gelen ülser kelimesinin baş harfinden alınarak adlandırılmıştır. Doğal SMM kaynakları çoğunlukla çiğ lahana, brokoli, kereviz gibi yeşil sebzeler ve çiçekli bitkilerdir. U vitamini ülser önleyici olarak birçok peptik ülser tedavisi çalışmalarında kullanılmıştır. U vitamininin antiülser özelliğinin yanı sıra hücre koruyucu, antiinflamatuvar, lipit düşürücü, tükürük bezleri koruyucu, dermatolojik ve antidepresan özellikleri de mevcuttur (Urzaeva, 1976; Salim, 1991, 1992; Kim ve diğ. 2010; Oktay ve diğ., 2018).

Biyokimya Anabilim Dalında yapılan çalışmalarda U vitamininin valproik asit ve amiodaron ile oluşturulan karaciğer hasarı üzerindeki etkileri incelenmiştir (Sokmen ve diğ., 2012; Turkyilmaz, 2014).

Bu çalışmada, D-GalN uygulanan sıçanlarda oluşturulan mide hasarı üzerine U vitamininin koruyucu bir etki gösterip göstermediği biyokimyasal olarak araştırılmıştır.

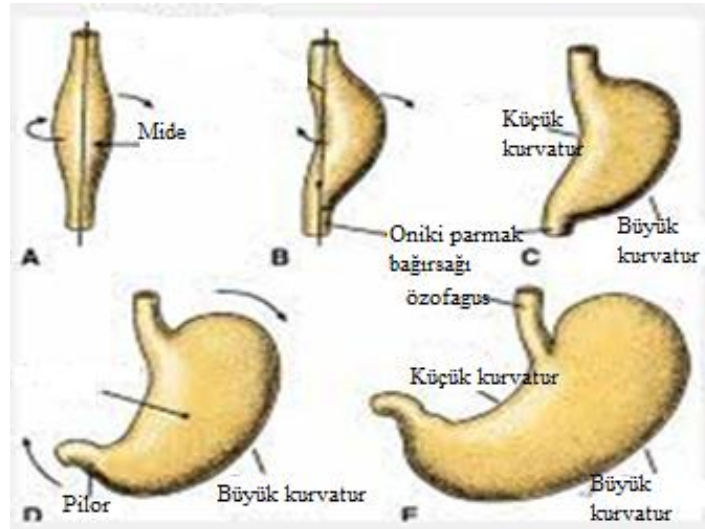


## 2. GENEL KISIMLAR

### 2.1. MİDE

#### 2.1.1. Mide Embriyolojisi

Mide, embriyo gelişiminin 4. haftasındayken ön bağırsağın özofagusa doğru fusiform (iğsi) genişlemesiyle belirir. Embriyonun 7 mm olmasıyla gelişim başlar (Mills, 2012). Başlangıçta dikey durumda bulunan mide, gelişiminin ilerlemesiyle şekil, pozisyon ve duvarının çeşitli bölgelerindeki farklı büyüme hızı buna ek olarak, çevre organların konumlarında meydana gelen değişiklikler sonucunda önemli ölçüde değişim gösterir (Sadler, 1995). Mide gelişiminin 7. haftasında uzunlamasına eksen etrafında saat yönünde 90 derecelik dönüş yapar. Bu rotasyon sayesinde midenin sol tarafı öne, sağ tarafı ise arkaya bakar hale gelir. Böylece midenin arka duvarı, ön duvarından daha hızlı büyüyerek önde *küçük kurvatur (curvatura minor)*, arkada ise *büyük kurvatur (curvatura major)* oluşturur. Mide 8. haftada ön-arka eksen çevresinde 2. dönüş hareketini yapar. Bu eksen etrafında dönmesiyle kaudal veya pilorik parça sağa ve yukarıya, sefalik veya kardiyak bölüm ise sola ve hafifçe aşağı doğru yer değiştirir (Larsen, 1993; Moore, 2002; Çağlar, 2004) (Şekil 2.1).

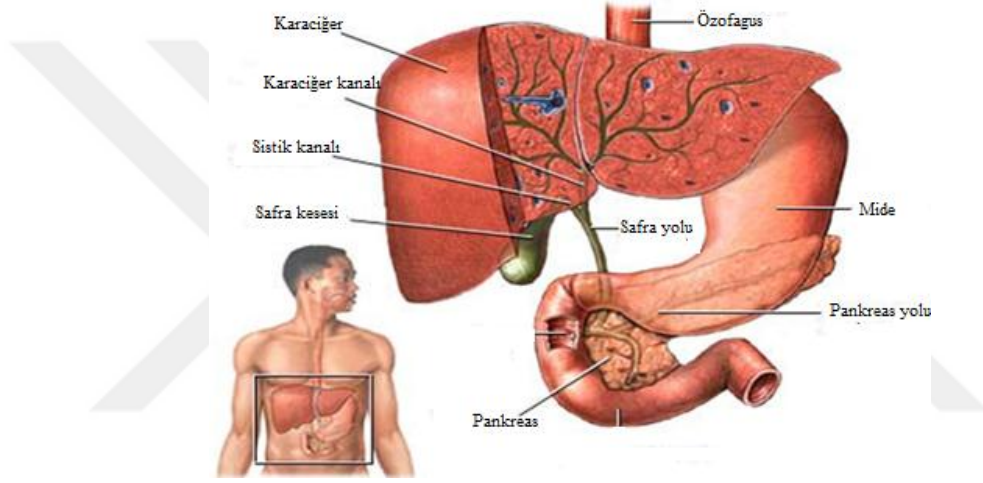


Şekil 2.1: Midenin dönüş hareketleri (www.dicle.edu.tr).

Mide taslağı çok küçük olmakla beraber erişkin insan midesine benzer bir hal alır (Erbil ve Degerli, 2004). İlk kez fetal hayatın 4. ayında enzim ve asit üretimi başlar, doğumda ise tamamen gelişmiştir (Mills, 2012).

### 2.1.2. Mide Anatomisi

Mide, özofagus ile duodenum arasında yer alır ve sindirim kanalının en geniş yerine sahiptir (Şekil 2.2). Anatomik olarak regio epigastrica ve regio hypocondriaca sinistra'da bulunur (Elhan, 2001). Özofagus ile birleştiği yer olan kardia bölümü T12 hizasında, duodenum ile birleştiği yer olan pilor ise L1 hizasında yer alır (Yıldırım, 1994). Mide dolu iken öne ve arkaya, boş iken ise yukarı ve aşağıya bakar. Bu nedenle bu yüzlere anterosuperior ve anteroinferior yüzler denir. Mide hacmi yaşa göre değişkenlik gösterir. Yenidoğanda yaklaşık 30 mL, pubertede 1 lt, erişkinlerde 1.5 lt kadardır.



Şekil 2.2: Midenin insan vücudundaki yeri ve genel görünümü (www.hastalikvesaglik.net).

### 2.1.3. Mide Histolojisi

Mide histolojik olarak kardia, fundus korpus ve pilor olarak dört bölüme ayrılır. Ancak korpus ve fundus mikroskopik olarak aynı yapıda olduğundan üç bölge olarak tanımlanabilir (Junguiera ve diğ., 1993) (Şekil 2.3).

*Kardia:* Bu bölümdeki yüzeysel bezler mukus salgılar. Bu bezler baskın olarak nötral musin, az miktarda sialomusin ve lizozim üretirler. Ayrıca HCl salgılayan birkaç pariyetal hücre bulunabilir (Ham ve Cormak, 1981; Çağlar, 2004).

*Fundus/Korpus:* Bu bölge pariyetal ve esas hücrelerden zengindir. Esas hücreler pepsinojen salgılayan pariyetal hücreler ise HCl ve intrinsik faktör salgılar.

*Pilor:* Mukus hücreleri, gastrin salgılayan G hücreleri ve somatostatin salgılayan D hücreleri bu bölgede bulunur (Cox ve Ang, 2010).

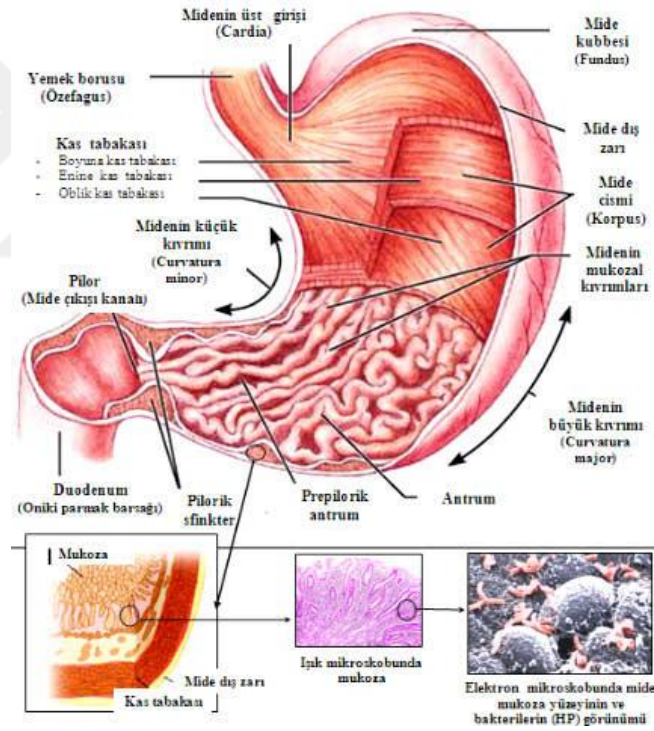
Mide duvarı dört tabakadan meydana gelir bunlar içten dışa doğru: Mukoza, submukoza, muskularis propria, seroza.

*Mukoza:* Üç alt tabakadan oluşmuştur. Bunlar epitel, lamina propria ve lamina muskularis mukoza'dır.

*Submukoza:* Genel olarak elastik lifler bulunduran gevşek bağ dokusu, kan ve lenf damarlarından oluşmuştur.

*Muskularis propria:* Üç yönden düzenlenmiş düz kas tabakasıdır. Dıştan içe doğru: longitudinal, sirküler ve oblik şeklinde dizilmiştir.

*Seroza:* Bağ dokusunun ince bir tabakasıdır. Mide duvarının en dışında bulunur.



**Şekil 2.3:** Midenin bölümleri (www.gastrit.gen.tr).

Boş midenin mukoza ve submukozasında ruga olarak adlandırılan çok sayıda katlantılar vardır. Mide dolu olduğunda katlantılar yassılaşılarak mide yüzeyinin genişlemesini sağlarlar (Ross ve Romrell, 1989; Junquiera ve diğ., 1993).

#### 2.1.4. Mide Bezleri ve Salgıları

Mide bezleri dört tip hücreden oluşur. Bunlar: temel hücreler, parietal hücreler, boyun hücreleri ve endokrin hücreler.

*Temel hücreler:* pepsinojen,

*Parietal hücreler:* HCl,

*Boyun hücreler:* Mukus,

*Endokrin hücreler:* Serotonin, enteroglukagon ve histamin salgılar.

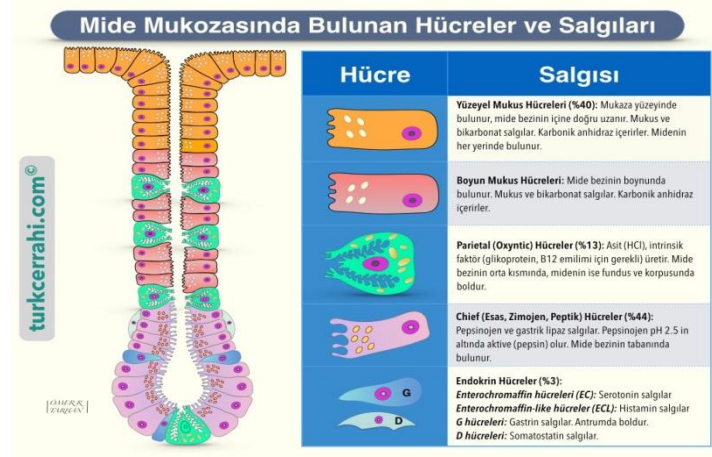
Mide bezleri gastrik ve pilorik bezler olmak üzere 2'ye ayrılır.

*Gastrik bezler:* Fundus ve korpus bölümlerinde bulunan bu bezler HCl, pepsinojen, intrinsik faktör ve mukus salgılar.

- HCl: Besinlerle gelen mikropları etkisiz hale getirir. Pepsinojeni, pepsin haline dönüştürür. Protein sindirimi için gerekli ortamı oluşturur.
- İntrinsik faktör: B<sub>12</sub> vitamininin emilimini sağlar.
- Pepsin: Pepsinojen, peptik hücreler tarafından salgılanır. HCl ile pepsine çevrilir.
- Mukus: Mideyi HCl ve enzimlerin zarar verici etkisinden koruyarak sindirim yüzeyini nemli ve kaygan tutar.

*Pilorik bezler:* Bu bezler midenin pilora yakın antrum bölümünde bulunur. Gastrin hormonu, pepsinojen ve mukus buradan salgılanır (Şekil 2.4).

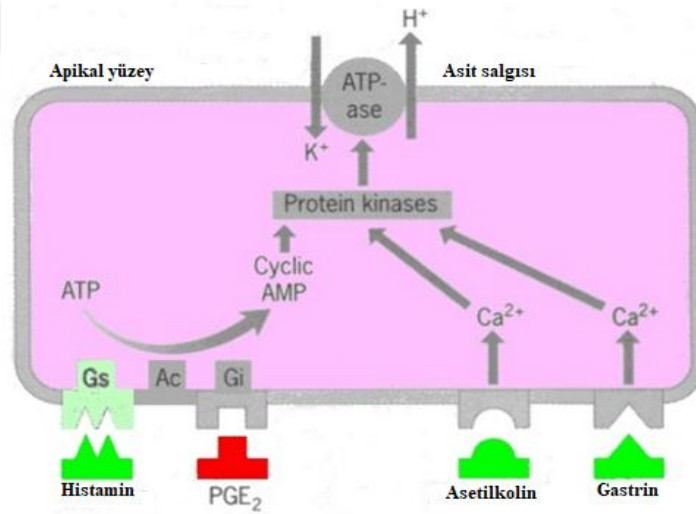
Mide sekresyonu sinirsel, hormonal ve intestinal uyarılarla gerçekleşir.



Şekil 2.4: Mide hücreleri ve salgıları (www.turkcerrahi.com).

### 2.1.5. Mide Asit Salgısının Düzenlenmesi

Asetilkolin, gastrin ve histamin gibi endojen kimyasal maddeler mide asit salınımını uyararak, asit salgısını düzenler (Şekil 2.5).



Şekil 2.5: Mide salgıları (www.slideshare.net).

#### 2.1.5.1. Asetilkolin (Ach)

Nörotransmitter bir madde olup, kolinerjik sinir uçlarından serbestlenir. Asetilkolin gastrik salgıyı;

- G hücrelerini uyararak,
- Enterokromaffin benzeri hücreleri (ECL),  $M_1$  reseptörü üzerinden uyararak histamin çıkmasını sağlar.

- Parietal hücre üzerindeki  $M_3$  reseptörünü direkt etki ederek uyarır (Bilgel, 2007).

### **2.1.5.2. Gastrin**

Gıdaların sindiriminde temel asit salgısını sağlayan en büyük etkidir. Gastrik antrumda G hücrelerinden salgılanır. İnce bağırsak, kolon ve pankreas tarafından daha az sentezlenip, bağırsak ve karaciğer tarafından metabolize edilir (Schubert ve Peura, 2008). Gastrin salınımı özellikle protein içerikli besinlerle başlar.

### **2.1.5.3. Histamin**

Vücudun birçok hücresinde oluşmasına rağmen midedeki oluşum yeri ECL hücreleridir. ECL hücrelerde L-histidinin, histidin dekarboksilaz enzimi ile dekarboksilasyonu sonucu oluşur. Histamin  $H_3$  reseptörüne bağlanarak somatostatin salınımını engeller. Asetilkolinin ise histamin üzerine doğrudan etkisi yoktur. Gastrin, asetilkolin, katekolamin, vazoaaktif intestinal peptit (VIP) histamin salınımını arttırırken, somatostatin, kalsitonin gen ilişkili peptit (CGRP), prostaglandinler histamin salınımını inhibe ederler (Uz, 2008).

### **2.1.6. Midenin Fonksiyonları**

Depo, besinleri karıştırma, sindirim ve emilim için bağırsağa iletme gibi fonksiyonlar midenin görevidir. Besinler midede dairesel halkalar şeklinde aşağıdan yukarıya doğru depolanır (Noyan, 1998). Eğer mide doluysa peristaltik hareket midenin orta kısmından, boşaldıkça mide duvarının gerisinden başlar (Ganong, 1995). Kendiliğinden peristaltik bir ritme sahip olan mide, gastrin ve asetilkolin ile bu dalganın şiddeti belirlenir. Dakikada 3 defa kasılma gerçekleşir (Çağlar, 2004).

### **2.1.7. Mide Asit Salgısının Evreleri**

#### **2.1.7.1. Sefalik Uyarılar**

Besinlerin düşünülmesi, koklanması, ağıza alınması, tadılması gibi durumlar salgıyı başlatır. Ruhsal durumdaki değişikliklerde asit salgısını arttırır ya da azaltır. Salgılamaya neden olan sinirsel uyarımlar vagus sinirinin arka motor çekirdeğinden gelir.

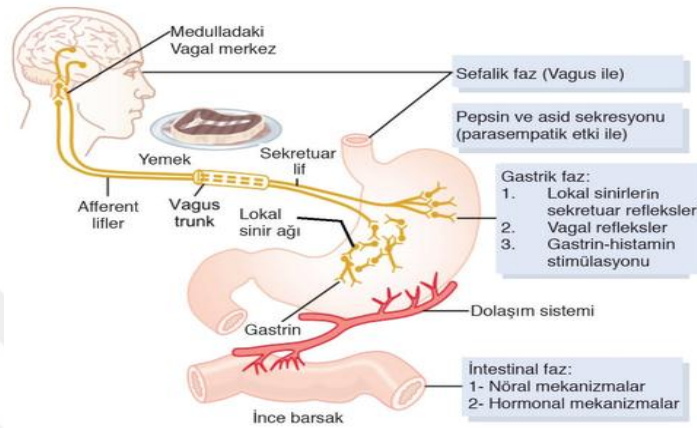
#### **2.1.7.2. Gastrik Uyarılar**

Besinin mideye girmesinden itibaren mide mukozasında lokal refleksler aracılığıyla gastrin ve HCl salınımını uyarır. Salgı en fazla bu evrede olmaktadır. Besin midede kaldığı sürece bu salgılar devam eder.



### 2.1.7.3. İntestinal Uyarılar

Bu evre, kimus olarak adlandırılan mide içeriğinin duodenuma geçmesiyle başlar. Duodenumda gerilmeye neden olan kimus pH'ın düşmesine ve osmolitenin artmasına neden olur. Mide salgısı diğer evrelere göre burada çok daha azdır (Şekil 2.6).



Şekil 2.6: Mide salgılarının evreleri (<https://slideplayer.biz.tr>).

### 2.1.8. Mide Özsuyu

İçerisinde mukus, intrinsik faktör, çeşitli enzimler ve iyonlar ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{SO}_4^{-2}$ ,  $\text{PO}_4^{-3}$ ) bulunduran, saydam ve renksiz olan kompleks bir sıvıdır. pH aralığı: 1.0-2.5 olan mide özsuyu antiseptik özelliktedir (Gürdöl, 2015). Bu sıvının içerisinde her maddenin bir görevi vardır.

**Elektrolitler:** Salgılama hızı artarsa  $\text{H}^+$  iyon konsantrasyonu artar,  $\text{Na}^+$  iyon konsantrasyonu azalır. Salgılama hızı azalırsa  $\text{H}^+$  iyon konsantrasyonu azalır,  $\text{Na}^+$  iyon konsantrasyonu artar.  $\text{K}^+$  konsantrasyonu her zaman mide özsuyunda plazmadan yüksektir.  $\text{Cl}^-$  iyonu ise mide özsuyundaki en önemli anyondur. Diğer elektrolitler ise mideden eser miktarda salgılanır (Sternberg, 1990).

**Mukus:** Bikarbonat iyonlarını bağlayarak mideyi kendi asiditesinden korur. Yüzeyi kayganlaştırarak besinlerin iletilmesini sağlar.

**HCl:** Midenin çalışması için uygun pH aralığını düzenler. Pepsinojenleri pepsine çevirir. Dışarıdan besinle gelen bakterilere karşı antibakteriyel görevi görür.

*Pepsin:* pH: 2-3 aralığında en aktif, pH: 5 üzerinde ise inaktiftir. İnaktif pepsinojen, HCl ile etkileşerek pepsine dönüşür. Bu enzim proteinlerin sindirimini sağlar (Ganong, 1995).

*İntrinsik Faktör:* B<sub>12</sub> vitaminine bağlanarak bağırsaklardan emilmesini sağlar. Parietal hücreler tarafından salgılanır. Eksikliğinde pernisiyöz anemi görülür.

*Renin:* Daha çok bebeklerin midelerinde bulunur. Kazeini parakazeine çevirir.

*Gastrik Amilaz:* Nişasta sindiriminde küçük bir etkiye sahiptir.

*Jelatinaz:* Etteki bazı proteoglikanların sindirimine yardımcı olur (Noyan, 1998; Çağlar, 2004).

## 2.1.9. Mideyi Koruyan Faktörler

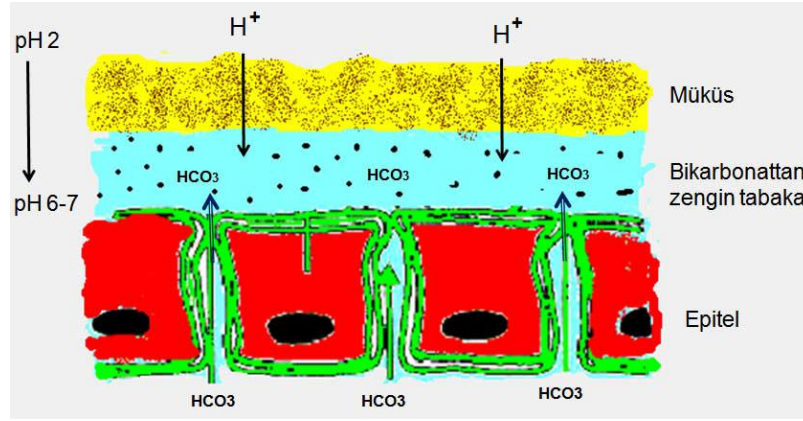
### 2.1.9.1. Mukus

Mukus, hücre yüzeyini yapışkan ve jel kıvamında kaplayarak zararlı etkenlere karşı mideye koruma sağlar. Bu tabakanın içeriği % 95 oranında su, % 5 oranında ise glikoproteindir. Müsinler, ortasında santral polipeptit ve etrafında çok sayıda karbohidrat zincirinden meydana gelir. Yüksek molekül ağırlıklı glikoproteindir (Leteurtre ve diğ., 2006; İlhan ve diğ., 2010) (Şekil 2.7).

Mukus salgısı iki şekilde gerçekleşir:

- Çözünür şekli: Mide bezleri tarafından,
- Çözünmeyen şekli: Yüzey ve foveolaları döşeyen hücrelerce salgılanır.

Mukus salgılanmasının uyarılması mekanik irritasyon ve kolinerjik stimülasyon ile oluşur. Mukusun kalınlığı E serisindeki prostaglandinler tarafından arttırılır, inhibisyonu ise Non-steroid anti-inflamatuar ilaçlar (NSAİİ) tarafından gerçekleşir (Hatemi, 1996; Mills, 2012).



Şekil 2.7: Mukus ([www.drahmetdobrucali.com/peptik-ulser](http://www.drahmetdobrucali.com/peptik-ulser)).

### 2.1.9.2. Bikarbonat ( $HCO_3^-$ )

Mukus ve bikarbonat kombinasyonu mukozanın yüzeysel epitel hücreleri tarafından salgılanır. Bu kombinasyon aside karşı mukozayı korur. Yapılan araştırmalar,  $HCO_3^-$  sekresyonunun sonucu olarak lümeni kaplayan mukus tabakasında pH gradiyenti olduğu yönündedir. Lüminal yüzeyde mukus asidik iken  $HCO_3^-$  epitele difüze olan  $H^+$  iyonlarını tamponlar ve böylece gastrik lümeninde 2 olan pH, mukozal epitelin apikal yüzeyinde 7 olarak kalır. Böylece mukoza aside bağlı zedelenmelerden korunur (Gitnick, 1997).

### 2.1.9.3. Mukozal Kan Akımı

Kan akımı mukozanın bütünlüğünün korunmasında özellikle hasarlı mukozada geri difüze olan  $H^+$  iyonunu ortamdaki uzaklaştırmada rol alır (Ashley ve diğ., 1999; Akpınar ve diğ., 2003). Mukozal kan akımının azalması ya da kısa süreli olarak kesintiye uğraması bile yüzeysel olarak mukozal hasara sebebiyet verir (Gitnick, 1997).

### 2.1.9.4. Hücre Yenilenmesi

Epitelin hasara karşı dirençli olmasını sağlayan sebeplerden biri de epitel yüzeyi örten hücrelerin 2-4 günde bir yenilenmesidir. Mide yüzey epitelinin hasar alması durumunda, bütünlüğü bozulan mide epitel hücreleri, hasar gören hücrelerden açığa çıkan mukusun pH'ı 5-6 olan hücre kalıntıları ve kan ögeleri ile mukoza kapillerinden sızan plazma sayesinde birleşerek bir mukus *tıkacı* oluşturulması ile hızlıca onarılır. Hasar eğer derin ise hasarı kapatmak için epitel hücreler, fibroblastlar ve anjiogenezi içeren hücre proliferasyonu gereklidir.

### 2.1.9.5. Prostaglandinler

Prostaglandinler, mukozanın korunmasında önemli rol oynar. Asit salınımını inhibe ederken, mukus ve bikarbonat iyonunun salgılanmasını stimule ederler. Mukozal kan akımını ve hasar sonrası hücre çoğalmasını arttırmaları. NSAİİ'ler prostaglandin sentezini direkt etkilediğinden ülser oluşumuna sebebiyet verirler (Saika ve diğ., 1999; Botting, 2006).

### 2.1.10. Mukozaya Zarar Verici Faktörler

Mide asit salgısını asetilkolin, histamin, gastrin gibi endojen maddeler, safra tuzları (Whittle, 1977; Nehra ve diğ., 1999) , etil alkol (Yanardag ve diğ., 2007) , kafein (Sagar ve Ahamed, 1999) , aspirin, NSAİİ'ler ve *Helicobacter pylori* gibi faktörler etkiler.

## 2.2. DENEYSEL MİDE HASARI OLUŞTURMA MODELLERİ

### 2.2.1. NSAİİ'ler ile Oluşturulan Mide Hasar Modelleri

NSAİİ ilaçlar; analjezik, antipiretik, antiinflamatuvar ve romatizmal hastalıklarda ortaya çıkan ağrı, ateş gibi semptomları gidermede oldukça yaygın bir şekilde kullanılan ilaçlardır. Bazıları analjezik, bazıları antiinflamatuvar, bazıları ise hem analjezik hem de antiinflamatuvar etki gösterirler (Yentür, 2006). Bu ilaçların kullanımına bağlı olarak gastrointestinal sistem ve böbreklerde ciddi yan etkiler görülmektedir. Bu grup ilaçlar PG sentezini azaltıp, nötrofil aktivasyonunu arttırarak doku hasarını şiddetlendirmeye sebep olur. Özellikle indometazin, aspirin, ibuprofen, meloksikom, tolfenomik asit, flurbirofen gibi ilaçlar örnek olarak verilebilir (Kayaalp, 2012). NSAİİ'lerin oluşturdukları diğer nedenlerden biri ise siklooksijenaz enzimlerini inhibe ederek prostaglandin oluşumunu engellemektedir (Costa ve diğ., 2002).

### 2.2.2. Kimyasal Maddelerle Oluşturulan Mide Hasar Modelleri

NSAİİ'ler dışında bazı kimyasal maddelerle de gastrik hasar oluşturulmuştur. Bunlar; etanol (Süleyman ve diğ., 2002; Yanardag ve diğ., 2007; Arun ve Asha, 2008) ve HCl (Olaleye ve Farombi, 2006) bu kimyasallar içerisinde ülser ya da gastrik hasar oluşturmada en çok tercih edilen kimyasallardır. Temel amaç serbest radikallerin oluşması ve membranda hasar meydana gelmesidir.

Diğer yöntemler ise; 18 saat süreyle aç bırakma, +4°C’de bekletme, 10 saniye ile 80°C’de sıcak suda bekleterek yanık stresi oluşturma, strese maruz bırakma, yüzmeye mecbur bırakma gibi metodlar (Yoshikawa ve diğ., 1990) dır.

### 2.2.3. Stres ve Yaşam Tarzı

Emasyonel faktörler (kişilik bozukluğu, pessimist, aşırı bağımlılık vb.) mide motor fonksiyonlarını ve mide sekresyonunu etkileyerek mide asit salgısını arttırıcı yönde negatif etki yapar (Bures, 2004).

### 2.2.4. Yaş

İleri yaşlarda, araşidonik asitin prostaglandin’e dönüşümünün azalması sebebiyle prostaglandin düzeyleri azalır ve gastrointestinal kanamalar ile gastrik mukoza hasarları ülser oluşturma riskini arttırır (Wongrakpanich ve diğ., 2018).

Türkiye’de duodenal ülser için yaş aralığı 20-50 iken mide ülseri için 30-60 yaş aralığındadır. Genç yaşlarda duodenal ülser, ileri yaşlarda ise mide ülseri daha sık olarak görülür (Menteş, 1982).

### 2.2.5. Alkol

Aşırı alkol alımı gastrik mukozal bariyere zarar vererek hasar riskini arttırır. Bu sebeple etanol uyarımlı gastrik mukoza hasar modelleri, insan gastrik ülserine sebep olan nedenlerin incelenmesinde sıkça kullanılır (Liu ve diğ., 2012).

## 2.3. SERBEST RADİKALLER

*In vivo* sistemlerde, serbest radikal üretimi gerek patolojik koşullarda gerekse fizyolojik metabolizmada sürekli gerçekleşen bir olaydır. Serbest radikaller, bir veya daha fazla eşleşmemiş elektronu olan atom veya moleküller olarak tanımlanabilir (Ardoin ve Sundry, 2006). Bu moleküller içerdikleri eşleşmemiş elektronlardan dolayı oldukça reaktiftirler. Serbest radikaller karşılaştığı birçok radikal olmayan atom veya moleküllerle reaksiyona girebilirler. Ömürleri kısa olmasına rağmen, girdikleri reaksiyonlarda bir zincir reaksiyonu oluşturarak, birçok radikal atom veya molekül ortaya çıkarabildikleri için oldukça tehlikelidirler (Holley ve Cheeseman, 1993). Reaktif oksijen ve azot türleri Tablo 2.1’de gösterilmiştir.

**Tablo 2.1:** Reaktif oksijen ve azot türleri (Kılınç ve Kılınç, 2002; Gruhlke ve Slusarenko, 2012).

Serbest radikaller			
Oksijen türevleri		Azot türevleri	
Tür	İsim	Tür	İsim
RO·	Alkoksi radikali	NO <sub>2</sub> ·	Azot dioksit
<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	Singlet oksijen	NO	Nitrik oksit
O <sub>2</sub> ·	Süperoksit	NO <sub>2</sub> <sup>+</sup>	Nitril katyonu
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen peroksit	NO·	Nitroksil
OH·	Hidroksil radikali	NO <sup>+</sup>	Nitrozil
ROO·	Peroksil radikali	ONOO·	Peroksinitrit
ROOR·	Endoperoksit	ONOO·	Peroksinitrit radikali
HO <sub>2</sub> ·	Hidroperoksi radikali		

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikal kaynağı oksijendir. Başlıca reaktif oksijen türleri; süperoksit radikali (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), hidrojen peroksit radikali (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), hidroksil radikali (OH·), nitrik oksit radikali (NO), singlet oksijen radikali (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>), peroksil radikali (ROO·), hidroperoksi radikali (HO<sub>2</sub>·) ve alkoksil radikali (RO·)'dir. Oksijen atomu, eşleşmemiş elektron çiftine sahip olduğundan dolayı serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerken, radikal olmayanlarla daha yavaş reaksiyona girer (Cross ve diğ., 1994).

Serbest radikaller vücutta doğal metabolik yollarla oluşur fakat antioksidan sistemlerle ortadan kaldırıldığından herhangi bir sitotoksositeye neden olmaz. Fakat bu işleyiş radikaller lehine bozulduğunda ise patolojik olaylar gelişmeye başlar.

Serbest radikaller hücrede lipit, protein, karbohidrat ve DNA gibi çok önemli yapılarda etkilidir. Membranı oluşturan fosfolipitler, glikolipitler, gliseritler gibi doymamış yağ asitleri ve membran proteinleri radikaller için hedef halindedirler (Karakaya-Sayılgan, 2008).

Serbest radikaller plazma membranından geçmek zorunda olduğundan meydana gelecek olan hasardan çok çabuk etkilenirler. Reaktif oksijen metabolitlerin önemli bir kaynağı da araşidonik

asittir. Prostaglandin sentezi sırasında hidroksil radikali ya da diğer radikallerin üretimi, siklooksijenaz (COX)'ın feed-back regülasyonuna neden olur böylece prostaglandin sentezinin hızını ve süresini etkiler (Hemler ve diğ., 1979).

Hücre içerisindeki serbest radikal kaynakları; endoplazmik retikulumlardaki sitokrom P<sub>450</sub> siklooksijenaz, lipooksijenaz, ksantin oksidazdır (Cerutti, 1985). Serbest radikaller makrofaj, nötrofil ve eozinofil gibi fagositik hücreler tarafından üretilip, hemen hemen bütün aerobik hücrelerde bulunur (Halliwell ve Gutteridge, 1984).

### 2.3.1. Serbest Radikal Çeşitleri

*Süperoksit radikali (O<sub>2</sub><sup>-</sup>):* Oksijenin dışarıdan bir elektron alarak indirgenmesi sonucu serbest süperoksit radikal anyonu meydana gelir. Süperoksit radikali nadir olarak oksidatif hasara neden olur, çünkü hızlı bir şekilde süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye çevrilirler. Süperoksit radikallerinin asıl zararları, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaynağı ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmalarıdır (Weiss ve Lobuglio, 1982).

*Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>):* Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl kaynağı, süperoksidin dismutasyon reaksiyonu ile olur. İki süperoksit molekülü, süperoksidin dismutasyonu reaksiyonunda iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar (Akkuş, 1995).



Ortaklanmamış bir elektron içerdiğinden dolayı zayıf oksidan özelliği gösterir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> serbest bir radikal olmadığı halde, geçiş metallerinin varlığında en önemli serbest oksijen radikali (SOR) içine girer ve serbest radikaller içerisinde oldukça önemli bir rol oynar. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin bir başka önemli görevi de hücre içi sinyal molekülü olarak rol almasıdır. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşuktan sonra katalaz, glutatyon peroksidaz ve peroksiredoksinler gibi enzim sistemi tarafından ortamdaki uzaklaştırılır (Okada ve diğ., 1994).

*Hidroksil radikali (OH):* Hidroksil radikali; geçiş metallerinin varlığında hidrojen peroksidin indirgenmesiyle "Fenton reaksiyonu", hidrojen peroksidin süperoksit radikali ile reaksiyona girmesi ile de "Haber-Weiss Reaksiyonu"nu oluşturur (Ward, 1991; Henle ve Linn, 1997; Mates ve diğ., 1999).

Hidroksil radikali yarılanma ömrü çok kısa, fakat son derece reaktif olan olduğu yerdeki bütün tüm biyolojik molekülleri etkileyen ve büyük hasara neden olan bir oksidan radikaldir. En aktif ve en toksik serbest radikal olduğundan dolayı, açığa çıktığı hücre kompartmanından uzaktaki hücre bileşenleri ile, difüzyona bile gerek kalmadan reaksiyona girebilir. DNA bazlarına veya DNA'nın deoksiriboz iskeletine, lipit peroksidasyonuna, araşidonik asit gibi doymamış asitlere etki ederek yapıda hasar meydana getirmektedir.

Singlet oksijen ( $^1O_2$ ): Ortaklanmamış elektronu olmadığı için bir radikal olmayan, serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiği gibi serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına sebep olan reaktif oksijen molekülüdür.

Nitrik oksit (NO): Nitrik oksitin hücresel düzeyde koruyucu etkileri vardır, fakat oksidatif stres altında süperoksit radikali, süperoksit dismutaz enzimi tarafından yeterli bir şekilde yok edilemediği için peroksinitriti oluştururlar. SOD fizyolojik şartlarda hücrede yüksek konsantrasyonda bulunduğu için, nitrik oksit tarafından kolaylıkla ortadan kaldırılabilir. Diğer radikallerle birlikte şeker hastalığı, septik şok, kalp bozuklukları, Alzheimer hastalığı ve gastrik hasar oluşumunda etkili olduğu düşünülmektedir (Marmol ve diğ., 2009).

Diğer radikaller: Serbest oksijen radikallerinin etkisi sonucu karbon merkezli radikaller, tiyol radikalleri, peroksil radikalleri, alkoksil radikalleri gibi serbest radikaller oluşabilir. Polidoymamış yağ asitlerinden oluşan peroksil radikali yarı ömrü uzun olan radikaldir. Tiyol radikalleri ise oksijenle yeniden reaksiyona girerek sülfenil veya tiyol peroksil gibi radikalleri oluşturabilirler (Akkuş, 1995).

### **2.3.2. Serbest Radikallerin Biyomoleküllere Zararları**

#### **2.3.2.1. Serbest Radikallerin Oluşturduğu Nükleik Asit ve DNA Hasarı**

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA'nın nükleotitleri ile reaksiyona girerek DNA dizisinde çatlaklar meydana getirip, bu hücrelerin kanser hücrelerine dönüşmesine neden olabilirler. Hidroksil radikali, DNA'nın bütün komponentlerine hücum edip, hücre dışına radikal salarak hasarı komşu hücrelere yayabilir. Hidrojen peroksit, membranları kolaylıkla geçerek hücre çekirdeğine ulaşır. Böylece hücrede fonksiyonların bozulmasına ve hücre ölümüne bile neden olabilecek DNA hasarına sebep olur (Cochrane, 1991; Halliwell, 1994; Croteau ve Bohr, 1997).



### ***2.3.2.2. Serbest Radikallerin Lipitler Üzerine Etkileri***

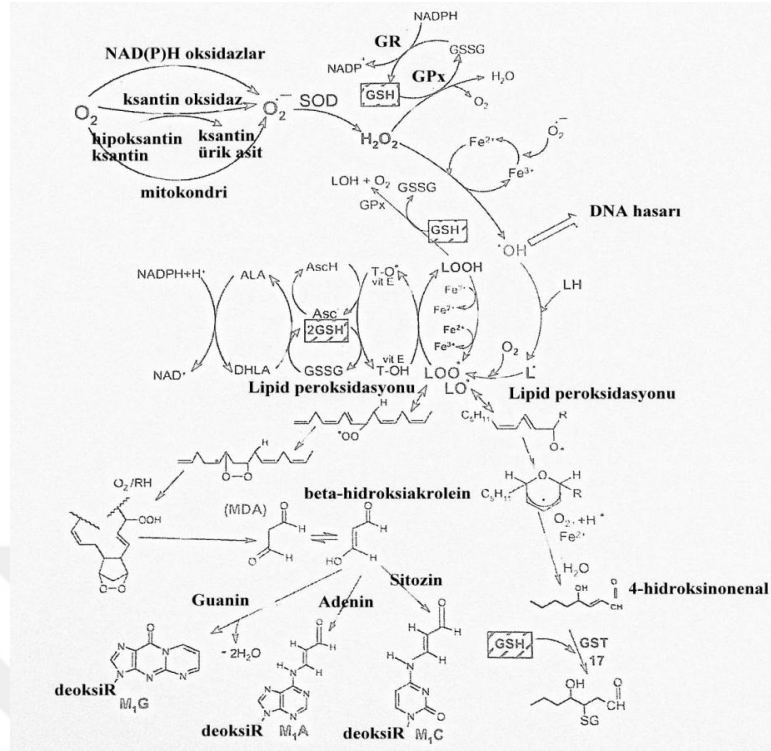
Tüm biyomoleküller içerisinde serbest radikallerden en çok etkilenen moleküller lipitlerdir. Membran kolestrolü ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle reaksiyonu sonucu peroksidasyon ürünleri meydana getirirler (Akkuş, 1995). Lipit peroksidasyonu, poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif hasarı olarak nitelendirilmektedir. Yeni radikaller üreterek zincir reaksiyonu şeklinde ilerler, bu nedenle oldukça zararlıdır ve geri dönüşümsüz bir hasar oluşur (Davies ve Goldberg, 1987).

### ***2.3.2.3. Serbest Radikallerin Karbohidratlar Üzerine Etkileri***

Karbohidratlar da serbest radikallerden etkilenirler ve bunun sonucunda patolojik süreçlerde yer alan çeşitli ürünler meydana gelir. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu peroksitler, hidrojen peroksit, glioksal ve okzaldehitler oluşur. Okzaldehitler, DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturabilme özelliklerinden dolayı, antimitotik etkiye sahiptirler. Böylece kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar (Akkuş, 1995; Valko ve diğ., 2007).

### ***2.3.2.4. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri***

Proteinler serbest radikallerin etkilerine karşı daha az hassastır. Bunun nedeni içerdikleri amino asit bileşimine bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren amino asitlere (triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin, sistein) sahip olan proteinler kolaylıkla okside olabilirler. Bunun sonucunda proteinlerin radikallerle reaksiyona girmesiyle karbon merkezli radikaller ve sülfür radikalleri meydana gelir (Freeman ve Crapo, 1982) (Şekil 2.8).



**Şekil 2.8:** Reaktif oksijen türlerinin makromoleküllerle etkileşimleri sonucu oluşan ürünleri (Valko ve diğ., 2006).

## 2.4. ANTİOKSİDANLAR

Canlı sistemde oluşan serbest radikallerin zararlı etkilerini önlemek için organizmada çok sayıda koruyucu mekanizmalar vardır. Koruyucu mekanizmalar hem serbest radikal oluşumunu hem de serbest radikallerin zararlı etkilerini önler. Canlıların serbest radikallerin zararlı etkilerinden koruyabilmek için oluşturdukları koruma sistemine *antioksidan savunma sistemi* denir (Yerer ve Aydoğan, 2000; Tekkes, 2006). Diğer bir deyişle, radikallerle hızlıca reaksiyona girip otooksidasyon/peroksidasyonu önleyen ya da azaltan maddeler *antioksidan*, bu olaya *antioksidan savunma sistemi* denir (Dündar ve Aslan, 2000).

Antioksidanların etki tipleri dört farklı şekildedir:

- Onarıcı (Repair) Etki: Peroksidasyon zincirini tamir ederler.
- Zincir Kırıcı (Chain Breaking) Etki: Serbest oksijen radikalleriyle bağlanarak zincirlerini kırarlar ve böylece fonksiyonlarını engellerler. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller örnek verilebilir.

- c) Bastırıcı (Quencher) Etki: Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktarırlar, böylece aktivitelerini azaltır ya da durdurur. Trimetazidin, flavonoidler, vitaminler, antosiyanoidler örnek verilebilir (Adam, 2012).
- d) Toplayıcı (Scavenging) Etki: Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutar ya da daha zayıf bir moleküle dönüştürme toplayıcı etki olarak adlandırılır. Trakebronşial mukus, antioksidan enzimler ve küçük moleküller bu etkiyi gösterir (Thomas, 2000). Antioksidanlar, enzimatik ve non-enzimatik olmak üzere iki kısma ayrılırlar.

#### 2.4.1. Enzimatik Antioksidanlar

Serbest radikallere karşı, hücre savunmasındaki en etkili antioksidanlardır.

*Süperoksit dismutaz (SOD)*: Organizmada serbest radikallere karşı ilk savunmayı SOD enzimi sağlar. Bu enzim, süperoksitin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümü reaksiyonunu katalizler.

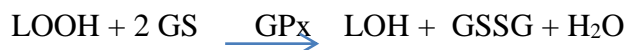


SOD, katalaz ve glutatyon peroksidazdan farklı olarak serbest radikali substrat olarak kullanır. Hemen hemen bütün canlılarda bulunan SOD, yaş ilerledikçe aktivitesi artar.

*Katalaz (CAT)*: Yapısında 4 tane hem grubu olan hidrojen peroksiti oksijen ve suya parçalayan ve tüm canlı hücre tiplerinde farklı konsantrasyonlarda bulunan bir hemoproteindir. Bütün enzimler içinde en yüksek turnover sayısına sahiptir. Daha çok peroksizomlarda lokalize olan bu enzim kan, kemik iliği, mukoz membranlar, karaciğer ve böbreklerde yüksek miktarlarda bulunmaktadır (Scibior ve Czczot, 2006).



*Glutatyon peroksidaz (GPx)*: Hücrelerde oluşan hidroperoksitlerin indirgenmesini sağlayan ve yağ asidi peroksitlerinin alkollere dönüşümünü katalize eden enzimdir. İntraselüler mesafede lipitleri peroksidasyondan koruyan bu enzim, hücrenin özellikle sitozolik kompartımanında yer alır, hücrenin yapısını ve fonksiyonunu korur (Tsai, 1975).



Hidroperoksitlerin redükte olmasıyla meydana gelen okside glutasyon (GSSG), glutasyon redüktazın (GR) katalizlediği reaksiyon ile tekrar glutasyon (GSH)'a dönüşür. GPx'in hücredeki dağılımı, GR'a bağlıdır.

*Glutasyon redüktaz (GR)*: Yükseltgenmiş glutasyonu (GSSG), indirgenmiş glutatyona (GSH) katalizleyen enzimdir. Koenzimi NADPH ve prostetik grubu FAD'dir. Hem sitozol hem de mitokondride bulunmaktadır. En önemli görevi, organizmada GSH gibi önemli antioksidanların indirgenmiş halde tutulmasını sağlamaktır (Tandogan ve diğ., 2011).

*Glutasyon-S-transferaz (GST)*: Başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı selenyum-bağımsız GPx aktivitesi göstererek bir antioksidan savunma mekanizması oluştururlar (Akkuş, 1995).



*Miyeloperoksidaz (MPO)*:  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'den hipoklorik asit (HOCl) oluşturan MPO enzimi nötrofil granüllerinde yoğun miktarda bulunur. MPO aktivitesi, pH'ın asidik oluşuna bağlı olarak artar.  $\text{H}_2\text{O}_2$  ile MPO,  $\text{Cl}^-$  iyonlarını kullanarak HOCl oluşturmaktadır.

#### 2.4.2. Non-Enzimatik Antioksidanlar

*C Vitamini (Askorbik asit)*: Organizmada son derece güçlü bir indirgen ve antioksidan olarak görev yapar. Peroksil radikali, süperoksit, hidrojen peroksit lipid peroksidasyonunun inhibisyonunda oldukça önemlidir. Antioksidan olarak; singlet oksijen, süperoksit ve hidroksil radikalleri ile kolayca reaksiyona girerek, onları etkisiz hale getirir. Lipit peroksidasyonunun başlatıcı radikallerini temizleyerek, lipitleri ve membranları da oksidan hasarına karşı korur. Askorbik asit, DNA oksidasyonunun inhibisyonuyla kansere karşı korurken, immun sistemi uyararak karsinogenezi azaltır. LDL oksidasyonunun güçlü bir inhibitörü olduğu da bildirilmektedir (Frei, 1999).

*E vitamini ( $\alpha$  – tokoferol)*: C vitamini gibi E vitamini de lipit peroksidasyonuna karşı serbest radikal temizleyicisidir. Singlet oksijenin kuvvetli bir tutucusu olan E vitamini, süperoksit, hidroksil radikali ve peroksil radikali ile direkt olarak reaksiyona girebilir. İnce bağırsaktan kolayca emilen ve vücudun tüm dokularına taşınıp, hücre membranları etrafında depolanan E vitamini böylece membranda koruyucu bir tabaka oluşturur.

*Glutasyon:* GSH, organizma için çok önemli bir indirgenmiş tripeptittir. Glutamat, sistein ve glisinden sentezlenir. GST, GPx, GR enzimlerinin substratı ve ko-substratıdır. Hücre içerisinde belirli miktarlarda bulunan GSH, protein ve DNA sentezi, enzim aktivitesi transport, metabolizma ve oluşan oksidatif strese karşı hücre savunması gibi birçok önemli fonksiyonları vardır.

*Ürik asit:* Pürin metablozmasının son ürünü (insan ve primatlarda) olan ürik asit, ksantin oksidazın oksipürünleri (ksantin, hipoksantin gibi) oksitlemesi ile oluşur. Singlet oksijen, süperoksit ve peroksil radikallerini temizler. Plazma konsantrasyonlarında demir ve bakır iyonlarını bağlayarak etkisiz hale getirir ve böylece antioksidan özellik sağlar.

*Karotenoidler ve retinoitler:* A vitamini ön maddesi olan beta karoten en önemli örneğidir. Karotenoidler, singlet oksijeni baskılayarak peroksit radikallerini temizlemektedir (Seven ve Candan, 1996; Uysal, 1998; Yalçın, 1998).

*Bilirubin:* Hem katabolizmasının son ürünüdür. Singlet oksijen, hipoklorik, peroksinitrit gibi reaktif oksijen ve nitrojen türevlerini baskılar. Lipit peroksidasyonunu inhibe edici ve hidroksil radikallerini toplayıcı etkisi olduğu bildirilmektedir (Seven ve Candan, 1996; Uysal, 1998; Yalçın, 1998).

*Ubikinonlar:* Kinon türevidir. Singlet oksijen ve oksijen kaynaklı radikallerle birleşerek lipit peroksidasyonunun başlatarak biyomoleküllerin hasar görmesini önler (Seven ve Candan, 1996; Uysal, 1998; Yalçın, 1998).

*Melatonin:* Pineal bezden salgılanan antioksidan bir hormondur. Direkt radikal temizleyici, indirekt olarak da antioksidandır (Daqing ve diğ., 2003).

### **2.4.3. Eksojen Antioksidanlar**

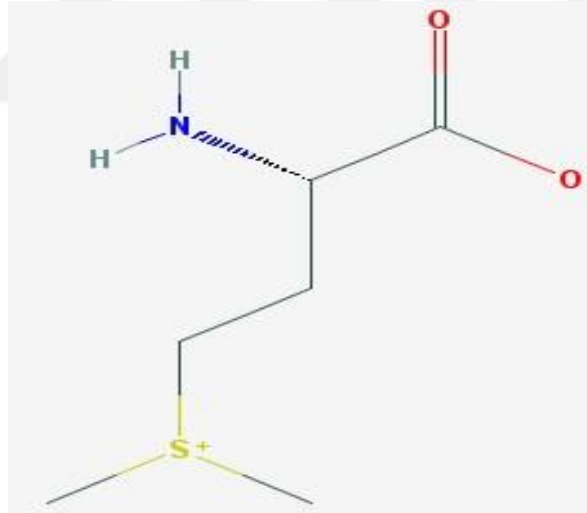
İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar: ksantin oksidaz inhibitörleri, NADPH oksidaz inhibitörleri, rekombinant süperoksit dismutaz, nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar, demir selektörleri.

Gıdalardaki eksojen antioksidanlar: Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), bütillenmiş hidroksianizol (BHA), sodyum benzoat, propil gallat, demir-süperoksit dismutaz.

## 2.5. U VİTAMİNİ (S-METİL METİYONİN)

U vitamini olarak da bilinen S-metil-metiyonin'in molekül ağırlığı 164.25 g/mol'dür. Kükürt metabolizmasında önemli bir ara bileşik olan S-metil-metiyonin, homosistein metiltransferaz ve metiyonin metiltransferaz gibi enzimlerle L-metiyoninden sentezlenir (Bourgis ve diğ., 1999; Watanabe ve diğ., 2000; Augspurger ve diğ., 2005; Lee ve diğ., 2012; Ogawa ve Mitsuya, 2012). Ağırlıklı olarak Brassicaceae ailesine ait türlerde (brokoli, lahana, kereviz, karnıbahar), ayrıca domates, mısır, sarımsak, ıspanak gibi yiyeceklerde ve birçok çiçekli bitkilerin doku ve organlarında bol miktarlarda bulunur (Augspurger ve diğ., 2005; Racz ve diğ., 2008; Sokmen ve diğ., 2012; Garcia-Lopez, 2012).

Vitaminlerin sınıflandırılmasında yer almasa da vitamin olarak değerlendirilmektedir. U vitamini bileşiminde yer alan kükürt birçok alanda katkı sağlamaktadır. Kükürt bitki gelişiminde, klorofil oluşturmada, antioksidan üretiminde, protein sentezinde vb. önemli rol oynar (Jander ve Joshi, 2010) (Şekil 2.9).



**Şekil 2.9:** U vitaminin'in yapısı (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>).

U vitamini ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Bunlardan ilki U vitaminin hiperlipidemiye olan etkisidir. Seri ve ark. (1978 ve 1980) yaptığı deneysel yolla oluşturulan hiperlipidemi çalışmasında, U vitaminin kandaki fosfolipit ve kolesterol seviyelerini düzenlediği yönündedir. U vitaminin hipolipidemik etki gösterdiği bildirilmiştir.

Sonraki çalışmalar ise kükürt bileşiği olarak kabul edilen U vitaminin hücre hasarı, membran dengesi, gastrit ve peptik ülser, musin, mide mukoza hasarına karşı koruyuculuğu olup

olmadığının belirlenmesi amacıyla birçok hasara karşı yapılmıştır. Salim (1991 ve 1993), Watanable ve diğ. (2000), Ichikawa ve diğ. (2009), Lee ve diğ. (2012) tarafından yapılan çalışmalarda U vitaminin koruyucu etki gösterdiği kanıtlanmıştır.

U vitamininin hipolipidemi ve gastrointestinal sisteme etkisinin yanı sıra dermatolojik etkisi de incelenmiştir. U vitaminin uygulanmasıyla, fibroblastların aktivitesi artarak ciltte hasar onarımını gerçekleştirmektedir (Kim ve diğ. 2010). Ayrıca UV ile oluşan cilt hasarını fotokoruyucu etki göstererek azaltmaktadır (Kim ve diğ., 2015).

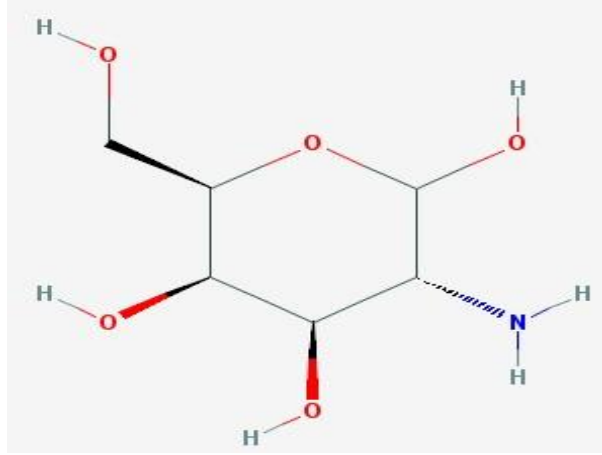
Bu çalışmalara ek olarak antiinflamatuvar (Urazaeva, 1976) antidepresan özelliğe sahip olduğu ve metabolik sendromu (Matsumoto ve diğ., 2011) önlediğini de ileri sürülmektedir. Çeşitli araştırmacılar tarafından U vitamini çeşitli dokularda oksidatif stres sonucu oluşan hasarları önlediği öne sürülmüştür (Sokmen ve diğ., 2012; Tunalı ve diğ., 2015; Gezginci-Oktayoglu ve diğ., 2016).

## **2.6. D-GALAKTOZAMİN (GALN)**

Toksik maddeler, enzim aktivitelerini ve hücre yapısını değiştirirler. Hatalı ya da yetersiz protein sentezi, enzim aktivitelerindeki değişiklikler, düzenleyici mekanizmanın bozulmasına neden olarak hücre yapı ve fonksiyonunun değişmesine sebep olur (Decker ve Keppler, 1974).

D-Galaktozamin (GalN)'in sistematik adı, 2-amino-2-deoksi-D-galaktopiranoz'dur. Moleküler formülü  $C_6H_{13}NO_5$  olan galaktozamin'in molekül ağırlığı ise 179.172 g/mol'dür. Toksik olarak rol oynayan GalN, galaktozun 6-karbonlu amino şeker türevidir. Fizyolojik koşullarda, folikül uyarıcı hormon (FSH) ya da luteinleştirici hormon (LTH) gibi spesifik glikoprotein hormonların bileşenidir (Wu ve diğ., 2014). D-GalN, karaciğerde galaktoz yolağında metabolize olan selektif bir hepatotoksindir (Newsome ve diğ., 2000).

D-GalN karaciğer hasarı oluşturan, karaciğer hasarı için uygun olan bir deneysel modeldir (Sugimoto ve diğ., 1999; Gujral ve diğ., 2003) (Şekil 2.10).



**Şekil 2.10:** Galaktozaminin yapısı (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>).

D-GalN, galaktokinaz enzimiyle fosforillenerek galaktozamin-1-fosfat'a dönüşür. Galaktozamin-1-fosfat ve UDP-glukoz, galaktoz-1-fosfat üridilil transferaz ile reaksiyona girerek UDP-galaktozamin ve glukoz-1-fosfat oluşturur.

Canlı organizmada, glukozamin gibi amino şekerler UDP ile bağlanmadan N-asetilasyona uğrarlar. D-GalN ise direkt UDP ile bağlanıp hücrede bu bileşiğin birikimine neden olur (Keppler ve diğ., 1969, 1970; Decker ve diğ., 1973; Decker ve Keppler, 1974).

D-GalN uygulandıktan sonra üridin-heksoz ve heksozaminlerin tüketimi görülür. UTP ve UDP-glukoz düzeylerinde de normalin %30'u kadar azalma gösterir (Decker ve diğ., 1973; Decker ve Keppler, 1974).

D-GalN, hepatositlerde intraselüler üridin trifosfat (UTP) havuzunu azaltarak protein sentezi ve RNA sentezinde inhibisyona sebep olur. İntraperitoneal olarak uygulandığında sıçanlarda hepatik nekroza ve komaya yol açar (Ryan ve diğ., 2001; Sun ve diğ., 2003). D-GalN'nin neden olduğu karaciğer hasarının insan viral hepatitine benzediği belirtilmiştir (Sun ve diğ., 2003).

Hepatosit kaybında ana mekanizma hücre içi kalsiyum ( $Ca^{+2}$ ) ve adenosin trifosfat (ATP) seviyeleridir. Kalsiyumdaki artış ATP tüketiminin ve  $Ca^{+2}$  pompasındaki yetersizliğin göstergesidir. Hücresel ATP miktarı hasarın şiddetini, hasarın tipini (nekroz veya apoptoz) belirler. Hücre içi ATP miktarı yeterli ise apoptozis, yetersizse nekroz gelişir (Tsutsui ve diğ., 2003).

Karaciğer hasarı, hücre içi ve hücre dışı arasında elektrokimyasal gradiyent farkından dolayı hücre içine kalsiyum girişinin artması ile ilişkilidir. Artan kalsiyum içeriği hücre ölümüne



neden olan mekanizmaları başlatır. İntraselüler kalsiyum konsantrasyonunun düzenlenmesindeki bozukluğun hücre ölümüne yol açtığı birçok çalışmada gösterilmiştir (Tomas ve Reed, 1989; Tsutsui ve diğ., 2003).

D-GalN'in tek başına uygulanması ile başka bir toksin madde ile beraber uygulanmasında sonuçların farklı olduğu görülmüştür. Yapılan bir çalışmada tek başına uygulanan D-GalN'in düşük oranda apoptoz, yüksek oranda nekroza neden olduğu ifade edilmiştir (Tapalaga ve diğ., 2002; Gujral, 2003).

D-GalN'nin tek olarak uygulanması serbest radikal üretimine sebep olur böylece lipit hidroksiperoksitlerin konsantrasyonu artar ve ayrıca TNF- $\alpha$  karaciğer hücreleri üzerindeki apoptotik etkilerine karşı karaciğer hücrelerini daha hassas hale getirir (Osawa ve diğ., 2001).

Çalışmamızda galaktozamin ile oluşturulan mide hasarında U vitaminin etkileri incelenmiştir.

### 3. MALZEME VE YÖNTEM

#### 3.1. DENEYLERDE KULLANILAN ARAÇ VE GEREÇLER

**Buzdolabı :** Arçelik

**Çalkalayıcı Su Banyosu :** Memmert WB 14

**Çalkalayıcı Su Banyosu :** Memmert WNB 14

**Derin Dondurucular :** New-Brunswick Scientific -76 °C, Beko -20 °C

**Distile Su Cihazı :** Brand MonoDest 3000

**Etüv :** Memmert UNB 500

**Floresans Okuyucu :** BioTek FLx800 Floresans Microplate Reader

**Mikroplate Okuyucu :** BioTek ELx808 Absorbance Microplate Reader

**pH Metre :** Hanna pH/ORPvMeter HI 2211

**Santrifüj Cihazı :** Denley BS400

**Soğutmalı Santrifüj :** Sigma Laboratory Centrifuges 3K30

**Spektrofotometre :** Shimadzu UV-Visible Mini UV-1240

**Spektrofotometre :** Shimadzu UV-1700 UV-Visible Spectrophotometer

**Sonikatör :** Bandelin Sonorex

**Terazi :** Radwag XA 60/220/X Hassas terazi

**Terazi :** Radwag XA AS 220/C/2 Hassas terazi

**UV :** DESAGA MinUVIS Abnehmbar removable UV 254/366 nm (Duo-UV-Source for Thin layer and Column chromatography)

**Vorteks :** Fisons Whirlimixer

### 3.2. DENEYLERDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

Albumin (Merck 112018), 4-aminoantipirin (Fluka 08751), 2-amino-4-naftol-sülfonik asit (Fluka 08751), amonyum molibdat (Merck 1181), asetilaseton (Fluka 900), ATP (Aldrich A26209), n-butanol (Merck 100988), demir-III-klorür heksahidrat (Merck 3946), dimetilamino benzaldehit (Merck 057), 5,5'-dinitro-bis-(2-nitro) benzoik asit (Sigma D8130), dipotasyum tartarat (Merck 5160), EDTA (Merck 8421), etanol (Riedel de Haen 32221), fenol (Merck 5559), fosfotungstik asit (Merck 582), fukoz (Sigma D8150), glukoz (Merck 108337), glukozamin (Fluka 49310), glutasyon (Fluka 49750), hidrojen peroksit (Merck 108600), hidroklorik asit (Merck 100314), 1- klor-2,4- dinitrobenzen (Fluka 24440), potasyum klorür (Riedel de Haen 12636), magnezyum klorür (Fluka 63065), metanol (Merck 106009), m-fosforik asit (Carlo Erba 407465), NADH (Fluka 43420), ouabain (Sigma 03125), orsinol monohidrat (Sigma 01875), siyalik asit (Fluka 01400), sikloheksanon (Merck 102888), sistein (Merck 2839), sodyum disülfid (Merck 6357), sodyum dihidrojen fosfat (Fluka 71642), sodyum hidroksit (Fluka 71691), sodyum hipoklorit (Merck 105614), sodyum karbonat (Analar 10240), sodyum klorür (Merck 106404), sodyum meta periyodat (Fluka 71860), sodyum molibdat (Merck 6521), sodyum sitrat (Merck 6447), sodyum sülfid (Merck 6652), sodyum sülfat (Merck 106649), sülfürik asit (Merck 100748), U vitamini (Fluka 64382), potasyum fosfat (Riedel de Haen 04243), potasyum iyodür (Mallinckrodt 9688), 1-propanol (Merck 1274), sodyum tungstat (Merck 6672), tris (Merck 108382), tiyobarbütirik asit (Fluka 88481), trikloroasetik asit (Merck 100807), 1,1,3,3-tetra etoksi propan (Aldrich T9889).

### 3.3. DENEY HAYVANLARI

Bu çalışma, Marmara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 07.03.2016 tarih ve 034.2016.mar sayılı izni ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda, 5-6 aylık 200-250 g ağırlığında Sprague-Dawley dişi sıçanlar kullanıldı. Deney süresince sıçanlar, hazır yem ve çeşme suyu ile beslendi. Rastgele seçilen ve deney öncesinde bir gece aç bırakılan sıçanlar dört gruba ayrıldı.

Grup I: Kontrol grubu sıçanlar (n=6)

Grup II: U vitamini verilen sıçanlar (n=5)

Grup III:Deney grubu; Galaktozamin verilen sıçanlar (n=5)

Grup IV: Galaktozamin ve U vitamini verilen sıçanlar (n=6)

### 3.4. MİDE HASARININ OLUŞTURULMASI

Grup I (n=6): Kontrol grubu sıçanlara %0.9 NaCl (serum fizyolojik) verildi. Grup II (n=5): U vitamini verilen sıçanlara üç gün boyunca, gavaj yöntemi ile 50 mg/kg'lık U vitamini verildi. U vitamini suda çözülerek hazırlandı. Grup III (n=5): Deney grubu sıçanlara, tek doz olarak 500 mg/kg'lık galaktozamin (GalN) intraperitoneal yolla verildi. GalN, %0.9 NaCl içerisinde çözülerek hazırlandı. Grup IV (n=6): Deney + U vitamini grubu sıçanlara, aynı doz ve zamanda U vitamini ve GalN verildi. Sıçanlara GalN uygulanmadan 1 saat önce U vitamini gavaj yöntemi ile verildi.

### 3.5. MİDE DOKUSU ÖRNEKLERİNİN ALINMASI

Üçüncü günde, GalN uygulamasından 6 saat sonra tüm sıçanlar anestezi altında kesilerek mide dokuları alındı. Mide dokuları serum fizyolojik (% 0.9'luk NaCl) ile yıkandıktan sonra, serum fizyolojik içinde -76°C'de deney gününde kullanılmak üzere saklandı.

### 3.6. MİDE DOKU HOMOJENİZATLARININ HAZIRLANMASI

Deneye başlanacağı zamana kadar -76 °C'de saklanan mide dokuları, deneye başlamadan bir gün önce, -18 °C'ye alındı. Burada bir gün bekletilen dokular daha sonra +4 °C'de bir gece bekletildi. Mide dokuları serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra peçete üzerinde kurutularak tartıma alındı. Dokuların çabuk homojenize olması için makas yardımıyla küçük parçalara ayrıldı. Her biri gereken miktarda serum fizyolojik ile soğuk ortamda cam homojenizatörde seri şekilde homojenize edilerek %10'luk (v/w) çözeltiler hazırlandı. Hazırlanan homojenizatlar +4°C'de soğutmalı santrifüjde 10000 x g'de 30 dakika santrifüje edildi. Elde edilen süpernatantlarda, glutasyon, lipit peroksidasyonu, katalaz, süperoksit dismutaz, glutasyon peroksidaz, glutasyon redüktaz, glutasyon-S-transferaz, miyeloperoksidaz, laktat dehidrojenaz, sodyum-potasyum ATPaz, ksantin oksidaz, ileri okside protein ürünleri, heksoz, heksozamin, fukoz, siyalik asit, total protein miktarları tayin edildi.

### 3.7. MİDE DOKUSUNDA GLUTATYON (GSH) MİKTAR TAYİNİ

Mide dokusunda glutatyon (GSH) miktar tayini için Ellman metodu (Beutler, 1975) kullanıldı. Metodda Ellman ayırıcı olarak görev yapan (DTNB: 5,5'-dinitro-bis-(2-nitro) benzoik asit) ile sülfidril gruplarının reaksiyonu sonucunda oluşan sarı rengin absorbanı spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda köre karşı okundu (Beutler, 1975).

#### Kullanılan Çözeltiler:

**Çöktürme Çözeltisi:** 1.67 g metafosforik asit, 0.2 g Na<sub>2</sub>EDTA (veya K<sub>2</sub>EDTA) ve 30 g NaCl bir miktar distile suda çözülerek son hacim 100 mL'ye tamamlandı. Hazırlanan bu çözelti +4°C'de 3 hafta dayanıklıdır.

**% 1 Sodyum Sitrat Çözeltisi:** 1 g Sodyum sitrat, 100 mL distile suda çözüldü.

**% 40 mg DTNB - Belirtme Reaktifi (Ellman ayırıcı):** 40 mg 5,5'-dinitro-bis- (2-nitro) benzoik asit (DTNB), % 1 sodyum sitrat çözeltisinde çözülerek 100 mL'ye tamamlandı. Bu çözelti +4°C'de 13 hafta dayanıklıdır.

**0.3M Sodyum Sekonder Fosfat Çözeltisi (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>):** 4.2596 g sodyum sekonder fosfat anhidrit tuzu bir miktar distile suda çözüldü. Son hacim 100 mL'ye tamamlandı.

**Glutatyon Standart Çözeltisi (%100 mg):** 10 mg glutatyon distile suda çözüldü ve son hacim 10 mL'ye tamamlandı.

Hazırlanan bu stok çözeltiden % 2, 4, 6, 8, 10 mg şeklinde glutatyon standartları hazırlandı. Bu standartlar yardımıyla glutatyon standart eğrisi çizildi.

#### Deneyin yapılışı:

Bir deney tüpüne 0.5 mL homojenizat ve 0.75 mL çöktürme reaktifi eklenerek karıştırıldı. Ardından 5 dakika boyunca 4000 rpm'de santrifüje edildi. Elde edilen süpernatant ile çalışıldı.

Standart, kör ve numune tüpleri aşağıdaki gibi hazırlandı.

Reaktifler	Kör	Numune	Standart
Supernatant	-	0.5 mL	-
Distile Su	0.5 mL	-	-
Çalışma Standardı	-	-	0.5 mL
Sodyum Sekonder Fosfat Çözeltisi	2 mL	2 mL	2 mL
Belirtme Reaktifi	0.25 mL	0.25 mL	0.25 mL

Tüpler karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında bekletildi. Oluşan sarı rengin absorbansı spektrofotometrede 412 nm'de köre karşı okundu. Mide dokusundaki glutatyon miktarı aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\text{Glutatyon Miktarı (nmol GSH/mg protein)} = (N_{\text{abs}}/S_{\text{abs}}) \times [(2.5 \times A)/307.3] \times 10^6 / P$$

307.3 g/mol = Glutatyon'un molekül ağırlığı

$N_{\text{abs}}$ : Numunenin absorbans değeri

$S_{\text{abs}}$ : Standardın absorbans değeri

A = % mg standart konsantrasyonu

P = % mg doku protein miktarı

### 3.8. MİDE DOKUSUNDA LİPİT PEROKSİDASYONU (LPO) MİKTAR TAYİNİ

Mide dokusunda lipit peroksidasyon tayini Ledwozyw ve diğ. (1986) metoduna göre spektrofotometrik olarak tayin edildi. Lipitlerin yıkım ürünü olan malondialdehit (MDA) ve diğer lipit peroksit ürünler; tiyobarbütirik asit (TBA) ile reaksiyona girerek oluşan kırmızı-pembe rengin absorbansı 532 nm'de spektrofotometrik olarak belirlendi.

#### Kullanılan çözeltiler:

**0.6 M HCl Çözeltisi:** 12.43 mL derişik HCl, 250 mL'ye distile su ile tamamlandı.

**1.22 M Trikloroasetik Asit (TCA) Çözeltisi:** 49.8339 g trikloroasetik asit bir miktar 0.6 M HCl'de çözüldü daha sonra hacmi 250 mL'ye 0.6 M HCl ile tamamlandı.

**1 M NaOH Çözeltisi:** 4 g NaOH bir miktar distile suda çözülüp hacmi 100 mL'ye distile su ile tamamlandı.

**0.047 M TBA (Tiyobarbütirik Asit) Çözeltisi:** 500 mg TBA, 6 mL 1 M NaOH ve 69 mL distile suda çözüldü.

**4.4 nmol/mL LPO Stok Standart Çözeltisi:** 0.1 mL 1,1,3,3-tetra etoksi propan bir miktar distile suda çözülüp hacmi 100 mL'ye yine distile su ile tamamlandı.

**LPO Çalışma Çözeltisi:** 0.1 mL LPO stok standardı distile su ile 100 mL'ye hacmi tamamlandı.

**n-Bütanol :** Orijinal şişesinden kullanıldı.

#### Deneyin yapılışı:

Mide dokusunda lipit peroksidasyon tayini için numune, standart ve kör tüpleri aşağıdaki gibi hazırlandı.

Reaktifler	Kör	Numune	Standart
Doku Homojenizatu	-	0.5 mL	-
TCA	2.5 mL	2.5 mL	2.5 mL

Tüpler vorteksle karıştırıldıktan sonra 15 dakika beklendi.

Standart	-	-	0.5 mL
Distile Su	0.5 mL	-	-
TBA	0.75 mL	0.75 mL	0.75 mL

Tüpler vorteksle karıştırılıp ağızları bilye ile kapatılarak 30 dakika kaynar su banyosunda bekletildi.

n-Bütanol	2 mL	2 mL	2 mL
-----------	------	------	------

Tüpler daha sonra soğutulup üzerine 2 mL n-bütanol ilave edildi ve vortekslendi. Ardından 10 dakika 3000 rpm'de santrifüje edildi. Bütanol fazı alınarak 532 nm'de spektrofotometrede köre karşı okundu.

Mide dokusunun LPO miktarı aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

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

4.4 = Standart çözelti (nmol/mL TEP)

P = % mg cinsinden doku protein miktarı

$N_{\text{abs}}$ : Numunenin absorbens değeri

$S_{\text{abs}}$ : Standardın absorbens değeri

### 3.9. MİDE DOKUSUNDA KATALAZ (CAT) AKTİVİTESİNİN TAYİNİ

Mide dokusunda katalaz (CAT) aktivitesi, Aebi (1984) yöntemine göre tayin edildi. Bu yöntemde göre  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'nin katalaz enzimiyle  $\text{H}_2\text{O}$ 'ya dönüşümü sağlanarak, meydana gelen absorbens değerinin azalması spektrofotometrede 240 nm'de ölçüldü.

#### **Kullanılan Çözeltiler:**

**Serum Fizyolojik (%0.9 NaCl):** 9 g NaCl bir miktar distile suda çözülerek hacmi 1 L'ye tamamlandı.

**50 mM Sodyum-Potasyum Tamponu (pH:7.0):** 0.6804 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , az miktarda distile suda çözüldü, distile suyla hacmi 100 mL'ye tamamlandı. 0.7098 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , az miktarda distile suda çözüldü ve hacmi 100 mL'ye tamamlandı. pH tamponu için 9 hacim  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  ve 1 hacim  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  alındı. Karıştırıldı ve çözeltinin pH'ı 7'ye ayarlandı.

**30 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$ :** 258  $\mu\text{L}$  %35'lik  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 50 mM pH:7.0 fosfat tamponuyla hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

#### **Deneyin Yapılışı:**

Kör ve numune tüpleri aşağıdaki tabloda belirtildiği gibi hazırlandı. Belirtilen formül yardımıyla enzim aktivitesi hesaplandı.



Reaktifler	Kör	Numune
Doku Homojenizati	-	0.5 mL
Serum Fizyolojik	0.5 mL	-
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	2 mL	2 mL

Katalaz Aktivitesi (U/mg protein) =  $\Delta OD / 0.0436 \times V_T / V_N \times f$

Katalaz'ın Spesifik Aktivitesi = (Katalaz Aktivitesi)/(mg protein)

$V_T$  = Toplam hacim

$V_N$  = Numune hacmi

$f$  = Seyreltme katsayısı

### 3.10. MİDE DOKUSUNDA SÜPEROKSİT DİSMUTAZ (SOD) AKTİVİTESİNİN TAYİNİ

SOD aktivitesi, riboflavin ile duyarlandırılmış o-dianisidinin fotooksidasyon hızını artırma yeteneği olarak ölçülür.

Riboflavinin floresans ışığı etkisi ile oluşturduğu süperoksit radikali, ortamdaki SOD'un etkisi ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dönüşür. Oluşan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile o-dianisidinin reaksiyona girmesi ile meydana gelen renkli ürünün absorbanansı 460 nm'de spektrofotometrede ölçülür.

Çalışmamızda mide dokusunda SOD aktivitesi Mylorie ve diğ. (1986) yöntemi kullanılarak tayin edildi.

#### Kullanılan Çözeltiler:

**50 mM Sodyum-Potasyum Fosfat Deney Tamponu (pH:7.8):** 0.7098 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> tartıldı, distile suda çözüldü. Hacmi 100 mL'ye tamamlandı. 0.6804 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> tartıldı, distile suda çözüldü. Hacmi 100 mL'ye tamamlandı. Hazırlanan çözeltilerden 9 hacim Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ve 1 hacim KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> alındı. Karıştırıldı ve pH'ı 7.8'e ayarlandı.

#### 10 mM Sodyum-Potasyum Fosfat Tamponu (pH:7.8):

0.142 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> bir miktar distile suda çözüldü. Son hacim distile su ile 100 mL'ye tamamlandı. 0.136 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> bir miktar distile suda çözüldü, son hacim 100 mL'ye distile su

ile tamamlandı. pH:7.8 tamponu için 9 hacim  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  ve 1 hacim  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  olacak şekilde karıştırıldı.

**SOD Tamponu:** 3.7 mg  $\text{Na}_2\text{-EDTA}$  tartıldı. 100 mL 50 mM sodyum/potasyum fosfat tamponu (pH:7.8) ile çözüldü. Bu çözelti SOD tamponu olarak kullanıldı.

**6 mM o-Dianisidin hidroklorür Çözeltisi:** 19 mg o-dianisidin hidroklorür tartıldı, distile suda çözüldü. Son hacim 10 mL'ye distile su ile tamamlandı.

**0.2 mM Riboflavin Çözeltisi:** 1.8 mg riboflavin tartılarak, 25 mL 10 mM sodyum-potasyum fosfat tamponunda (pH:7.8) çözüldü.

**SOD Standardı (10 U/mL):** SOD standardından konsantrasyonları 2, 4, 6, 8, 10 U/mL olacak şekilde seyreltmeler yapılarak standart çözeltiler hazırlandı.

#### Deneyin yapılışı:

Mide dokusunda SOD aktivitesi tayini aşağıdaki şekilde hazırlanarak yapıldı

Reaktifler	Kör	Numune	Standart
SOD Tamponu	2.7 mL	2.6 mL	2.6 mL
o-Dianisidin hidroklorür Çözeltisi	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL
Doku Homojenizatı	-	0.1 mL	-
Standart Çözeltisi	-	-	0.1 mL
Riboflavin Çözeltisi	0.2 mL	0.2 mL	0.2 mL

Tüplerin absorbansı, köre karşı 460 nm'de okunduktan sonra bütün tüpler, 8 dakika boyunca karanlıkta ultraviyole (UV) ışığı altında bekletildi. 8. dakika sonunda tüplerin absorbansı, köre karşı yeniden okundu. 0. ve 8. dakikadaki absorbans farkları alındı. Numunelerin SOD aktivitesi, standartlar kullanılarak çizilen grafikten Unite/mg protein olarak hesaplandı.

### 3.11. MİDE DOKUSUNDA GLUTATYON PEROKSİDAZ (GPX) AKTİVİTESİNİN TAYİNİ

Mide dokusunda glutatyon peroksidaz aktivitesi (GPx) Wendel (1981) metodu kullanılarak tayin edildi. Glutatyon peroksidaz  $H_2O_2$  varlığında GSH'ın okside glutatyona (GSSG) yükseltgenmesini katalizler. GPx reaksiyonu ile oluşan GSSG, NADPH'nın indirgeyici substrat olarak kullanıldığı glutatyon redüktaz reaksiyonu ile tekrar GSH'ya dönüşür. Bu reaksiyonlar sırasında NADPH'nın NADP'ye yükseltgenmesi ile oluşan absorbans azalışı 366 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülerek GPx aktivitesi hesaplanır (Wendel, 1981).

#### Kullanılan Çözeltiler:

**250 mM Sodyum-Potasyum Fosfat Tamponu (pH:7.0):** 3.4022 g  $KH_2PO_4$  tartılıp, distile suuda çözülerek hacmi 100 mL'ye tamamlandı. 3.5490 g  $Na_2HPO_4$  tartılıp distile suda çözülerek hacmi 100 mL'ye tamamlandı. 1 hacim  $KH_2PO_4$  ve 1 hacim  $Na_2HPO_4$  çözeltisinden alınarak karıştırıldı. Çözeltinin pH'ı 7.0'ye ayarlandı.

**10 mM GSH Çözeltisi:** 3.1 mg GSH, 1 mL distile suda çözüldü. Çözelti deneyden hemen önce taze olarak hazırlandı.

**2.5 mM NADPH Çözeltisi:** 2.1 mg NADPH, 1 mL distile suda çözüldü. Çözelti deneyden hemen önce taze olarak hazırlandı.

**GR (6U/L) Çözeltisi:** 13.3  $\mu$ L GR, 1 mL 250 mM sodyum-potasyum tamponunda (pH:7.0) çözüldü. Çözelti deneyden hemen önce hazırlandı.

**12 mM  $H_2O_2$ :** 10  $\mu$ L %35'lik  $H_2O_2$ , 10 mL distile suda çözüldü. Tüpün ağzı kapakla kapatıldı.

Reaktifler	Kör	Numune
Fosfat Tamponu	600 $\mu$ L	400 $\mu$ L
Doku Homojenizatu	-	200 $\mu$ L
GSH Çözeltisi	100 $\mu$ L	100 $\mu$ L
NADPH Çözeltisi	100 $\mu$ L	100 $\mu$ L
GR Çözeltisi	100 $\mu$ L	100 $\mu$ L

<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Çözeltisi</b>	100 µL	100 µL
---------------------------------------------	--------	--------

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilave edildikten sonra spektrofotometrede 366 nm'de 5 dakika boyunca absorbans değerindeki azalma kaydedildi. Bu deney için hesaplanmış ekstinksiyon katsayısı 6.22 mM'dır. GPx aktivitesi U/mg protein cinsinden hesaplandı.

$$\text{GPx Aktivitesi (U/mg protein)} = [(\Delta\text{OD}/\text{dakika})/6.22 \times 10^3 \times (V_T / V_N) \times f] / \text{mg protein}$$

$\Delta\text{OD}$  : Absorbans farkı

$V_T$ : Toplam çözelti hacmi

$V_N$ : Numune hacmi

f : Seyreltme faktörü

### 3.12. MİDE DOKUSUNDA GLUTATYON REDÜKTAZ (GR) AKTİVİTESİNİN TAYİNİ

Mide dokusunda glutatyon redüktaz (GR) aktivitesi Beutler (1971) metodu kullanılarak tayin edildi. Yöntem, yükseltgenmiş glutatyonun (GSSG), GR ile indirgenmiş (GSH) haline dönüşümü sırasında yükseltgenen NADPH oranının hesaplanmasına dayanır.



#### Kullanılan Çözeltiler:

**50 mM Tris-HCl Tamponu (pH:8.0):** 50 mM Tris çözeltisinden 125 mL alındı. Üzerine pH'ı 8.0 olana kadar 50 mM HCl çözeltisinden ilave edildi.

**2 mM NADPH Çözeltisi:** 0.0016 g/1 mL Tris-HCl tamponu ile çözüldü.

**20 mM GSSG Çözeltisi:** 0.0123 g/1 mL Tris-HCl tamponu ile çözüldü.

**50 mM Tris Çözeltisi:** 1.51 g Tris tartıldı. Distile suda çözüldü. Hacmi 250 mL'ye distile su ile tamamlandı.

**50 mM HCl Çözeltisi:** 1.36 mL derişik HCl distile su ile 250 mL'ye seyreltildi.

**1 mM EDTA'lı Fosfat Tamponu:** 0.037 g EDTA-Na<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O Tris-HCl tamponu ile çözülerek hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

### Deneyin yapılışı:

Mide dokusunda glutatyon redüktaz (GR) aktivitesi tayini aşağıdaki şekilde hazırlanarak yapıldı.

Reaktifler	Kör	Numune
Tris-HCl Tamponu	900 µL	870 µL
NADPH Çözeltisi	50 µL	50 µL
GSSH Çözeltisi	50 µL	50 µL
Doku	-	30 µL

Örnek absorbansındaki azalma köre karşı ölçüldü ve spektrofotometrede 340 nm'de 5 dakika boyunca dakikadaki absorbans değişimi saptandı.

Her bir örnek için GR aktivitesi NADPH için belirlenmiş absorpsiyon katsayısı  $6.22 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  kullanılarak ve seyreltmeler göz önüne alınarak U/mg protein olarak hesaplandı.

$$\text{GR Aktivitesi (U/mg protein)} = [(\Delta\text{OD/dakika})/6.22] \times (V_T/V_N) \times f] / \text{mg protein}$$

$\Delta\text{OD}$ : Absorbans farkı

$V_T$ : Toplam hacim

$V_N$ : Numune hacmi

f: Seyreltme faktörü

### 3.13. MİDE DOKUSUNDA GLUTATYON-S-TRANSFERAZ (GST) AKTİVİTESİNİN TAYİNİ

Glutatyon-S-transferaz (GST) aktivitesi, Habig ve Jacoby (1981) metoduna göre belirlendi. Bu yöntem, GSH ve 1-klor-2,4-dinitrobenzen (CDNB)'nin konjugasyonu sonucunda oluşan ürünün absorbansının spektrofotometrede 340 nm'de ölçülmesine dayanır.



**Kullanılan Çözeltiler:**

**0.2 M Potasyum-Fosfat Tamponu (pH:6.5) :** 3.4836 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> az miktarda distile suda çözülerek hacmi 100 mL'ye tamamlandı. 5.4436 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> az miktarda distile suda çözülerek hacmi 100 mL'ye tamamlandı. 3 hacim Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 7 hacim KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> çözeltisi alındı, karıştırıldı. Çözeltinin pH'ı 6.5'e ayarlandı.

**60 mM Glutasyon Çözeltisi:** 1 mL distile suda 0.01843 g GSH çözülerek hazırlandı.

**60 mM 1-Kloro-2,4-Dinitrobenzen (CDNB) Çözeltisi:** 10 mL mutlak alkolde 0.1215 g CDNB çözülür. Çözelti deneyden önce taze olarak hazırlandı.

**Mutlak alkol (%100):** Orijinal çözeltiden alındı.

**Deneyin yapılışı:**

Kör ve numune tüpleri aşağıdaki tabloda belirtilen şekilde hazırlandı.

Reaktifler	Kör	Numune
Distile Su	0.5 mL	-
Doku Homojenizati	-	0.5 mL
Tampon	1.5 mL	1.5 mL
GSH Çözeltisi	0.05 mL	0.05 mL
CDNB Çözeltisi	0.05 mL	0.05 mL
Distile Su	0.9 mL	0.9 mL

Tüpler yukarıdaki şekilde hazırlandıktan sonra absorbans değerleri spektrofotometrede 340 nm'de 3 dakika boyunca ölçüldü.

GST aktivitesi Unite/mg protein olarak hesaplandı.

$$\text{GST Aktivitesi (U/mg protein)} = [(\Delta\text{OD/dakika}) \times 0.625 \times f] / \text{mg protein}$$

$\Delta\text{OD}$ : Absorbans farkı

f : Seyreltme katsayısı

### 3.14. MİDE DOKUSUNDA MİYELOPEROKSİDAZ (MPO) AKTİVİTESİNİN TAYİNİ

Mide dokusunda miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi tayini Wei ve Frankel (1991) yöntemi kullanılarak yapıldı. Bu metoda göre MPO aktivitesi, MPO aracılığı ile, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile yapılan oksidasyon için 4- aminoantipirin/fenol çözeltisi substrat olarak kullanıldı.

#### Kullanılan Çözeltiler:

**25 mM 4-Aminoantipirin (4-AAP) Çözeltisi:** 0.25 g 4-AAP, 50 mL distile suda çözüldü.

**20 mM Fenol Çözeltisi:** 0.09 g Fenol, 50 mL distile suda çözüldü.

**1.7 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Çözeltisi:** 36 µL % 35'lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> hacmi 250 mL'ye distile su ile tamamlandı.

#### Deneyin yapılışı:

Mide dokusunda MPO aktivitesi tayini için tüpler aşağıdaki şekilde hazırlandı.

Reaktifler	Kör	Numune
4-AAP Çözeltisi	1.3 mL	1.3 mL
Fenol Çözeltisi	1.3 mL	1.3 mL

Tüpler karıştırıldı.

H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Çözeltisi	1.5 mL	1.5 mL
-----------------------------------------	--------	--------

Tüpler 3-4 dakika boyunca vorteksle karıştırıldı.

Doku Homojenizatu	-	0.3 mL
Distile Su	0.3 mL	-

Tüplerin 510 nm'de spektrofotometrede 5 dakika boyunca absorbans değişimi okundu.

MPO aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\text{MPO Aktivitesi (U/g doku)} = [\Delta\text{OD}/\text{dk}] / \text{g doku}$$

$\Delta\text{OD}$  = Absorbans farkı

### 3.15. MİDE DOKUSUNDA LAKTAT DEHİDROJENAZ (LDH) AKTİVİTESİNİN TAYİNİ

Mide dokusunda laktat dehidrojenaz (LDH) aktivitesinin tayini Burtis (1994) metoduna göre tayin edildi. LDH, EDTA içeren Tris-HCl pH: 7.4 tamponunda, 37°C'da, NADH varlığında pirüvatın laktata dönüşümünü katalizler. NADH'ın oksidasyonu 3 dakika boyunca 339 nm'de absorpsiyon azalmasıyla takip edilir.

#### Kullanılan Çözeltiler:

**56 mM Tris-HCl + 5.6 mM EDTA Tamponu:** 1.70 g Tris 0.52 g EDTA az miktarda distile suda çözülerek 1 N HCl ile pH:7.4'e ayarlandı. Son hacim 250 mL'ye distile su ile tamamlandı.

**170 µM NADH Çözeltisi:** 0.0130 g NADH, 100 mL 56 mM Tris-HCl-EDTA tamponunda çözüldü.

**14 mM Pirüvat Çözeltisi:** 38.5 mg sodyum pirüvat 25 mL distile suda çözüldü.

#### Deneyin Yapılışı:

Mide dokusunda laktat dehidrojenaz aktivitesi tayini aşağıdaki tabloda belirtilen şekilde yapıldı. Deneye başlamadan önce pirüvat çözeltisi 37°C'de, en az 15 dakika su banyosunda bekletildi.

Reaktifler	Kör	Numune
Tris-HCl tamponu	2 mL	2 mL
Doku Homojenizatı	-	50 µL

37°C'de 5 dakika inkübe edildi.

Pirüvat	250 µL	200 µL
---------	--------	--------

Pirüvat ilave edildikten sonra 1 dakika daha 37°C'de inkübe edildi. Absorbans köre karşı 3 dakika boyunca 339 nm'de ölçüldü.

Laktat dehidrojenaz aktivitesi aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı.

$$\text{LDH Aktivitesi (U/mg protein)} = (\Delta\text{OD/dk}) \times 7143 / \text{mg protein}$$



$\Delta OD$  : Absorbans farkı

### 3.16. MİDE DOKUSUNDA SODYUM-POTASYUM $ATP_{AZ}$ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ

Mide dokusunda  $Na^+/K^+$ -ATPaz aktivitesi Ridderstap ve Banting (1969) metoduna göre tayin edildi. Bu metodun prensibi, doku homojenizatının belirli miktarda ATP ile inkübasyonu sırasında ATP'nin hidrolizi ile açığa çıkan inorganik fosfatın belirlenmesidir. Bunun için önce total ATPaz aktivitesi tayin edildi. Daha sonra Quabain varlığında  $Mg^{+2}$ -ATPaz aktivitesi tayin edildi. Aradaki fark  $Na^+/K^+$ -ATPaz'ı verir.

#### Kullanılan Çözeltiler:

**30 mM Tris-HCl Tamponu (pH:7.4):** 0.36 g tris az miktar distile su ile çözülüp 30 mM HCl ile pH:7.4'e ayarlandı. Ardından son hacim distile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

**A çözeltisi:** 100 mM NaCl, 5 mM KCl, 6 mM  $MgCl_2$ , 0.1 mM EDTA, 100 mL 30mM Tris-HCl pH:7.4 tamponunda çözüldü.

**B çözeltisi:** 6 mM  $MgCl_2$  50mL olacak şekilde hazırlandı.

**1 mM Quabain Çözeltisi:** 1 mM Quabain çözeltisi hazırlandı.

**ATP Çözeltisi:** 6 mM ATP çözeltisi hazırlandı.

**% 5 TCA Çözeltisi:** 5 g TCA, 100 mL distile suda çözüldü.

**%100 TCA Çözeltisi:** 10 g TCA, 10 mL distile suda çözüldü.

**5 M  $H_2SO_4$ :** 27.2 mL derişik sülfürik asit, distile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

**Molibdat Reaktifi:** 2.5 g amonyum molibdat 20 mL distile suda çözülüp üzerine 30 mL  $H_2SO_4$  ilave edildi. Ardından son hacim distile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

**%15 Sodyum disülfid:** 15 g sodyum disülfid, 100 mL distile suda çözüldü.

**%20 Sodyum Sülfid Çözeltisi:** 20 g sodyum sülfid, 100 mL distile suda çözüldü.

**Fiske-Subarrow Çözeltisi (2-Amino-4-Naftol-Sülfonik Asit, ANSA):** 19.5 mL sodyum disülfid ve 0.5 mL sodyum sülfidin karıştırılmasıyla oluşturuldu. Çözeltide 50 mg 2-amino-4-naftol-sülfonik asit ısıtılarak çözüldü.

**Stok Standart (%8 mg Fosfor):** 35.1 mg  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1 mL 5 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ile çözümlenip hacmi 100 mL'ye tamamlanarak hazırlandı.

### Çalışma Standardı:

Çalışılacak miktarlarda stok çözeltiden alındı. %5'lik TCA çözeltisi ile seyreltmeler yapıldı.

### Deneyin yapılışı:

Mide dokusunda  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz aktivitesi tayini aşağıdaki tabloya göre yapıldı.

Reaktifler	Numune Körü	Total-ATPaz	$\text{Mg}^{2+}$ -ATPaz
A Çözeltisi	0.75 mL	0.75 mL	-
B Çözeltisi	-	-	0.75 mL
Quabain Çözeltisi	-	-	0.75 mL
Distile Su	0.6 mL	0.5 mL	-
ATP Çözeltisi	0.55 mL	0.55 mL	0.55 mL

Tüpler  $37^\circ\text{C}$ 'de 5 dakika inkübe edildi.

Doku Homojenizatı	-	0.1 mL	0.1 mL
-------------------	---	--------	--------

Tüpler  $37^\circ\text{C}$ 'de 30 dakika inkübe edildi.

TCA Çözeltisi (%100)	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL
----------------------	--------	--------	--------

Tüpler buz içerisinde iken %100 TCA çözeltisi ilave edildi. TCA çözeltisi ilave edildikten sonra tüpler 10 dakika boyunca buz banyosunda bekletildi. Ardından 3000 rpm'de 10 dakika santrifüje edildi. Santrifüje işleminden sonra tüpler belirtilen şekilde aşağıdaki gibi hazırlandı.

	Standart Körü	Standart Tüpü	Numune Körü	Total ATPaz	Mg <sup>2+</sup> - ATPaz
TCA Çözeltisi (%5)	0.5 mL	-	-	-	-
Çalışma Standartı	-	0.5 mL	-	-	-
Üst Faz	-	-	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL
Amonyum Molibdat	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL
Fiske- Subarrow	40 µL	40 µL	40 µL	40 µL	40 µL
Distile Su	0.36 mL	0.36 mL	0.36 mL	0.36 mL	0.36 mL

Tüpler 10 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 680 nm'de, standart körüne karşı standart absorbansı, numune körüne karşı numune absorbansı okundu. Standart eğri grafiği çizildi. Total ATPaz absorbansından Mg<sup>2+</sup>-ATPaz absorbansı çıkarılarak numunenin içerdiği fosfat miktarı üzerinden enzim aktivite hesabı yapıldı.

Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPaz Aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$\mu\text{mol Pi}/(\text{mg protein} \times \text{saat}) = [645 \times A] / [\% \text{ mg protein} \times 60]$$

A: Numunenin içerdiği % mg fosfor miktarı

### 3.17. MİDE DOKUSUNDA KSANTİN OKSİDAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ

Corte ve Stirpe (1968) tarafından geliştirilen metoda göre mide dokusunda ksantin oksidaz aktivitesi tayin edildi. Ksantin oksidaz (XO) , ksantinün ürik aside dönüşümünü sağlayan enzimdir. Reaksiyon sonucu oluşan ürik asidin absorbansı 286 nm'de ölçülür. Ölçülen bu değer XO ile doğru orantılıdır.

**Kullanılan Çözeltiler:**

**50 mM Sodyum-Potasyum-Fosfat Tamponu:** 0.7098 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  bir miktar distile su ile çözüldü ve hacim distile su ile 100 mL'ye tamamlandı. 0.6804 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  bir miktar distile suda çözüldü ve hacim distile su ile 100 mL'ye tamamlandı. 8 hacim  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  ile 2 hacim  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  karıştırılarak pH: 7.4 tamponu elde edildi.

**3 mM EDTA Çözeltisi:** 5.5 mg EDTA, 5 mL distile su ile çözüldü.

**2 mM Ksantin Çözeltisi:** 1.52 mg ksantin, 5 mL 50 mM sodyum-potasyum tamponunda çözüldü. Sonikatörde en az 5 dakika bekletildi.

**Deneyin yapılışı:**

Mide dokusunda ksantin oksidaz tayini için aşağıda belirtilen şekilde tüpler hazırlandı.

Reaktifler	Kör	Numune
Doku Homojenizatu	-	10 $\mu\text{L}$
Tampon	880 $\mu\text{L}$	870 $\mu\text{L}$
EDTA Çözeltisi	33 $\mu\text{L}$	33 $\mu\text{L}$
Ksantin Çözeltisi	33 $\mu\text{L}$	33 $\mu\text{L}$

Tüplerin ilk absorbanansı 0.dakikada 286 nm'de okundu. Ardından 10 dakika boyunca 24°C'de su banyosunda bekletilip tekrar 286 nm'de köre karşı okuma yapıldı.

Mide dokusunda ksantin oksidaz aktivitesi tayini aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$\text{Ksantin Oksidaz Aktivitesi (U/mg protein)} = [\Delta\text{OD/dakika}] / \text{mg protein}$$

$$\Delta\text{OD} = \text{Absorbans farkı}$$

**3.18. MİDE DOKUSUNDA İLERİ OKSİDE PROTEİN ÜRÜNLERİ TAYİNİ (AOPP)**

Mide dokusunda ileri okside protein ürünleri (AOPP)'in tayini Witko-Sarsat ve diğ. (1996) metodu kullanarak tayin edildi.

**Kullanılan Çözeltiler:**

**20 mM Potasyum-Fosfat Tamponu (pH: 7.4):** 0.1361 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  50 mL distile suda çözüldü. 0.1420 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  50 mL distile suda çözüldü. Belirli oranlarda fosfat çözeltileri alınarak pH: 7.4 ayarlandı.

**1.16 M KI Çözeltisi:** 0.4814 g KI tartıldı. 2.5 mL distile suda çözüldü.

**Derişik Asetik Asit:** Orijinal şişesinden kullanıldı.

**Deneyin Yapılışı:**

Reaktifler	Kör	Numune
Tampon Çözeltisi	2000 $\mu\text{L}$	1600 $\mu\text{L}$
Doku Homojenizatı	-	400 $\mu\text{L}$
KI Çözeltisi	100 $\mu\text{L}$	100 $\mu\text{L}$

Tüpler karıştırıldı ve spektrofotometrede küvetin içerisinde 2 dakika beklendi.

Derişik Asetik Asit	200 $\mu\text{L}$	200 $\mu\text{L}$
---------------------	-------------------	-------------------

Karıştırıldı ve 340 nm'de hemen absorbans değerleri okundu.

AOPP Miktarı (nmol/mg protein) = (Abs/261 x  $V_T/V_N$  x f) / mg protein

261  $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  = Molar absorbsiyon katsayısı

$V_T$  : Toplam hacim

$V_N$  : Numune hacmi

f= Seyreltme katsayısı

**3.19. MİDE DOKUSUNDA HEKSOZ MİKTARININ TAYİNİ**

Mide dokusunda heksoz miktarı Winzler (1955) metoduna göre tayin edildi. Dokularda heksoz bileşiklerinin belirlenmesi, derişik sülfürik asitli ortamda karbohidratların orsinol ile verdiği

renk reaksiyonuna dayanır. Oluşan rengin spektrofotometrede 425 nm dalga boyunda absorbanans değeri ölçülür.

**Kullanılan çözeltiler:**

**%1 Glukoz Standardı:** 1 g glukoz, 100 mL distile suda çözüldü.

**2N HCl Çözeltisi:** 16.57 mL derişik HCl hacmi 100 mL'ye distile suyla tamamlanarak hazırlandı.

**%1 Fosfotungstik Asit Çözeltisi:** 1g fosfotungstik asit çözeltisi 100 mL distile suda çözüldü.

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

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

**%60 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Çözeltisi:** 33.27 mL derişik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, distile su ile hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

**%96 Etil Alkol:** Orijinal şişesinden kullanıldı.

**Hidrolizat Hazırlanması:**

0.5 mL mide homojenizatu, 1 mL 2N HCl ve 1 mL %1 fosfotungstik asit ile 4 saat boyunca 100°C'ye ayarlanmış etüvde bekletildi. Daha sonra oda sıcaklığına gelen örneklerin pH'ları 4N NaOH ile pH'ı 7.0'ye ayarlandı.

**Deneyin Yapılışı:**

Kör, numune ve standart tüpleri aşağıda belirtildiği gibi hazırlandı.

Reaktifler	Kör	Numune	Standart
Doku Hidrolizatu	-	0.25 mL	-
Distile Su	0.25 mL	-	-
Glukoz Standart Çözeltisi	-	-	0.25 mL

<b>Orsinol Çözeltisi</b>	0.25 mL	0.25 mL	0.25 mL
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Çözeltisi</b>	2 mL	2 mL	2 mL

Tüpler 10 dakika boyunca kaynar suda bekletilip, buzda soğutuldu. Absorbanslar spektrofotometrede köre karşı 425 nm okundu. Çizilen standart eğri grafiğinden heksoz miktarı hesaplandı. Dokudaki proteine bölünerek µg glukoz/mg protein cinsinden heksoz miktarı mide dokularında hesaplandı.

### 3.20. MİDE DOKUSUNDA HEKSOZAMİN MİKTARININ TAYİNİ

Mide dokusunda heksozamin miktar tayini Winzler (1955) metoduna göre tayin edildi. Dokudaki heksozamin bileşiklerinin, p-dimetilaminobenzaldehit ve asetilaseton ile dokuda verdiği reaksiyon sonucunda meydana gelen pembe rengin absorbansının 530 nm'de spektrofotometrede ölçülmesi esasına dayanır.

#### **Kullanılan Çözeltiler:**

**Asetilaseton Çözeltisi:** 1 mL asetilaseton, 0.5 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisi ile 50 mL'ye tamamlandı.

**Ehrlich Ayıracı:** 0.8 g p-dimetilamino benzaldehit, 30 mL derişik HCl ve 30 mL metanolde çözüldü. Ayıraç günlük olarak hazırlandı.

**Glukozamin HCl Standardı:** 10 mg glukozamin hidroklorür, 10 mL distile suda çözülerek stok çözelti elde edildi. Hazırlanan bu stok çözeltilerden konsantrasyonları 5,10,20,40,50 µg/mL olacak şekilde seyreltmeler yapılarak standart çözeltiler hazırlandı.

#### **Hidrolizatın Hazırlanması:**

0.5 mL mide homojenizatı, 1 mL 2N HCl ve 1 mL fosfotungstik asit ile 100 °C'de 4 saat boyunca bekletildi. Süre dolduktan sonra oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Örneklerin pH'ları 4 N NaOH ile 7.0'a ayarlandı. Mide dokusundaki heksozamin miktarı aşağıdaki tabloda belirtilen şekilde tayin edildi.

**Deneyin Yapılışı:**

<b>Reaktifler</b>	<b>Kör</b>	<b>Numune</b>	<b>Standart</b>
<b>Asetilaseton</b>	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL
<b>Distile Su</b>	0.5mL	-	-
<b>Doku Hidrolizatı</b>	-	0.5 mL	-
<b>Standart</b>	-	-	0.5 mL

Tüpler hazırlandıktan sonra vortekslenip 15 dakika kaynar su banyosunda bekletildi ve soğutuldu.

<b>Etil alkol</b>	2.5 mL	2.5 mL	2.5 mL
<b>Ehrlich Ayracı</b>	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL

Son hacim %95'lik etil alkol ile 5 mL'ye tamamlandı. 30 dakika oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletildikten sonra 530 nm'de absorbans ölçümü yapıldı. Standart eğri grafiğinden yararlanılarak heksozamin miktarı tayin edildi. Elde edilen sonuçlar doku proteinine bölünerek µg glukozamin/mg protein şeklinde heksozamin miktarı belirlendi.

**3.21. MİDE DOKUSUNDA FUKOZ MİKTARININ TAYİNİ**

Dische ve Shettles (1948) metoduna göre mide dokusunda fukoz miktarı tayin edildi. Bu metot, karbohidratların sülfürik asitli ortamda tiyol grupları ile verdiği renk reaksiyonuna dayanır. Oluşan sarı-yeşil rengin absorbansı spektrofotometrede 396 nm ve 430 nm'de havaya karşı okunur.



**Kullanılan Çözeltiler:**

**Sülfürik Asit Çözeltisi:** 6 hacim derişik sülfürik asit (%98) ve 1 hacim distile su ile iyice karıştırılıp hazırlandı.

**%3 g Sistein-HCl Çözeltisi:** 3 g sistein-HCl distile suda bir miktar çözülüp hacmi 100 mL'ye distile su ile tamamlandı.

**Stok Standart Çözeltisi:**

1 mg fukoz, 100 mL distile suda çözüldü. Hazırlanan bu çözeltiden 2.5 µL, 5 µL, 7.5 µL, 10 µL şeklinde seyreltmeler yapılarak çalışma standartları hazırlandı.

**2N HCl Çözeltisi:** 16.57 mL derişik HCl 100 mL'ye distile suyla tamamlanarak hazırlandı.

**%1 Fosfotungstik Asit Çözeltisi:** 1 g fosfotungstik asit çözeltisi 100 mL distile suda çözülerek hazırlandı.

**4 N NaOH Çözeltisi:** 16 g NaOH, 100 mL distile suda çözülerek hacmi ile tamamlandı.

**Hidrolizat Hazırlanması:**

0.5 mL mide homojenizati, 1 mL 2N HCl ve 1 mL %1 fosfotungstik asit ile 4 saat boyunca 100°C'ye ayarlanmış etüvde bekletildi. Daha sonra oda sıcaklığına gelen örneklerin pH'ları 4N NaOH ile pH'ı 7.0'ye ayarlandı.

**Deneyin Yapılışı:**

Mide dokusunda fukoz tayini aşağıdaki gibi hazırlanarak yapıldı.

	Numune	Numune Körü	Standart	Kör	Sisteinsiz Kör
<b>Doku Homojenizati</b>	1 mL	1 mL	-	-	-

<b>Stok Standart Çözeltilisi</b>	-	-	1 mL	-	-
<b>Distile Su</b>	-	-	-	1 mL	0.1 mL
<b>Sülfürik Asit Çözeltilisi</b>	4.5 mL	4.5 mL	4.5 mL	4.5 mL	4.5 mL

Sülfat ilavesi buz ile hazırlanan ortamda yapıldı. Tüpler 22°C’de 3 dakika bekletildi. Daha sonra tüpler 5 dakika kaynar su banyosunda bekletilip, soğutuldu.

<b>Sistein-HCl</b>	0.1 mL	-	0.1 mL	0.1 mL	-
--------------------	--------	---	--------	--------	---

Tüpler vortekslelendikten sonra 1 saat karanlık ortamda bekletildi. Ardından tüm tüplerin absorbansı 396 ve 430 nm’de havaya karşı okundu. Numune absorbansından numune körü absorbansı çıkarılıp, elde edilen değer standart eğri grafiğinde bulunarak sonuç, µg fukoz/mL şeklinde belirlendi. Doku proteinine bölünerek sonuç µg fukoz/mg protein olarak elde edildi.

### 3.22. MİDE DOKUSUNDA SİYALİK ASİT MİKTARININ TAYİNİ

Mide dokusunda siyalik asit miktarı, Lorentz (1986) metoduna göre tayin edildi. Periyodik asit oksidasyonuna uğrayan siyalik asit, β-formil pirüvik asit, tiyobarbütirik asitle reaksiyona girerek 546 nm’de maksimum absorbans veren renkli bir bileşik oluşturur. Oluşan bu bileşik stabil değildir, bu nedenle sikloheksanon fazına çekilir.

#### Kullanılan Çözeltiler:

**1.617 mM Siyalik Asit Standardı:** 5 mg siyalik asit 10 mL distile su ile çözüldü.

**155 mM NaCl Çözeltilisi:** 0.905 g NaCl bir miktar distile su ile çözülüp hacmi 100 mL’ye tamamlandı.

**6.7 mM H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Çözeltilisi:** 0.356 mL derişik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 100 mL’ye tamamlandı.

**0.2 M Sodyum Meta Periyodat Çözeltilisi:** 4.277 g sodyum meta periyodat tuzu, 9 mol/L’lik H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> çözeltilisi ile çözülerek hacmi 100 mL’ye tamamlandı.

**1.54 M Sodyum Meta Arsenit Çözeltisi:** 20 g sodyum meta arsenit, 7.102 g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> tuzu ile beraber 0.266 mL/100 mL'lik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisi ile çözülüp hacmi 100 mL'ye tamamlanır.

**Tiyobarbütirik Asit Çözeltisi (TBA):** 7.102 g/100 mL'lik Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisi içinde 0.533 g TBA çözüldü.

### Deneyin Yapılışı:

Kör, numune ve standart tüpleri aşağıda belirtildiği gibi hazırlandı.

Reaktifler	Kör	Homojenizat	Standart
Doku Homojenizatı	-	25 µL	-
Distile Su	25 µL	-	-
Fukoz Standart Çözeltisi	-	-	25 µL
NaCl Çözeltisi	250 µL	250 µL	250 µL
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> Çözeltisi	750 µL	750 µL	750 µL

Tüpler 80°C'de 60 dakika bekletildikten sonra oda sıcaklığında su ile soğutuldu.

Sodyum Meta Periyodat	250 µL	250 µL	250 µL
-----------------------	--------	--------	--------

Tüpler 20 dakika oda sıcaklığında bekletildi.

Sodyum Meta Arsenit Çözeltisi	1 mL	1 mL	1 mL
-------------------------------	------	------	------

Tüpler iyodun rengi gidinceye kadar karıştırıldı.

TBA Çözeltisi	2.5 mL	2.5 mL	2.5 mL
---------------	--------	--------	--------

Tüpler 15 dakika 95°C'de bekletildi ve oda sıcaklığında soğutuldu.

Sikloheksanon	5 mL	5 mL	5 mL
---------------	------	------	------

Tüpler 10 dakika santrifüje edildikten sonra üst faz alınıp 546 nm'de köre karşı okundu.

Mide dokusunda siyalik asit miktarı aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$C_{\text{örnek}}(\text{mmol Siyalik asit/mg protein}) = [(N_{\text{abs}} / \text{Std}_{\text{abs}}) \times 1.617]$$

$N_{\text{abs}}$ : Numunenin absorbans değeri

$\text{Std}_{\text{abs}}$ : Standardın absorbans değeri

### 3.23. MİDE DOKUSUNDA TOTAL PROTEİN TAYİNİ

Mide dokusunda protein miktar tayini hesaplamak için Lowry ve diğ. (1951) geliştirdiği metoda göre yapıldı. Proteinlerin yapısında bulunan aromatik halka içeren amino asitler, folin reaktifi (fosfomolibdotungstik asit) ile mavi renk verirler. Bu reaksiyon amino asitlerin fosfotungstik asidi indirgemeleri esasına dayanır. Oluşan rengin verdiği absorbans şiddeti protein konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

#### Kullanılan Çözeltiler:

##### A reaktifi (%2 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(0.1 N NaOH içerisinde)):

**0.1 N NaOH** : 0.4 g NaOH tartıldı, distile suda çözülerek hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

**%2 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : 2 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> tartıldı, 0.1 N NaOH çözeltisi ile çözülerek hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

##### B reaktifi (%0.5 CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O (%1 dipotasyum tartarat)):

**%1 Dipotasyum tartarat** : 1 g Dipotasyum tartarat tartıldı, distile suda çözülerek hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

**%0.5 CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O**: 0.05 g CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O tartıldı, % 1 dipotasyum tartarat çözeltisiyle çözülerek hacmi 10 mL'ye tamamlandı. Her gün taze olarak bu çözelti hazırlandı.

**C Reaktifi**: 50 mL A reaktifi ve 1 mL B Reaktifi alındı ve karıştırıldı. Taze olarak bu çözelti hazırlandı.

**E Reaktifi (Folin Reaktifi)**: 1500 mL'lik Florence balonuna 100 g sodyum tungstat, 25 g sodyum molibdat, 50 mL % 85'lik fosfat asidi 700 mL distile su ve 100 mL derişik HCl konuldu. 10 saat geri soğutucu altında kaynatıldı. 150 g LiSO<sub>4</sub>, 50 mL distile suda çözüldü. 1-2 damla brom damlatıldı. Bromun fazlasını uzaklaştırmak amacıyla, bromun rengi gidene kadar

(yaklaşık 15 dakika) kaynatıldı. Soğuduktan sonra distile su ile son hacim 1 L'ye tamamlandı. Hazırlanan bu çözelti stok folin çözeltisidir. Deneylede kullanılacağı zaman 1:2 oranında distile su ile seyreltilerek kullanılır.

#### **Protein Standart Çözeltisi (%100 mg Albumin):**

Total protein tayini için % 100 mg albumin içeren stok çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltiden serum fizyolojik ile seyreltmeler yapılarak % 2, 4, 6, 8, ve 10 mg albumin içeren çalışma standartları hazırlandı.

#### **Deneyin Yapılışı:**

Mide dokusundaki protein miktar tayini aşağıdaki tabloda belirtildiği gibi yapıldı.

<b>Reaktifler</b>	<b>Kör</b>	<b>Numune</b>	<b>Standart</b>
<b>Standart Çözeltisi</b>	-	-	0.5 mL
<b>Doku Homojenizatu</b>	-	0.5 mL	-
<b>Serum Fizyolojik</b>	0.5 mL	-	-
<b>C reaktifi</b>	2.5 mL	2.5 mL	2.5 mL

Tüpler vorteksle karıştırılıp 10 dakika beklendi.

<b>E reaktifi</b>	0.25 mL	0.25 mL	0.25 mL
-------------------	---------	---------	---------

Tüpler vorteksle karıştırılıp 30 dakika oda sıcaklığında beklendikten sonra absorbanslar spektrofotometrede 500 nm'de okundu. % mg protein miktarı standart eğri yardımıyla hesaplandı.

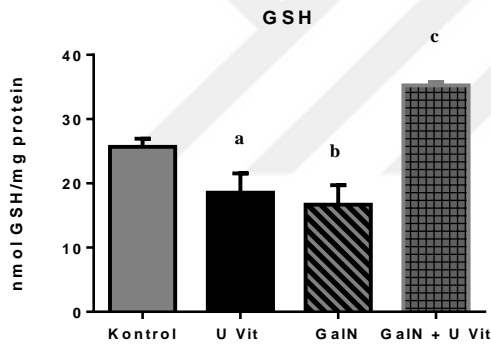
### **3.24. İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

İstatistiksel analiz için tüm veriler, GraphPad 6.0 Prism istatistik programı kullanılarak değerlendirildi. Gruplar arasında Tukey's Testi uygulandı ve ortalama  $\pm$  standart sapma olarak ifade edildi.  $P < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

Çalışmamızda, D-galaktozamin ile oluşturulan mide hasarında U vitamininin sıçan mide dokusu üzerine olan etkilerini incelemek amacıyla sıçanların mide doku örneklerinde, çeşitli biyokimyasal parametrelere bakıldı. Elde edilen sonuçlar, Şekil 4.1 - 4.16'de gösterildi.

Elde edilen verilere göre, tüm grupların mide GSH değerleri birbiri ile karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu bulundu ( $P_{ANOVA} = 0.0001$ ) (Şekil 4.1). Kontrol grubu ve U Vit gruplarına ait GSH değerleri karşılaştırıldığında, U Vit grubunda GSH değerlerinin anlamlı olarak azaldığı saptandı ( $^aP < 0.05$ ). Galaktozamin verilen grubun GSH değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldı ( $^bP < 0.001$ ). U Vit verilen galaktozamin grubunda da galaktozamin grubuna göre GSH değerlerinde anlamlı bir artış meydana geldiği görüldü ( $^cP < 0.0001$ ) (Şekil 4.1).



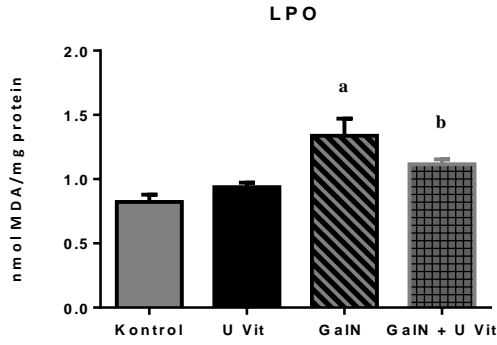
Şekil 4.1: Kontrol ve deney grubu sıçanların GSH değerleri.

<sup>a</sup>P < 0.05 kontrol grubuna göre;

<sup>b</sup>P < 0.001 kontrol grubuna göre;

<sup>c</sup>P < 0.0001 GalN grubuna göre;

Elde edilen değerlere göre, dört grubun mide LPO değerleri birbiri ile karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu bulundu ( $P_{ANOVA} = 0.0001$ ) (Şekil 4.2). Kontrol grubu ve U Vit gruplarına ait LPO değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında, U Vit grubunda LPO değerlerinin kontrol grubuna göre anlamsız olarak arttığı belirlendi. Galaktozamin verilen grubun LPO değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı saptandı ( $^aP < 0.001$ ). U Vit verilen galaktozamin grubunda da galaktozamin grubuna göre LPO değerlerinde anlamlı bir azalma meydana geldiği görüldü ( $^bP < 0.05$ ) (Şekil 4.2).

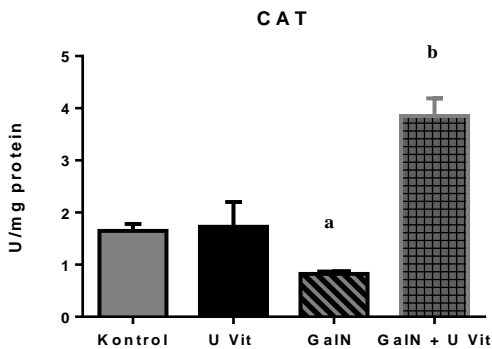


Şekil 4.2: Kontrol ve deney grubu sıçanların LPO değerleri.

<sup>a</sup>P < 0.001 kontrol grubuna göre;

<sup>b</sup>P < 0.05 galaktozamin grubuna göre;

Elde edilen verilere göre, tüm grupların mide CAT aktiviteleri birbiri ile karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu bulundu ( $P_{ANOVA} = 0.0001$ ) (Şekil 4.3). Kontrol grubu ve U Vit gruplarına ait CAT aktiviteleri karşılaştırıldığında, U Vit grubunda CAT aktivitelerinin anlamsız olarak arttığı belirlendi. Galaktozamin grubuna göre CAT aktivitesi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında galaktozamin grubunun CAT aktivitesinin anlamlı olarak azaldığı tespit edildi ( $^aP < 0.05$ ). U Vit verilen galaktozamin grubunda da galaktozamin grubuna göre CAT aktivitelerinde anlamlı bir artış meydana geldiği görüldü ( $^bP < 0.0001$ ) (Şekil 4.3).

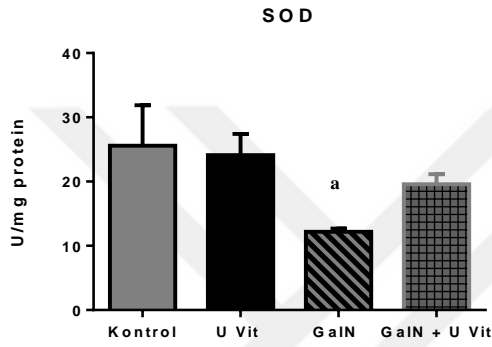


Şekil 4.3: Kontrol ve deney grubu sıçanların CAT aktiviteleri.

<sup>a</sup>P < 0.05 kontrol grubuna göre;

<sup>b</sup>P < 0.0001 galaktozamin grubuna göre;

Elde edilen verilere göre, tüm grupların mide SOD aktiviteleri karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamsız farklılıklar olduğu tespit edildi ( $P_{ANOVA} = 0.0483$ ) (Şekil 4.4). Kontrol grubu ve U Vit gruplarına ait SOD aktiviteleri birbirleri ile karşılaştırıldığında, U Vit grubunda bu değerlerde anlamsız bir azalış meydana geldi. Galaktozamin verilen gruba ait SOD aktiviteleri, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak azaldığı tespit edildi ( $^aP < 0.05$ ). U Vit verilen galaktozamin grubunda da SOD aktivitelerinde anlamsız bir artış meydana geldiği gözlemlendi (Şekil 4.4).

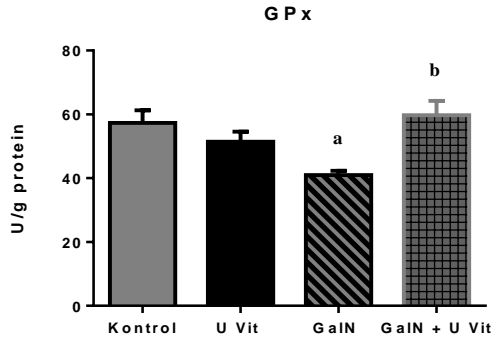


Şekil 4.4: Kontrol ve deney grubu sıçanların SOD aktiviteleri.

$^aP < 0.05$  kontrol grubuna göre;

Dört gruba ait mide GPx aktiviteleri karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu bulundu ( $P_{ANOVA} = 0.0001$ ) (Şekil 4.5). Kontrol grubu ve U Vit gruplarına ait GPx aktiviteleri karşılaştırıldığında, U Vit grubunda GPx aktivitesinin anlamsız olarak azaldığı saptandı. Galaktozamin verilen gruba ait GPx aktiviteleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldı ( $^aP < 0.0001$ ). U Vit verilen galaktozamin grubunda da GPx aktiviteleri arasında anlamlı bir artış meydana geldiği görüldü ( $^bP < 0.0001$ ) (Şekil 4.5).



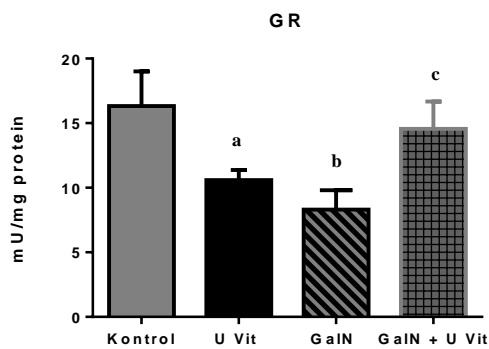


**Şekil 4.5:** Kontrol ve deney grubu sıçanların GPx aktiviteleri.

<sup>a</sup>P < 0.0001 kontrol grubuna göre;

<sup>b</sup>P < 0.0001 galaktozamin grubuna göre;

Dört grubun mide GR aktiviteleri birbiri ile karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu bulundu ( $P_{ANOVA} = 0.0005$ ) (Şekil 4.6). Kontrol grubu ve U Vit gruplarına ait GR aktiviteleri karşılaştırıldığında, U Vit grubunda GR aktivitelerinin anlamlı olarak azaldığı saptandı (<sup>a</sup>P < 0.001). Galaktozamin verilen grubun GR aktiviteleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldı (<sup>b</sup>P < 0.0001). U Vit verilen galaktozamin grubunda da galaktozamin grubuna göre GR aktivitelerinde anlamlı bir artış meydana geldiği görüldü (<sup>c</sup>P < 0.001) (Şekil 4.6).



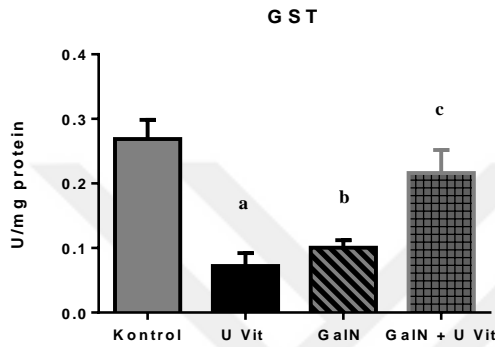
**Şekil 4.6:** Kontrol ve deney grubu sıçanların GR aktiviteleri.

<sup>a</sup>P < 0.001 kontrol grubuna göre;

<sup>b</sup>P < 0.0001 kontrol grubuna göre;

<sup>c</sup>P < 0.001 GalN grubuna göre;

Tüm gruplara ait mide GST aktiviteleri karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu bulundu ( $P_{ANOVA} = 0.0001$ ) (Şekil 4.7). Kontrol grubu ve U Vit gruplarına ait GST aktiviteleri karşılaştırıldığında, U Vit grubunda GST aktiviteleri anlamlı olarak azaldı ( $^aP < 0.0001$ ). Galaktozamin verilen grubun GST aktiviteleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı saptandı ( $^bP < 0.0001$ ). U Vit verilen galaktozamin grubunda da galaktozamin grubuna göre GST aktivitelerinde anlamlı bir artış meydana geldiği belirlendi ( $^cP < 0.001$ ) (Şekil 4.7).



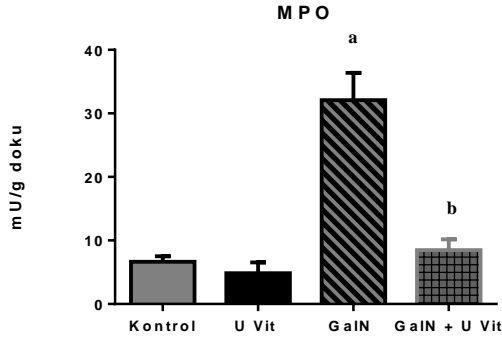
Şekil 4.7: Kontrol ve deney grubu sıçanların GST aktiviteleri.

<sup>a</sup> $P < 0.0001$  kontrol grubuna göre;

<sup>b</sup> $P < 0.0001$  GalN grubuna göre;

<sup>c</sup> $P < 0.001$  GalN grubuna göre;

Tüm grupların mide MPO aktiviteleri birbirleri ile karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu bulundu ( $P_{ANOVA} = 0.0011$ ) (Şekil 4.8). Kontrol grubu ve U Vit gruplarına ait MPO aktiviteleri karşılaştırıldığında, U Vit grubunda MPO aktivitesinin anlamsız olarak azaldığı görüldü. Galaktozamin verilen gruba ait MPO aktiviteleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı bulundu ( $^aP < 0.001$ ). U Vit verilen galaktozamin grubunda da MPO aktiviteleri anlamlı bir azalma meydana geldi ( $^bP < 0.001$ ) (Şekil 4.8).

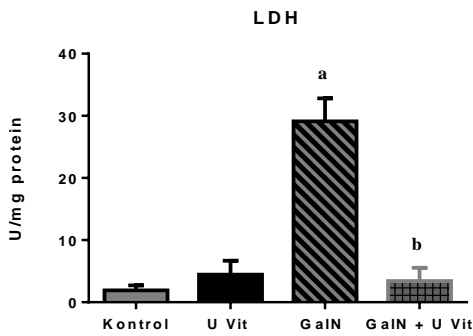


**Şekil 4.8:** Kontrol ve deney grubu sıçanların MPO aktiviteleri.

<sup>a</sup>P < 0.001 kontrol grubuna göre;

<sup>b</sup>P < 0.001 galaktozamin grubuna göre;

Elde edilen sonuçlara göre, dört grubun mide LDH aktiviteleri karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu bulundu ( $P_{ANOVA} = 0.0001$ ) (Şekil 4.9). Kontrol grubu ve U Vit gruplarına ait LDH aktiviteleri birbirleri ile karşılaştırıldığında, U Vit grubunda LDH aktivitesinin anlamsız olarak arttığı saptandı. Galaktozamin verilen gruba ait LDH aktivitelerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı görüldü (<sup>a</sup>P < 0.0001). U Vit verilen galaktozamin grubunda LDH aktivitelerinde galaktozamin grubuna göre anlamlı bir azalma olduğu görüldü (<sup>b</sup>P < 0.0001) (Şekil 4.9).

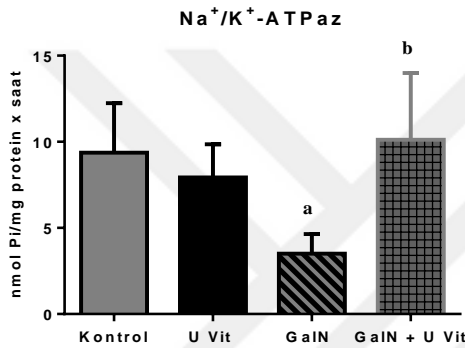


**Şekil 4.9:** Kontrol ve deney grubu sıçanların LDH aktiviteleri.

<sup>a</sup>P < 0.0001 kontrol grubuna göre;

<sup>b</sup>P < 0.0001 galaktozamin grubuna göre;

Tüm grupların mide  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz aktiviteleri karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu saptandı ( $P_{\text{ANOVA}} = 0.0039$ ) (Şekil 4.10). Kontrol grubu ve U Vit gruplarına ait  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz aktiviteleri karşılaştırıldığında, U Vit grubunda  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz aktivitelerinde anlamsız bir azalma meydana geldi. Galaktozamin verilen gruba ait  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz aktiviteleri, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir azalma olduğu görüldü ( $^{\text{a}}P < 0.001$ ). U Vit verilen galaktozamin grubunda da galaktozamin grubuna göre  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz aktiviteleri arasında anlamlı bir artış meydana geldiği gözlemlendi ( $^{\text{b}}P < 0.001$ ) (Şekil 4.10).

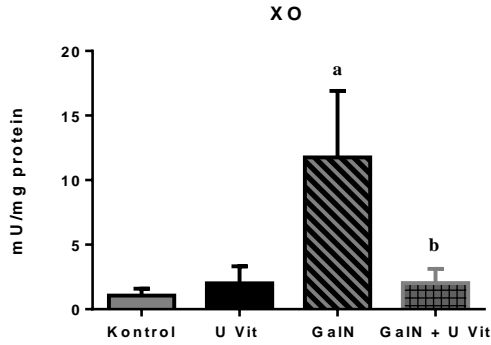


Şekil 4.10: Kontrol ve deney grubu sıçanların  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz aktiviteleri.

$^{\text{a}}P < 0.001$  kontrol grubuna göre;

$^{\text{b}}P < 0.001$  galaktozamin grubuna göre;

Kontrol ve deney gruplarının mide XO aktiviteleri karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu bulundu ( $P_{\text{ANOVA}} = 0.0001$ ) (Şekil 4.11). Kontrol grubu ve U Vit gruplarına ait XO aktiviteleri birbirleri ile karşılaştırıldığında, U Vit grubunda XO aktivitelerinde anlamsız bir artış meydana geldiği saptandı. Galaktozamin verilen gruba ait XO aktiviteleri, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında galaktozamin grubunda anlamlı bir artış olduğu saptandı ( $^{\text{a}}P < 0.0001$ ). U Vit verilen galaktozamin grubu ile galaktozamin grubunda da XO aktiviteleri arasında anlamlı bir azalma olduğu görüldü ( $^{\text{b}}P < 0.0001$ ) (Şekil 4.11).

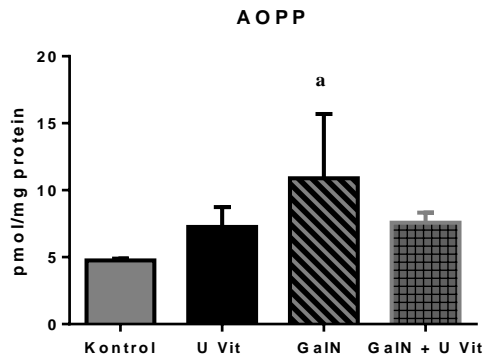


**Şekil 4.11:** Kontrol ve deney grubu sıçanların XO aktiviteleri.

<sup>a</sup>P < 0.0001 kontrol grubuna göre;

<sup>b</sup>P < 0.0001 galaktozamin grubuna göre;

Elde edilen verilere göre, tüm grupların mide AOPP değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamsız farklılıklar olduğu tespit edildi ( $P_{ANOVA} = 0.0601$ ) (Şekil 4.12). Kontrol grubu ve U Vit gruplarına ait AOPP değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında, U Vit grubunda bu değerlerde anlamsız bir artış meydana geldi. Galaktozamin verilen gruba ait AOPP değerleri, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak arttığı tespit edildi (<sup>a</sup>P < 0.05). U Vit verilen galaktozamin grubunda da AOPP değerlerinde anlamsız bir azalma meydana geldiği gözlemlendi (Şekil 4.12).

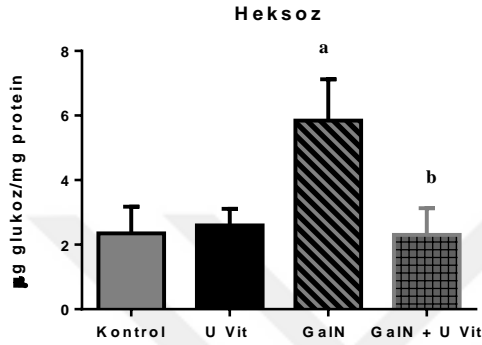


**Şekil 4.12:** Kontrol ve deney grubu sıçanların AOPP değerleri.

<sup>a</sup>P < 0.05 kontrol grubuna göre;

Tüm grupların mide heksoz değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu bulundu ( $P_{ANOVA} = 0.0042$ ) (Şekil 4.13). Kontrol grubu ve U Vit gruplarına

ait heksoz değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında, U Vit grubunda heksoz değerlerinde anlamsız bir artış meydana geldi. Galaktozamin verilen gruba ait heksoz değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı görüldü ( <sup>a</sup>P < 0.001). U Vit verilen galaktozamin grubunda da heksoz değerleri galaktozamin grubuna göre anlamlı bir azalma meydana geldiği saptandı ( <sup>b</sup>P < 0.001) ( Şekil 4.13).

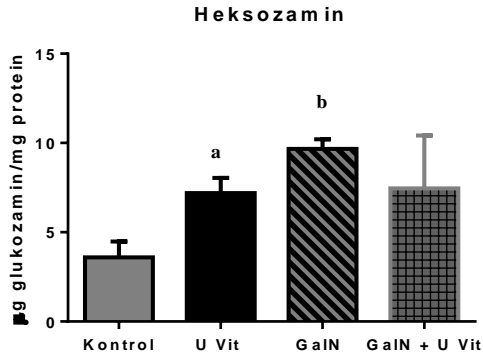


Şekil 4.13: Kontrol ve deney grubu sıçanların heksoz değerleri.

<sup>a</sup>P < 0.001 kontrol grubuna göre;

<sup>b</sup>P < 0.001 galaktozamin grubuna göre;

Elde edilen sonuçlara göre, tüm grupların mide heksozamin değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu bulundu ( $P_{ANOVA} = 0.0035$ ) (Şekil 4.14). Kontrol grubu ve U Vit gruplarına ait heksozamin değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında, U Vit grubunda heksozamin değerlerinde anlamlı bir artma meydana geldiği görüldü ( <sup>a</sup>P < 0.05). Galaktozamin verilen grupta ise heksozamin değerleri, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak arttı ( <sup>b</sup>P < 0.001). U Vit verilen galaktozamin grubunda da heksozamin değerleri anlamsız olarak azaldı ( Şekil 4.14).

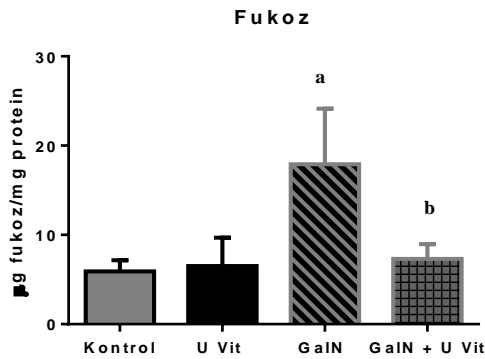


**Şekil 4.14:** Kontrol ve deney grubu sıçanların heksozamin değerleri.

<sup>a</sup>P < 0.05 kontrol grubuna göre;

<sup>b</sup>P < 0.001 galaktozamin grubuna göre;

Tüm grupların mide fukoz değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu bulundu ( $P_{ANOVA} = 0.0006$ ) (Şekil 4.15). Kontrol grubu ve U Vit gruplarına ait fukoz değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında, U Vit grubunda fukoz değerlerinde anlamsız bir artma olduğu görüldü. Galaktozamin verilen grupta ise fukoz değerleri, kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttı ( $^aP < 0.0001$ ). U Vit verilen galaktozamin grubunda da fukoz değerleri galaktozamin grubuna göre anlamlı olarak azaldı ( $^bP < 0.001$ ) ( Şekil 4.15).



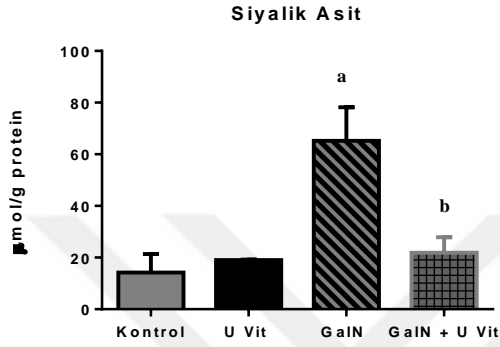
**Şekil 4.15:** Kontrol ve deney grubu sıçanların fukoz değerleri.

<sup>a</sup>P < 0.0001 kontrol grubuna göre;

<sup>b</sup>P < 0.001 galaktozamin grubuna göre;

Deney ve kontrol grubu sıçanların mide siyalik asit değerleri birbiri ile karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu bulundu ( $P_{ANOVA} = 0.0001$ ) (Şekil 4.16). Kontrol

grubu ve U Vit gruplarına ait siyalik asit değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında, U Vit grubunda siyalik asit değerlerinde anlamsız bir artma olduğu saptandı. Galaktozamin verilen grupta ise siyalik asit değerleri, kontrol gruna göre anlamlı olarak arttı ( $^aP < 0.0001$ ). U Vit verilen galaktozamin grubunda da siyalik asit değerlerinde anlamlı bir azalma olduğu tespit edildi ( $^bP < 0.0001$ ) (Şekil 4.16).



**Şekil 4.16:** Kontrol ve deney grubu sıçanların siyalik asit değerleri.

$^aP < 0.0001$  kontrol grubuna göre;

$^bP < 0.0001$  galaktozamin grubuna göre;

Deney ve kontrol grubu sıçanların mide siyalik asit değerleri birbiri ile karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu bulundu ( $P_{ANOVA} = 0.0001$ ) (Şekil 4.16). Kontrol grubu ve U Vit gruplarına ait siyalik asit değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında, U Vit grubunda siyalik asit değerlerinde anlamsız bir artma olduğu saptandı. Galaktozamin verilen grupta ise siyalik asit değerleri, kontrol gruna göre anlamlı olarak arttı ( $^aP < 0.0001$ ). U Vit verilen galaktozamin grubunda da siyalik asit değerlerinde anlamlı bir azalma olduğu tespit edildi ( $^bP < 0.0001$ ) (Şekil 4.16).



## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

GSH vücudumuzda antioksidan savunma sisteminde önemli bir rol oynayan başta karaciğer olmak üzere dalak, böbrek, lens, eritrosit ve lökositlerde lokalize olan bir antioksidandır. GSH yapısında glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan, tiyol grubu içeren non-protein yapısındaki düşük molekül ağırlıklı bir tripeptittir (Choi ve diğ., 2011; Ali ve diğ., 2014). GSH hücrel savunma sistemlerde rol oynayarak oksidatif hasarlarda başlıca koruyucu mekanizmayı oluşturur (Paller, 1988; Reiter ve diğ., 2000). GSH'ın radyasyona, oksidatif hasara ve çeşitli toksik maddelere karşı hücreyi koruduğu bilinmektedir (Hayes ve diğ., 1999). Çeşitli çalışmalarda galaktozamin ile oluşturulan karaciğer toksisitesinde karaciğer GSH seviyesinin azaldığı saptanmıştır (Son ve diğ., 2019). Çatal ve ark. D-GalN ile oluşturdukları böbrek ve karaciğer hasarında, böbrek ve karaciğer GSH değerinin kontrol grubu değerine göre azaldığını bulmuşlar ve karaciğer ve böbrek hasarının askorbik asit,  $\beta$ -karoten, selenyum ve E vit verilmesi ile önlendiğini öne sürmüşlerdir (Catal ve diğ., 2010, 2017). Deney hayvanlarında galaktozamin uygulanmasının karaciğer GSH değerini azalttığı literatürde bildirilmiştir (Wills ve Asha., 2006; Pushpavalli ve diğ., 2010; Coi ve diğ., 2011; Lee ve diğ., 2015; Ai ve diğ., 2016; Babu ve diğ., 2017). GSH değerindeki bu azalma reaktif oksijen türlerinin oluşumundaki artış sonucu GSH'ın okside glutatyon şekline dönüşümündeki artış nedeniyle (Videla ve Valenzuela, 1982).

Çalışmamızda D-GalN verilen grupta mide GSH değerinin azaldığı saptandı. Antioksidan özelliğe sahip olan U vitamini verilmesi ile mide GSH değerinin arttığı görüldü (Şekil 4.1). Mide GSH değerinin artması midede oluşan hasarın önlendiğini bize göstermektedir.

GalN ile yapılan çalışmalarda LPO değerinin arttığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Vimal ve Devaki, 2004). LPO değerinin artması ile hücre membranlarının bütünlüğü ve geçirgenliğinin bozulduğu ve böylece dokularda hasar oluştuğu öne sürülmüştür (Yoshikawa ve diğ., 1979, 1982; Shiratori ve diğ., 1992; Babu ve diğ., 2017).

Çalışmamızda D-GalN verilen sıçanların mide dokusundaki LPO değerlerinin arttığı saptandı. Artan LPO değerlerinin U vitamini verilmesi ile azaldığı görüldü. U vitamini ile LPO değerinin azalmasının nedeni mide dokusunda oluşan hasarın U vitamini verilmesi ile hasarın onarıldığını bize göstermektedir.

GalN verilmesi ile sıçanlarda oluşan oksidatif stres sonucunda antioksidan enzim aktivitelerinde azalma olduğu literatürde belirtilmektedir (Shanmugam ve diğ., 2017).

Organizmada reaktif oksijen türlerine karşı savunma sistemini oluşturan enzimler CAT, SOD, GPx, GR ve GST'dir. Bu enzimler organizmada antioksidan savunma sisteminde önemli rol oynarlar. Reaktif oksijen türlerinin artması bu enzimlerin aktivasyonunun azalmasına neden olmaktadır (Brown ve Borutaite, 2006).

Çalışmamızda tek doz D-GalN uygulanmasının mide CAT, SOD, GPx, GR ve GST aktivitelerini azalttığı bulunmuştur. Antioksidan özelliğe sahip bir vitamin olan U vitamini verilmesinin antioksidan enzimlerdeki bu azalmayı anlamlı derecelerde arttırdığı gözlemlendi. U vitamini verilmesi ile azalmış olan enzim aktivitelerindeki artış U vitamininin mide dokusunda oluşan hasarın önlendiğini göstermektedir.

Günümüzde çeşitli hastalıklara karşı savunma, dokuları toksik ve karsinojen hasara karşı korumak için çeşitli antioksidan özellikli spesifik besinlerin organizmaya alınması gereklidir. Vitaminler bu besinlerden olup, organizmada oluşan reaktif oksijen türlerini ortadan kaldıracırlar. Vitaminler organizmadaki antioksidan enzimlerin aktivitelerini yeniden düzenlerler. Domates, ıspanak, mısır, soğan, karalahana, kırmızı ve beyaz lahanada bol miktarda bulunan U vitamini, bağırsak ve mide kanserine karşı mükemmel bir koruyucudur. U vitamininin vücuttaki toksik maddeleri uzaklaştırmak ve periodontit tedavisi içinde gerekli olduğu da bildirilmektedir (Watanabe ve diğ., 2000; Sulym, 2016).

Peptik ülserlerin iyileşmesinde de U vitamininin önemli rolü vardır. Ayrıca U vitamini kan lipitlerini düşürücü, antidepresan aktivite, sitoprotektif, yara iyileştirici, antiinflamatuvar gibi etkilere sahiptir (Urazaeva, 1976; Salim, 1992; Kim ve diğ., 2010; Lee ve diğ., 2012; Patel ve Prajapati; 2012).

Nötrofiller reaktif oksijen türlerinin önemli kaynaklarından. Nötrofillerin granüllerinde bulunan miyeloperoksidaz enziminin aktivitesi koroner kalp hastalığı, kalp krizi, kronik kalp rahatsızlığı, hepatit C, diyabet, iskemi reperfüzyon ile oluşturulan böbrek hasarında ve sepsis gibi hastalıklarda artar (Lamprecht ve diğ., 2004; Murray ve Carithers, 2005; Lau ve Baldus, 2006; Karadag ve diğ., 2009; Masoodi ve diğ., 2009; Wong ve diğ., 2009). İnsan organizmasında süperoksit ve süperoksitin dismutasyon ürünü olan hidrojen peroksidin

konsantrasyonunun artması ile MPO enzim aktivitesinde de artış meydana gelir (Liu ve diğ., 2018).

MPO, ülseratif kolit hastalığının marker enzimlerinden biridir. Bu enzimin aktivitesinin artışı hastalığın seyrini ortaya koymuştur (Masoodi ve diğ., 2009). VPA ve amiodaron verilen sıçanların karaciğer dokularında MPO aktivitesinde artış olduğu literatürde belirtilmektedir (Sokmen ve diğ., 2012; Turkyilmaz ve Yanardag, 2019). Çalışmamızda sıçanlara U vit verilmesi ile MPO aktivitesinde azalma olduğu saptanmıştır.

Çalışmamızda D-GalN verilen sıçanların mide dokusundaki MPO aktivitesinin arttığı, U vit verilmesi ile mide dokusunun MPO aktivitesinin azaldığı görülmüştür. MPO aktivitesindeki bu azalma U vitaminin serbest radikal oluşumunu azaltması ile ilgili olabilir.

Memelilerde kalp, böbrek, iskelet kasında ve eritrositlerde fazla miktarda bulunan LDH enzimi, bu dokular dışında tüm dokularda bulunmaktadır. Literatürde LDH enziminin doku hasarında, nekroz, hipoksi, miyokardiyal enfarktüste, hemoliz, kanser, diyabette miktarının arttığı belirtilmektedir (Park ve diğ., 2003; Ma ve diğ., 2007; El-Beshbishy, 2008; Mir ve diğ., 2018; Tchamgoue ve diğ., 2018; Bıçakçı ve diğ., 2019; Bilginoglu, 2019; Kianmehr ve diğ., 2019). D-GalN'in karaciğerde toksisite oluşturduğu ve buna bağlı olarak LDH aktivitesinin çeşitli dokularda arttığı gösterilmiştir (Catal ve diğ., 2010; 2017).

Çalışmamızda D-GalN verilen sıçanların mide dokusunda LDH enzim aktivitesinin arttığı bulunmuştur. U vitamini verilmesi ile D-GalN grubunda LDH aktivitesinin azaldığı saptanmıştır. U vitaminin D-GalN ile oluşturulan mide hasarını önlediği öne sürülebilir.

Membrana bağlı enzimlerden olan  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPazların membranlarda oluşan hasara bağlı aktivitelerinde azalma meydana gelir. ATPazlar lipitlere bağımlı olan ve membranda bulunan enzimlerdir. Bu enzimler aktif transportta yer almaktadırlar (Israel ve diğ., 1975).

$\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPazlar hücrede iyonik gradientin sağlanmasında önemli rol oynamaktadırlar ve transport mekanizmasının gerçekleştirilmesinde görevlidirler. Yapılan çeşitli çalışmalarda karaciğer hasarında, diyabette,  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz aktiviteilerinin azaldığı belirtilmiştir (Racciah ve diğ., 1996; İlhan ve diğ., 2001; Chikezie ve Uwakwe, 2014; Turkyilmaz ve Yanardag, 2019).

U vitamininin, hipolipidemik, mide koruyucu, antiinflamatuvar, antidepresan, antioksidan özellikte olduğu ileri sürülmektedir (Urazaeva, 1976; Salim, 1992; Kim ve diğ., 2010; Lee ve diğ., 2012; Kruchinina ve diğ., 2018).

Çalışmamızda D-GalN verilen sıçanların mide dokusunda oluşan hasarda  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz aktivitesinde kontrollere göre anlamlı derecede azalma meydana gelmiştir. Bu enzim aktivitesinde azalma mide hücre membranında hasar oluştuğunu bize göstermektedir. D-GalN verilen sıçanlara U vitamini verilmesi ile  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz aktivitesinde artma olduğu saptanmıştır.

U vitaminin yapısında bulunan tiyol grupları bu enzim aktivitesinde artmaya ve oluşan hasarın önlendiğini bize göstermektedir.

Ksantin oksidaz enzimi molibden içeren oksido redüktazlar sınıfına dahil olan sitosolik bir enzimdir. Purin metabolizmasında anahtar bir enzim olarak görev yapar.  $\text{NAD}^+$  rejenerasyonu, demir absorpsiyonu ve mobilizasyonu, nitratların indirgenmesi gibi biyolojik fonksiyonlara sahiptir. Karaciğer hastalıklarında, viral hepatitler, sarılık, kronik hepatit ve sirozda, hemolitik hastalıklarda ksantin oksidaz enzim aktivitesi artar (Batelli ve diğ., 2001; Schmidt ve diğ., 2019). Kanser (Fang ve diğ., 2009), romatoid artrit, epilepsi (Arhan ve diğ., 2011), Behçet hastalığı, Parkinson hastalığı (Gökçe-Çokal ve diğ., 2017), ateroskleroz, hipertansiyon (Newaz ve diğ., 1996), diyabet, alkolizm (Zima ve diğ., 1993) gibi hastalıklarda XO enziminin aktivitesinde artış meydana geldiği çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Sögüt ve diğ., 2002; Oh ve diğ., 2019).

Çalışmamızda D-GalN verilen sıçanların mide XO enzim aktivitesinde artış olduğu bulunmuştur. U vitamini ile artmış olan XO aktivitesinin azaldığı saptanmıştır.

Organizmaya toksik maddeler verildiği zaman organizmada reaktif oksijen türleri oluşmaktadır. Oluşan reaktif oksijen türleri proteinlerle etkileşerek proteinlerin yapısının bozunmasına, amino asitlerin yan zincirlerinin oksidasyonuna, protein-protein çapraz bağlarının oluşumuna ve protein omurgasının oksidasyonu yolu ile proteinin parçalanmasına yol açar. Meydana gelen bu değişikliklerin enzim aktivitesinde azalmaya, protein fonksiyonlarının kaybına, proteaz inhibitör aktivitesinin kaybına, protein agregasyonuna, proteolize (artmış/azalmış) yatkınlığa, reseptör aracılıklı endositozun bozulmasına, gen

transkripsiyonundaki değişimlere ve immünojen aktivitede artış olur (Berlett ve Stadtman, 1997; Shacter, 2000; Kayalı ve Çakatay, 2004; Özgün-Sayılın ve diğ., 2010).

Pan ve arkadaşları diyabetik hastaların serumlarında AOPP değerlerinde anlamlı bir artış olduğunu ileri sürmüşlerdir (Pan ve diğ., 2010). Yine tip 2 diyabetik hasarlarda plazma AOPP değerlerinin arttığı bildirilmiştir (Cakatay, 2005). Çalışmamızda D-GalN verilen sıçanların mide dokularında AOPP düzeylerinin arttığı saptanmıştır.

Galaktozamin verilmesi proteinlerin yapısında meydana gelen disülfid bağlarının kırılması, sistein kalıntılarının oksidasyonu ve yanlış yeni disülfid bağlarının oluşumunun, U vitamini verilmesi ile midede oluşan hasarın önleendiği ileri sürülebilir (Champe ve Harvey, 1994; Nelson ve Cox, 2000).

Glikoproteinler hücre yüzeyinde proteinler ile birleşmiş bir yapıda olan ve hücre için temel bir yapısal komponenttirler. Hem hücre içinde sitoplazmaya ve organellerde, hem de ekstrasellüler sıvıda bulunurlar. Serumda glikoprotein düzeyinin tayini kanser, romatoit artrit, Behçet hastalığı, psoriasis , kardiovasküler hastalıklar ve merkezi sinir sistemi hastalıklarında önemlidir (Erbil ve diğ., 1985; Shamberger, 1986; Brockhausen ve diğ., 1998; Chong ve diğ., 2019).

Yapılan çalışmalarda birçok kanser türü, glikoprotein sentezinin artmasına yol açmaktadır. Özellikle siyalik asit değerlerinin kanserli olgularda yüksek olduğu literatürde belirtilmektedir (Erbil ve diğ., 1985; Shamberger, 1986; Brockhausen ve diğ., 1998; Chong ve diğ., 2019).

Canlı vücudunda bulunan farklı işleve sahip birçok protein glikoprotein yapısındadır ve glikoproteinler organizmanın yaşamını sürdürebilmesi için gerekli mekanizmaların çalışmasında, hücre davranışlarının belirlenmesinde ve fonksiyonlarını yerine getirebilmesinde, membran transportunda, hücre farklılaşması ve yenilenmesinde önemli görevlere sahiptirler (Yıldız ve Nazlı, 2015).

Bir hücre yüzeyindeki karbohidrat içeriğinin değişmesi, hücrenin farklılaşması ile hücrenin biyolojik ve fizyolojik özelliklerini değiştirir (Anandakumar ve diğ., 2008). Çalışmamızda fukoz, heksoz ve heksozamin gibi glikoproteinlerin mide dokusundaki miktarları tayin edilmiştir. Çalışmamızda mide dokusunda D-GalN verilen sıçanlarda fukoz, heksoz ve heksozamin değerleri artmıştır. Bu değerlerin artması mide dokusunun bozulduğunu bize

göstermektedir. Galaktozamin verilen sıçanlara U vitamini verilmesi ile bu değerlerin azalması U vitamininin mide dokusu üzerinde koruyucu etkisini göstermektedir.

Çalışmamızda galaktozamin verilen sıçanların mide dokusundaki siyalik asit değerlerinin anlamlı olarak arttığı görüldü. Mide de oluşan hasar nedeni ile mide dokusundaki siyalik asit miktarının artışı mide membran yapısının bozulduğunu ve siyalik asit miktarının arttığını göstermektedir. U vitamini verilmesinin siyalik asit miktarını azaltması, mide de oluşan hasarın da önlendiğini göstermektedir. Anabilim Dalımızda yapılan diğer çalışmalarda U vitamininin dokularda oluşan hasarları önlediği saptanmıştır (Sokmen ve diğ., 2012; Tunalı ve diğ., 2015; Gezginci-Oktayoglu ve diğ., 2016; Oktay ve diğ., 2018).

Oksidatif stres sonucu dokularda siyalidaz aktivitesi artar. Artan enzim siyalik asitleri glikoprotein ve glikolipitlerin uç kısımlarından koparır. Böylece vücut sıvılarında serbest siyalik asit miktarı artar (Emekli ve diğ., 2008). Siyalik asit düzeyi mide ülseri, kanseri, romatizmal hastalıklar, gebelik, mide rahatsızlıkları, şeker hastalıkları, hematolojik hastalıklarda artar (Sacan ve diğ., 2016; Gurel-Gokmen ve diğ., 2018).

Sonuç olarak, sıçanlarda galaktozamin ile oluşturulan mide hasarına karşı U vitaminin koruyucu bir etki gösterdiği ilk defa bu çalışmada ileri sürülmüştür.

## KAYNAKLAR

- Adam, B., 2012, *Tıbbi biyokimya*, 1. Baskı, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 549-550.
- Aebi, H., 1984, Catalase in vitro, *Methods in Enzymology*, 105,121-126.
- Ai, G., Huang, Z.M., Liu, Q.C., Han, Y.Q., Chen, X., 2016, The protective effect of total phenolics from *Oenanthe Javanica* on acute liver failure induced by D-galactosamine, *Journal of Ethnopharmacology*, 186, 53-60.
- Ali, N., Rashid, S., Nafees, S., Hasan, S.K., Sultana, S., 2014, Beneficial effects of Chrysin against methotrexate-induced hepatotoxicity via attenuation of oxidative stress and apoptosis, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 385, 215-223.
- Akkuş, T., 1995, *Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri*, Mimoza Yayınları, Konya, Mimoza Yayınları.
- Akpınar, H., Söytürk, M., Şimşek, İ., 2003, *Gastrointestinal sistem hastalıkları*, İç Hastalıkları, In: İliçin, G., Ünal, S., Biberoglu, K. (ed.), Güneş Kitabevi, Ankara, 1512-1530.
- Anandakumar, P., Jagan, S., Kamaraj, S., Ramakrishnan, G., Titto, A.A., Devaki, T., 2008, Beneficial influence of capsaicin on lipid peroxidation, membrane-bound enzymes and glycoprotein profile during experimental lung carcinogenesis, *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 60, 803-808.
- Ardoin, S.P., Sundry, S.J., 2006, Update on non-steroidal anti-inflammatory drugs, *Current Opinion in Rheumatology*, 18, 221-226.
- Arhan, E., Serdaroglu, A., Ozturk, B., Ozturk, H.S., Ozcelik, A., Kurt, N., Kutsal, E., Sevinc, N., 2011, Effects of epilepsy and antiepileptic drugs on nitric oxide, lipid peroxidation and xanthine oxidase system in children with idiopathic epilepsy, *Seizure*, 138-142.
- Arun, M., Asha, V., 2008, Gastroprotective effect of *Dodonaea viscosa* on various experimental ulcer models, *Journal of Ethnopharmacology*, 118, 460-465.
- Ashley, S., Evoy, D., Daly, J., 1999, *Stomach*, Principles of Surgery, 7<sup>th</sup> ed., In: Schwartz, SI., Shires, TG., Spencer, FC. (eds.), McGraw-Hill, New York, 933-997.
- Augspurger, N.R., Scherer, C.S., Garrow, T.A., Baker, D.H., 2005, Dietary S-methylmethionine, a component of foods, has choline-sparing activity in chickens, *Journal of Nutrition*, 135, 1712-1717.
- Babu, P.R., Bhuvaneshwar, C., Sandeep, G., Ramaiah, C.V., Rajendra, W., 2017, Hepatoprotective role of *Ricinus communis* leaf extract against D-galactosamine induced acute hepatitis in albino rats, *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 88, 658-666.
- Battelli, M.G., Musiani, S., Valgimigli, M., Gramantieri, L., Tomassoni, F., Balondi, L., Stirpe, F., 2001, Serum xanthine oxidase in human liver disease, *The American Journal of Gastroenterology*, 96, 1194-1199.

- Berlett, B.S., Stadtman, E.R., 1997, Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress, *The Journal of Biological Chemistry*, 272, 20313-20316.
- Beutler, E., 1971, *Red cell metabolism. A manual of Biochemical methods*, 12th, Academic Press., London, 68-70.
- Beutler, E., 1975, *Glutathione in: Red cell metabolism. A manual of biochemical methods*, 2<sup>nd</sup> ed., Grune and Stratton, New York, USA, 112-114.
- Bıçakçı, N., Karaboga, I., Dökmeci, A.H., Güzel, S., Fidanol-Erboga, Z., 2019, cardioprotective effect of caffeic acid phenethyl ester on cardiac contusion following blunt chest trauma in rats, *Biotechnic and Histochemistry*, 1-7, DOI: 10.1080/10520295.2019.1586999.
- Bilgel, H., 2007, *Genel cerrahi*, Avrupa Tıp Kitapçılık, İstanbul, ISBN: 9789756257227.
- Bilginoglu, A., 2019, Cardiovascular protective effect of pioglitazone on oxidative stress in rats with metabolic syndrome, *Journal of the Chinese Medical Association Publish Ahead of Print*, DOI: 10.1097/JCMA.000000000000103.
- Botting, R.M., 2006, Cyclooxygenase: Past, present and future. A tribute to John R. Vane, *Journal of Thermal Biology*, 31, 208-219.
- Bourgis, F., Roje, S., Nuccio, M.L., Fisher, D.B., Tarczynski, M.C., Li, C., Herschbach, C., Rennenberg, H., Pimenta, M.J., Shen, T.L., Gage, D.A., Hanson, A.D., 1999, S-methylmethionine plays a major role in phloem sulfur transport and is synthesized by a novel type of methyltransferase, *The Plant Cell*, 11, 1485–1498.
- Bures, J., 2004, Gastric and duodenal ulcers etiopathogenesis, diagnosis and therapy at the milestone of the 20th century, *Vnitřní Lekarství*, 1, 91-93.
- Burtis, C.A., Ashwood, E.R., 1994, *Tietz textbook of clinical chemistry*, 2nd ed., 978, 0721644721.
- Brockhausen, I., Yan, J., Dickinson, N., Ogata, S., ve Itzkowitz, S.H, 1998, Enzymatic basis for sialyl-Tn expression in human colon cancer cells, *Glycoconjugate Journal*, 15, 595-603.
- Brown, G.C., Borutaite, V., 2006, Interactions between nitric oxide, oxygen, reactive oxygen species and reactive nitrogen species, *Biochemical Society Transactions*, 34, 953-956.
- Catal, T., Sacan, O., Yanardag, R., Bolkent, S., 2010, Protective effects of antioxidant combination against D-galactosamine-induced kidney injury in rats, *Cell Biochemistry and Function*, 28, 107-113.
- Catal, T., Tunali, S., Bolkent, S., Yanardag, R., 2017, An antioxidant combination improves histopathological alterations and biochemical parameters in D-galactosamine-induced hepatotoxicity in rats, *European Journal of Biology*, 76, 14-19.
- Cerutti, P.A., 1985, Prooxidant states and tumor promotion, *Science*, 227, 375–381.



- Champe, P.C., Harvey, R.A., 1994, *Lippincott's Illustrated reviews: Biochemistry*, J.B. Lippincott Company, Philadelphia.
- Cheng, C.C., Etoh, J., Tanimura, T., Egashira, Y., Ohta, T., Sanada, H., 1996, Effects of dietary gluten on the hepatotoxic action of galactosamine and/or endotoxin in rats, *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 60, 439-443.
- Chikezie, P.C., Uwakwe, A.A., 2014, Activities of three erythrocyte enzymes of hyperglycemic rats (*Rattus norvegicus*) treated with *Allium sativa* extract, *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*, 13, DOI: 10.1186/2251-6581-13-50.
- Choi, J.H., Kong, J.W., Kim, D.W., Sung, Y.K., Lee, S.M., 2011, Protective effects of Mg-CUD against D-galactosamine-induced hepatotoxicity in rats, *European Journal of Pharmacology*, 657, 138-143.
- Cochrane, C.G., 1991, Cellular injury by oxidants, *The American Journal of Medicine*, 91, 23-30.
- Corte, E.D., Stirpe, F., 1968, Regulation of xanthine oxidase in rat liver: modifications of the enzyme activity of rat liver supernatant on the storage at 20 degrees, *The Biochemical Journal*, 108, 349-351.
- Costa, B., Conti, S., Giagnoni, G., Colleoni, M., 2002, Therapeutic effect of the endogenous fatty acid amide, palmitoylethanolamide, in rat acute inflammation: Inhibition of nitric oxide and cyclo-oxygenase systems, *British Journal of Pharmacology*, 137, 413-420.
- Cox, J.D., Ang, K.K., 2010, *Radiation Oncology: Rationale, technique, results*, 9th ed., Mosby, 493-515, ISBN: 9780323076609.
- Croteau, D.L., Bohr, V.A., 1997, Repair of oxidative damage to nuclear and mitochondrial DNA in mammalian cells, *American Society for Biochemistry and Molecular Biology*, 272, 25409-25412.
- Cross, F.R., Hoek, M., McKinney, J.D., Tinkelenberg, A.H., 1994, Role of swi4 in cell cycleregulation of CLN2 Expression, *Molecular and Cellular Biology*, 14, 4779-4787.
- Çağlar, G., 2004, *Laktasyon dönemindeki sıçanlarda deneysel ince bağırsak obstrüksiyonu sonrasında midede meydana gelen yapısal değişikliklerin incelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Çakatay, U., 2005, Protein oxidation parameters in type 2 diabetic patients with good and poor glycaemic control, *Diabetes and Metabolism*, 31, 551-557.
- Daqing, Ma., Hossain, M., Rajakumaraswamy, N., Franks, N.P., Maze, M., 2003, Combination of xenon and isoflurane produces a synergistic protective effect against oxygen-glucose deprivation injury in a neuronal-glial co-culture model, *Anesthesiology*, 99, 748-751.
- Davies, K.J., Goldberg, A.L., 1987, Oxygen radicals stimulate intracellular proteolysis and lipid peroxidation by independent mechanisms in erythrocytes, *The Journal of Biological Chemistry*, 262, 8220-8226.

- Decker, K., Keppler, D., Pausch, J., 1973, The regulation of pyrimidine nucleotide level and its role in experimental hepatitis, *Advances in Enzyme Regulation*, 11, 205-230.
- Decker, K., Keppler, D., 1974, Galactosamine hepatitis: Key role of the nucleotide deficiency period in the pathogenesis of cell injury and cell death, *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, 71, 77-106.
- Dische, Z., Shettles, L.B., 1948, A specific color reaction of methyl pentoses and a spectrophotometric micromethod for their determination, *The Journal of Biological Chemistry*, 175, 593-603.
- Dündar, Y., Aslan, R., 2000, *Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar*, 1. Baskı, Uyum Ajans, Ankara, 10-11.
- El-Beshbishy, H.A., 2008, Aqueous garlic extract attenuates hepatitis and oxidative stress induced by galactosamine/lipopolysaccharide in rats, *Phytotherapy Research*, 22, 1372-1379.
- Elhan, A., 2001, *Anatomi*, 3. Baskı, Güneş Kitabevi, Ankara.
- Emekli, N., Yarat, A., Akbay Tunalı, T., Öztürk Koç, L., Alturfan, El., 2008, *Tükürük biyokimyası: Tükürük histolojisi, fizyolojisi, mikrobiyolojisi ve biyokimyası*.
- Erbil, K.M., Jones, D.J., Klee, G.G., 1985, Use and limitations of serum total and lipid-bound sialic acid concentrations as markers for colorectal cancer, *Cancer*, 55, 404-409.
- Erbil, Y., Degerli, U., 2004, *Mayo kliniği gastrointestinal sistem cerrahisi*, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 127-138, ISBN: 9789754203950.
- Fang, J., Seki, T., Maeda, H., 2009, Therapeutic strategies by modulating oxygen stress in cancer and inflammation, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61, 290-302.
- Freeman, B.A., Crapo, J.D., 1982, Free radicals and tissue injury, *Laboratory Investigation*, 47, 412-426.
- Frei, B., 1999, On the role of vitamin C and other antioxidants in atherogenesis and vascular dysfunction, *Proceedings of The Society for Experimental Biology and Medicine*, 222, 196-204
- Ganong, W.F., 1995, *Fizyoloji*, 20. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara.
- Garcia-Lopez, E., Gonzalez-Gallardo, A., Antaramian, A., Gonzalez-Davalos, M.L., Shimada, A., Varela-Echavarria, A., Mora, O., 2012, In vitro conversion of  $\beta$ -carotene to retinal in bovine rumen fluid by a recombinant  $\beta$ -carotene-15, 15-monooxygenase, *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 82, 94-103.
- Gezginci-Oktayoglu, S., Turkyilmaz, I.B., Ercin, M., Yanardag, R., Bolkent, S., 2016, Vitamin U has a protective effect on valproic acid-induced renal damage due to its anti-oxidant, anti-inflammatory, and anti-fibrotic properties, *Protoplasma*, 253, 127-135.

- Gitnick, G., 1997, *Peptic ulcer diseases and treatment*, In: Artun, Ş., Turgut yayıncılık, İstanbul, 176.
- Gökçe-Çokal, B., Yurtdaş, M., Keskin-Güler, S., Güneş, H.N., Ataç-Uçar, C., Aytaç, B., Durak, Z.E., Yoldaş, T.K., Durak, İ., Çubukçu, H.C., 2017, *Neurological Sciences*, 38, 425-431.
- Gruhlke, M.C.H., Slusarenko, A.J., 2012, The biology of reactive sulfur species (RSS), *Plant Physiology and Biochemistry*, 59, 98-107.
- Gujral, J.S., Farhood, A., Jaeschke, H., 2003, Oncotic necrosis and caspase-dependent apoptosis during galactosamine-induced liver injury in rats, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 190, 37-46.
- Gurel-Gokmen, B., Ipekci, H., Oktay, S., Alev, B., Ustundag, U.V., Ak, E., Akakin, D., Sener, G., Emekli-Alturfan E., Yarat A., Akbay-Tunali T., 2018, Melatonin improves hyperglycemia induced damages in rat brain, *Diabetes Metabolism Research and Reviews*, 1-10.
- Gürdöl, F., 2015, *Biyokimya*, 1. Baskı, Nobel Tıp Kiabevi, İstanbul, ISBN: 9786053351597.
- Habig, W.H., Jacoby, W.B., 1981, Assays for differentiation of glutathione-S-transferases, *Methods of Enzymology*, 77, 398-405.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M., 1984, Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease, *Biochemical Journal*, 219, 1-14.
- Halliwell, B., 1994, Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence, *Lancet*, 344, 721-724.
- Ham, A.W., Cormack, D.H., 1981, *Histology*, 8<sup>th</sup> ed., J.B. Lippincott Company, Philadelphia.
- Hatemi, H., 1996, *İç hastalıkları ders kitabı*, İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul.
- Hayes, J.D., McLellan, L.I., 1999, Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a coordinately regulated defence against oxidative stress, *Free Radical Research*, 31, 273-300.
- Hemler, M.E., Cook, H.W., Lands, W.E., 1979, Prostaglandin biosynthesis can ve triggered by lipid peroxides, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 193, 340-345.
- Henle, E.S., Linn, S., 1997, Formation, prevention and repair of DNA damage by iron/hydrogen peroxide, *The Journal of Biological Chemistry*, 272, 19095-19098.
- Holley, A.E., Cheeseman, K.H., 1993, Measuring free radical reactions in vivo, *British Medical Bulletin*, 49, 494-505.

- Ichikawa, T., Ito, Y., Saegusa, Y., Iwai, T., Goso, Y., Ikezawa, T., Ishihara, K., 2009, Effects of combination treatment with famotidine and methylmethionine sulfonium chloride on the mucus barrier of rat gastric mucosa, *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 24, 488-492.
- Isreal, Y., Kalant, M., Orrego, H., Khanna, J.M., Videla, L., Phillips, J.M., 1975, Experimental alcohol induced hepatic necrosis: Suppression of propylthiouracil, *Proceedings of Natural Academy of Science, USA*, 72, 1137-1141.
- Ilhan, N., Halifeoglu, I., Ozercan, H.I., 2001, Tissue malondialdehyde and adenosine triphosphatase level after experimental liver ischaemia-reperfusion damage, *Cell Biochemistry and Function*, 19, 207-212.
- Ilhan, Ö., Han, Ü., Önal, B., Çelik, S.Y., 2010, Prognostic significance of MUC1, MUC2 and MUC5AC expressions in gastric carcinoma, *The Turkish Journal of Gastroenterology*, 21, 345-352.
- Jander, G., Joshi, V., 2010, Recent progress in deciphering the biosynthesis of aspartate derived amino acids in plants, *Molecular Plant*, 3, 54-65.
- Josephs, M.D., Bahjat, F.R., Fukuzuka, K., Ksontini, R., Solorzano, C.C., Edwards, C.K., Tannahill, C.L., Mackay, S.L., Copeland, E.M., Moldawer, L.L., 2000, Lipopolysaccharide and D-galactosamine-induced hepatic injury is mediated by TNF- $\alpha$  and not by Fas ligand, *American Journal of Physiology. Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 278, 1196-1201.
- Junqueira, L.C., Carneiro, J., Kelley, R.O., 1993, *Basic histology*, 7<sup>th</sup> ed., In: Aytakin, Y. (ed), Barış Kitabevi, İstanbul, 346-356.
- Karadag, B., Vatan, B., Hacıoglu, Y., Duman, D., Baskurt, M., Keles, I., Vural, V.A., 2009, Serum myeloperoxidase level predicts reperfusion in patients with myocardial infarction receiving thrombolytic therapy, *Heart and Vessel*, 24, 247-253.
- Karakaya-Sayılgan, M., 2008, *Sıçanlarda D-galaktozamin ile oluşturulan karaciğer yetmezliğinde probiyotiklerin koruyucu etkisi*, Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi.
- Kato, O., Fukuda, Y., Hayakawa, T., Izuta, S., Yoshida, S., 1998, Serum DNA polymerase beta as an indicator for fatal liver injury of rat induced by D-galactosamine hydrochloride and lipopolysaccharide, *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1380, 369-376.
- Kayaalp, O.S., 2012, *Peptik ülser tedavisinde kullanılan ilaçlar*, Akılcı Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 13. Baskı, In: Ozdemir, O., Topal, G., Yıldırım, A., Kayaalp, O., (eds), Pelikan Kitabevi, Ankara, 1409-1422.
- Kayalı, R., Çakatay, U., 2004, Protein oksidasyonunun ana mekanizmaları, *Cerrahpaşa Journal of Medicine*, 35, 83-89.

- Keppler, D., Fröhlich, J., Reutter, W., Wieland, O., Decker, K., 1969, Changes in uridine nucleotides during liver perfusion with D-galactosamine, *Febs Letters*, 4, 278-280.
- Keppler, D., Rudigier, J., Bischoff, E., Decker, K., 1970, The trapping of uridine phosphates by D-galactosamine, D-glucosamine and 2-deoxy-D-galactose. A study on the mechanism of galactosamine hepatitis, *European Journal of Biochemistry*, 17, 246-253.
- Kılınç, K., Kılınç, A., 2002, Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri, *Hacettepe Tıp Dergisi*, 33, 110-118.
- Kianmehr, Z., Khorsandi, K., Mohammadi, M., Hosseinzadeh, R., 2019, Low-level laser irradiation potentiates anticancer activity of p-coumaric acid against human malignant melanoma cells, *Melanoma Research*, DOI: 10.1097/CMR.0000000000000603.
- Kim, W.S., Yang, Y.J., Min, H.G., Song, M.G., Lee, J.S., Park, K.Y., Kim, J.J., Sung, J.H., Choi, J.S., Cha, H.J., 2010, Accelerated wound healing by S-methylmethionine sulfonium: evidence of dermal fibroblast activation via the ERK1/2 pathway, *Pharmacology*, 85, 68-76.
- Kim, W.S., Seo, H.M., Kim, W.K., Choi, J.S., Kim, I., Sung, J.H., 2015, The photoprotective effect of S-methylmethionine sulfonium in skin, *International Journal of Molecular Sciences*, 16, 17088-17100.
- Kruchinina, T.V., Makhova, A.A., Shikh, E.V., Drozdov, V.N., 2018, S-methylmethionin (vitamin U): experimental studies and clinical perspective, *Voprosy Pitaniia*, 87, 70-76.
- Larsen, W.J., 1997, *Human embryology*, 2<sup>nd</sup> ed., New York: Churchill Livingstone.
- Lamprecht, M., Greilberger, J., Oettl, K., 2004, Analytical aspects of oxidatively modified substances in sports and exercises, *Nutrition*, 20, 728-730.
- Lau, D., Baldus, S., 2006, Myeloperoxidase and its contributory role in inflammatory vascular disease, *Pharmacology and Therapeutics*, 111, 16-26.
- Ledwozyw, A., Michalak, J., Stepień, A., Kadziolka, A., 1986, The relationship between plasma triglycerides, cholesterol, total lipids and lipid peroxidation products during human atherosclerosis, *Clinica Chimica Acta*, 155, 275-283.
- Lee, N.Y., Park, K.Y., Min, H.J., Song, K.Y., Lim, Y.Y., Park, J., Kim, B.J., Kim, M.N., 2012, Inhibitory effect of Vitamin U (S-methylmethionine sulfonium chloride) on differentiation in 3T3-L1 Pre-adipocyte cell lines, *Annals of Dermatology*, 24, 39-44.
- Lee, S., Han, K.H., Yabuki, E., Nakamura, Y., Kawakami, S., Shimada, K., Hayakawa, T., Onoue, H., Fukushima, M., 2015, Dietary L-cysteine inhibits D-galactosamine-induced acute liver injury in rats, *Food Science and Biotechnology*, 24, 1151-1157.
- Leteurtre, E., Zerimech, F., Piessen, G., Wacrenier, A., Leroy, X., Copin, M.C., et al., 2006, Relationships between mucinous gastric carcinoma, MUC2 expression and survival, *World Journal of Gastroenterology*, 12, 3324-3331.

- Liu, Y., Tian, X., Gou, L., Fu, X., Li, S., Lan, N., Yin, X., 2012, Protective effect of L-citrulline against ethanol-induced gastric ulcer in rats, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 34, 280-287.
- Liu, Q., Liu, Y., Shi, J., Gao, M., Liu, Y., Cong, Y., Li, Y., Wang, Y., Yu, M., Lu, Y., Wang, D., Chen, S., Zheng, Y., Cheng, Y., 2018, Entire peroxidation reaction system of myeloperoxidase correlates with progressive low-density lipoprotein modifications via reactive aldehydes in atherosclerotic patients with hypertension, *Cellular Physiology and Biochemistry*, 50, 1245-1254.
- Lorentz, K., Weiß, T., Kraas, E., 1986, Sialic acid in human serum and cerebrospinal fluid, *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*, 24, 189-198.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951, Protein measurement with the Folin-phenol reagent, *The Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275.
- Ma, K.F., Zhang, X.Y., Qi, L.Y., 2007, Protective effects of triterpenoids on primarily cultured rat hepatocytes injured by D-galactosamine and carbon tetrachloride, *Zhejiang Da Xue xue Bao. Yi Xue Ban*, 36, 247-254.
- Marmol, F., Sanchez, J., Lopez, D., Martinez, N., Mitjavila, M.T., Puig-Parellada, P., 2009, Oxidative stress, nitric oxide and prostaglandin E2 levels in the gastrointestinal tract of aging rats, *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 61, 201-206.
- Matsumoto, K., Motoyasu, N., Sera, K., Fujii, T., Yoshikawa, Y., Yasui, H., Taniguchi, H., Kajiwara, N., 2011, Effects of Zn(II) complex with vitamins C and U, and carnitine on metabolic syndrome model rats, *Metallomics*, 3, 683-685.
- Masoodi, I., Kochhar, R., Dutta, U., Vaishnavi, C., Prasad, K.K., Vaiphei, K., Kaur, S., Singh, K., 2009, Fecal lactoferrin, myeloperoxidase and serum C-reactive are effective biomarkers in the assessment of disease activity and severity in patients with idiopathic ulcerative colitis, *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 24, 1768-1774.
- Mates, J.M., Perez-Gomez, C., Castro, I.N., 1999, Antioxidant enzymes and human diseases, *Clinical Biochemistry*, 32, 595-560.
- Menteş, N.K., 1982, *Klinik Gastroenteroloji*, 4. Basım, Ege Tıp Fak Mat, İzmir, 145.
- Mills, S.E., 2012, *Histology for Pathologist*, 4<sup>th</sup> ed., Philadelphia PA: Lippincott Williams and Wilkins, USA, 9781451113037.
- Mir, S.M., Sahu, B.D., Koneru, M., Kuncha, M., Jerald, M.K., Ravuri, H.G., Kanjilali S., Sistla, R., 2018, Supplementation of oat (*Avena sativa* L.) extract abates alcohol-induced acute liver injury in a mouse model, *Nutrition Research*, 54, 80-92.
- Moore, K.L., Persaud, T.V.N., 2002, *İnsan embriyolojisi*, 6<sup>th</sup> ed., Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- Murray, K.F., Carithers, R.L., 2005, AASLD practice guidelines: Evaluation of the patient for liver transplantation, *Hepatology*, 41, 1407-1432.

- Mylorie, A.A., Coolins, H., Umbles, C., Kyle, J., 1986, Erythrocyte superoxide dismutase activity and other parameters of copper status in rats inserting lead acetate, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 82, 512-520.
- Nehra, D., Howell, P., Williams, C.P., Pye, J.K., Beynon, J., 1999, Toxic bile acids in gastro-esophageal reflux disease: Influence of gastric acidity, *Gut*, 44, 598-602.
- Nelson, D.L., Cox, M.M., 2000, *Lehninger principles of biochemistry*, 3<sup>th</sup> ed., Worth Publishers, New York, 23-204.
- Newaz, M.A., Adeeb, N.N., Muslim, N., Razak, T.A., Htut, N.N., 1996, Uric acid, xanthine oxidase and other risk factors of hypertension in normotensive subjects, *Clinical and Experimental Hypertension*, 18, 1035-1050.
- Newsome, P.N., Plevris, J.N., Nelson, L.J., Hayes, P.C., 2000, Animal models of fulminant hepatic failure: A critical evaluation, *Liver Transplantation*, 6, 21-31.
- Noyan, A., 1998, *Yaşamda ve hekimlikte fizyoloji*, 10. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara.
- Ogawa, S., Mitsuya, S., 2012, S-methylmethionine is involved in the salinity tolerance of *Arabidopsis thaliana* plants at germination and early growth stages, *Physiologia Plantarum*, 144, 13–19.
- Oh, S.Y., Choi, S.Y., Choi, H.J., Ryu, H.M., Kim, Y.J., Jung, H.Y., Cho, J.H., Kim, C.D., Park, S.H., Kwon, T.H., Kim, Y.L., 2019, The emerging role of xanthine oxidase inhibition for suppression of breast cancer cell migration and metastasis associated with hypercholesterolemia, *The Faseb Journal*, DOI: 10.1096/fj.201802415RR.
- Oktay, S., Bayrak, G., Alev, B., Ipekci, H., Ustundag, U.V., Turkyilmaz, I.B., Pisiriciler, R., Emekli-Alturfan, E., Tunali-Akbay, T., Yanardag, R., Yarat, A., 2018, The effect of vitamin U on the lung tissue of pentylenerazole-induced seizures in rats, *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 391, 177-184.
- Oktay, S., Turkyilmaz, I.B., Kaya, S., Akyuz, S., Yanardag, R., Yarat, A., 2018, Effects of combined treatment of amiodarone and vitamin U on rat gingiva, *Indian Journal of Experimental Biology*, 56, 759-763.
- Okada, Y., Copeland, B.R., Fitridge, R., 1994, Fibrin contributes to microvascular obstructions and parenchymal changes during early focal cerebral ischemia and reperfusion, *Stroke*, 25, 1847- 1854.
- Olaleye, S.B., Farombi, E.O., 2006, Attenuation of indomethacin and HCl/ethanol-induced oxidative gastric mucosa damage in rats by kolaviron, a natural biflavonoid of garcinia kola seed, *Phytotherapy Research*, 20, 14-20.
- Osawa, Y., Nagaki, M., Banno, Y., Yamada, Y., Imose, M., Nozawa, Y., Moriwaki, H., Nakashima, S., 2001, Possible involvement of reactive oxygen species in D-galactosamine-induced sensitization against tumor necrosis factor- $\alpha$ -induced hepatocyte apoptosis, *The Journal of Cellular Physiology*, 187, 374-385.

- Özgün-Sayılan, G., Eskiocak, S., Süt, N., 2010, Streptozotosin ile diyabet geliştirilmiş sıçanlarda L-karnitin protein oksidasyonu üzerine etkisi, *Turkish Journal of Biochemistry*, 35, 183-189.
- Paller, M.S., 1988, Renal work, glutathione and susceptibility to free radical-mediated postischemic injury, *Kidney International*, 33, 843-849.
- Pan, H.Z., Zhang, L., Guo, M.Y., Sui, H., Li, H., Wu, W.H., Qu, N.Q, Liang, M.H., Chang, D., 2010, The oxidative stress status in diabetes mellitus and diabetic nephropathy, *Acta Diabetologica*, 1, 71-76.
- Park, E.J., Zhao, Y.Z., Na, M., Bae, K., Kim, Y.H., Lee, B.H., Sohn, D.H., 2003, Protective effects of honokiol and magnolol on tertiary butyl hydroperoxide- or D-galactosamine-induced toxicity in rat primary hepatocytes, *Planta Medica*, 69, 33-37.
- Patel, A.D., Prajapati, N.K., 2012, Review on biochemical importance of vitamin-U, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 1, 209-215.
- Pushpavalli, G., Kalaiarasi, P., Veeramani, C., Pugalendi, K.V., 2010, Effect of chrysin on hepatoprotective and antioxidant status in D-galactosamine-induced hepatitis in rats, *European Journal of Pharmacology*, 631, 36-41.
- Raccach, D., Fabreguetts, C., Azulay, J.P., Vague, P., 1996, Erythrocyte Na(+)-K(+)-ATPase activity, metabolic control, and neuropathy in IDDM patients, *Diabetes Care*, 19, 564-568.
- Racz, I., Paldi, E., Szalai, G., Janda, T., Pal, M., Lasztity, D., 2008, S-methylmethionine reduces cell membrane damage in higher plants exposed to low-temperature stress, *Journal of Plant Physiology*, 165, 1483-1490.
- Reiter R.J., Tan D.X., Osuna C., Gitto E., 2000, Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. A review, *Journal of Biomedical Science*, 7, 444-458.
- Ridderstap, A.S., Bonting, S.L., 1969, Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-activated ATPase and exocrine pancreatic secretion in vitro, *The American Journal of Physiology*, 217, 1721-1727.
- Ross M. H, Romrell L. J, 1989, *Histology a text and atlas*, 2th ed., W. W. A Waverly Company, London, 424-430.
- Ryan, C.J., Anilkumar, T., Ben-Hamida, A.J., Khorsandi, S.E., Aslam, M., Pusey, C.D., Gaylor, J.D., Courtney, J.M., 2001, Multisorbent plasma perfusion in fulminant hepatic failure: Effects of duration and frequency of treatment in rats with grade III hepatic coma, *Artificial Organs*, 25, 109-118.
- Sacan, O., Turkyilmaz, I.B., Bayrak, B.B., Mutlu, O., Akev, N., Yanardag, R., 2016, Zinc supplementation ameliorates glycoprotein components and oxidative stress changes in the lung of streptozotocin diabetic rats, *Biometals*, 29, 239-248.
- Sadler, T.W., 1995, *Langman's Medical Embryology*, Williams & Wilkins 428 E. Preston Street Baltimore, Maryland, USA, 7, 236-242.



- Sagar, V., Ahamed, R.N., 1999, Gastric mucosal cellular changes induced by indomethacin (NSAID) in male albino rats, *Indian Journal of Experimental Biology*, 37, 365-369.
- Saika, M., Ueyama, T., Senba, E., 1999, Prostacyclin analog prevents stress-induced expression of immediate early genes and gastric mucosal lesion in the rat stomach, *Life Sciences*, 64, 235-240.
- Salim, A.S., 1991, Administration of sulfhydryls to stimulate the healing of ischemia-induced acute gastric mucosal injury in the rat, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 80, 539-541.
- Salim, A.S., 1992, Sulphydryl-containing agents stimulate the healing of duodenal ulceration in man, *Pharmacology*, 45, 170-180.
- Salim, A.S., 1992, Role of sulphhydryl-containing agents in the management of venous (varicose) ulceration. A new approach, *Clinical and Experimental Dermatology*, 17, 427-432.
- Salim, A.S., 1993, Sulfhydryl-containing agents in the treatment of gastric bleeding induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs, *Canadian Journal of Surgery*, 36, 53-58.
- Shacter, E., 2000, Quantification and significance of protein oxidation in biological samples, *Drug Metabolism Reviews*, 32, 307-326.
- Scibior, D., Czeczot, H., 2006, Catalase: structure, properties, functions, *Postepy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej*, 60, 170-180.
- Schmidt, H.M., Kelley, E.E., Straub, A.C., 2019, The impact of xanthine oxidase (XO) on hemolytic diseases, *Redox Biology*, 21, 101072.
- Schubert, M.L., Peura, D.A., 2008, Control of gastric acid secretion in health and disease, *Gastroenterology*, 134, 1842-1860.
- Seri, K., Matsuo, T., Asano, M., Sato, R., Kato, T., 1978, Hypolipidemic effects of S-methyl methionine (Vitamin U) using various experimental procedures, *Arzneimittel Forschung-Drug Research*, 28, 1711-1712.
- Seri, K., Matsuo, T., Taniguchi, T., Amemiya, K., Kudo, M., Saito, G., Kato, T., 1980, Hypolipidemic effects of S-methylmethionine (Vitamin U) using various experimental procedures, *Arzneimittel Forschung*, 30, 1694-1703.
- Seven, A., Candan, G., 1996, Antioksidan savunma sistemleri, *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 27, 41-50.
- Shanmugam, B., Shanmugam, K.R., Ravi, S., Subbaiah, G.V., Ramakrishana, C., Mallikarjuna, K., 2017, Exploratory studies of (-)-Epicatechin, a bioactive compound of *Phyllanthus niruri*, on the antioxidant enzymes and oxidative stress markers in D-galactosamine-induced hepatitis in rats: A Study with reference to clinical prospective, *Pharmacognosy Magazine*, 13, 56-62.

- Shamberger, R.J., 1986, Evaluation of water soluble and lipid soluble sialic acid levels as tumor markers, *Anticancer Research*, 6, 717-720.
- Shiratori, Y., Hai, K., Takada, H., Kiriyama, H., Nagura, T., Matsumoto, K., Kamii, K., Okano, K., Tanaka, M., 1992, Mechanism of accumulation of macrophages in galactosamine-induced liver injury: effect of lipoxygenase inhibitors on chemotaxis of spleen cells, *Pathobiology*, 60, 316-321.
- Sternberg, S.S., 1990, *Histology for pathologist*, 2<sup>nd</sup> ed., Lippincott-Raven Publications, London.
- Sokmen, B.B., Tunali, S., Yanardag, R., 2012, Effects of vitamin U (S-methylmethionine sulfonium chloride) on valproic acid induced liver injury in rats, *Food and Chemical Toxicology*, 50, 3562-3566.
- Son, Y.O., Hwang, J.M., Choi, K.C., Lee, J.C., 2019, A Phenolic acid and flavonoid fraction isolated from *Lolium multiflorum* lam. Prevents D-galactosamine-induced liver damages through the augmentation of Nrf2 expression, *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 34, 68-75.
- Sögüt, S., Aydın, E., Elyas, H., Aksoy, N., Ozyurt, H., Totan, Y., Akyol O., 2002, The activities of serum adenosine deaminase and xanthine oxidase enzymes in Behcet's disease, *Clinica Chimica Acta*, 325, 133-138.
- Sugimoto, Y., Tarumi, T., Kaneko, Y., Isayama, S., Kawai, N., Sugimoto, H., Yamada, H., Kamei, C., 1999, Effect of propolis extract on D-galactosamine-induced hepatic injury in rats, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 22, 1237-1239.
- Sulym, Y.V., 2016, Experience of application of compositions with S-methylmethionine sulfonium chloride (Vitamin U) for treatment of periodontitis, *Therapeutic Dentistry*, 2, ISSN: 2409-0255.
- Sun, F., Hamagawa, E., Tsutsui, C., Sakaguchi, N., Kakuta, Y., Tokumaru, S., Kojo, S., 2003, Evaluation of oxidative stress during apoptosis and necrosis caused by D-galactosamine in rat liver, *Biochemical Pharmacology*, 65, 101-107.
- Süleyman, H., Akçay, F., Altınkaya, K., 2002, The effect of nimesulide on the indomethacin and ethanol induced gastric ulcer in rats, *Pharmacological Research*, 45, 155-158.
- Tandogan, B., Güvenç, A., Çalış, İ., Ulusu, N.N., 2011, In vitro effects of compounds isolated from *Sideritis brevis bracteata* on bovine kidney cortex glutathione reductase, *Acta Biochimica Polonica*, 58, 471-475.
- Tapalaga, D., Tiegs, G., Angermüller, S., 2002, NF-kappaB and caspase-3 activity in apoptotic hepatocytes of galactosamine-sensitized mice treated with TNF-alpha, *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 50, 1599-1609.
- Tekkes, Y., 2006, *Streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş farelerde Aspirin ve E vitaminin dokularda lipid peroksidasyonu ve antioksidan sisteme etkisinin araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

- Tchamgoue, A.D., Tchokouaha, L.R.Y., Tsabang, N., Tarkang, P.A., Kuate, J.R., Agbor, G.A., 2018, Costus afer protects cardio-, hepato-, and reno-antioxidant status in streptozotocin-intoxicated wistar rats, *Biomed Research International*, DOI: 10.1155/2018/4907648.
- Thomas, C.E., Reed, D.J., 1989, Current status of calcium in hepatocellular injury, *Hepatology*, 10, 375-384.
- Thomas, M.J., 2000, The role of free radicals and antioxidants, *Nutrition*, 16, 716-718.
- Tsai, A.C., 1975, Lipid peroxidation and glutathione peroxidase activity in the liver of cholesterol-fed rats, *The Journal of Nutrition*, 1975, 105, 946-951.
- Tsutsui, S., Itagaki, S., Kawamura, S., Harada, K., Karaki, H., Doi, K., Yoshikawa, Y., 2003, D-galactosamine induced hepatocyte apoptosis is inhibited in vivo and in cell culture by a calcium calmodulin antagonist, chlorpromazine, and a calcium channel blocker, verapamil, *Experimental Animals*, 52, 43-52.
- Tunali, S., Kahraman, S., Yanardag, R., Vitamin U, 2015, A novel free radical scavenger, prevents lens injury in rats administered with valproic acid, *Human and Experimental Toxicology*, 34, 904-910.
- Turkyilmaz, I.B., 2014, *Sıçanlarda amidaron ile oluşturulan karaciğer hasarına U vitamini'nin etkileri*, Doktora tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Biyokimya Programı.
- Turkyilmaz, I.B., Yanardag, R., 2019, Protecting effect of vitamin U against amidarone-induced hepatic damage via its antioxidative activity, *Bulgarian Chemical Communications*, 51, 20-24.
- Urazaeva, L.G., 1976, Anti-inflammatory effect of methylmethionine sulfonium chloride (vitamin U), *Farmakologiya i Toksikologiya*, 39, 316-319.
- Uysal, M., 1998, Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada prooksidanantioksidan dengelyi etkileyen koşullar, *Klinik Gelişim Dergisi*, 11, 336-341.
- Uz, B., 2008, *Aspirin ile deneysel olarak gastrik ülser oluşturulan ratlarda L-karnitinin gastroprotektif etkilerinin araştırılması*, Uzmanlık Tezi, Fatih Üniversitesi, Tıp Fakültesi.
- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic M., Mazur, M., 2006, Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer, *Chemico-Biological Interactions*, 160, 1-40.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur, M., Telser, J., 2007, Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39, 44-84.
- Van-Molle, W., Libert, C., 2003, Bilirubin release induced by tumor necrosis factor in combination with galactosamine is toxic to mice, *Cytokine*, 23, 94-100.

- Videla, L.A., Valenzuela, A., 1982, Alcohol ingestion, liver glutathione and lipoperoxidation: Metabolic interrelations and pathological implications, *Life Sciences*, 31, 2395-2407.
- Vimal, V., Devaki, T., 2004, Hepatoprotective effect of allicin on tissue defense system in galactosamine/endotoxin challenged rats, *Journal of Ethnopharmacology*, 90, 151-154.
- Ward, P.A., 1991, Mechanism of endothelial cell injury, *The Journal of Laboratory Clinical Medicine*, 118, 421-426.
- Watanabe, T., Ohara, S., Miyazawa, S., Saigenji, K., Hotta, K., 2000, Augmentive effects of L-cysteine and methylmethionine sulfonium chloride on mucin secretion in rabbit gastric mucous cells, *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 15, 45-52.
- Wei, H., Frankel, K., 1991, In vivo formation of oxidized DNA bases in tumor promoter-treated mouse skin, *Cancer Research*, 51, 4443-4449.
- Weiss S.J., Lobuglio, A.F., 1982, Phagocyte-generated oxygen metabolites and cellular Injury, *Laboratory Investigation*, 47, 5-18.
- Wendel, A., 1981, Glutathione peroxidase, *Methods in Enzymology*, 77, 325-333.
- Whittle, B.J., 1977, Mechanisms underlying gastric mucosal damage induced by indomethacin and bile-salts and their actions of prostaglandins, *British Journal of Pharmacology*, 60, 455-460.
- Wills, P.J., Asha, V.V., 2006, Protective effect of *Lygodium flexuosum* (L.) Sw. (Lygodiaceae) against D-galactosamine induced liver injury in rats, *Journal of Ethnopharmacology*, 108, 116-123.
- Winzler, R.J., 1955, *Determination of serum glycoproteins*, Methods of biochemical analysis, In: Glick, DP. (ed), New York: Interscience Publishers Inc, 279-311.
- Witko-Sarsat, V., Friedlander, M., Capeillere-Blandin, C., Nguyen-Khoa, T., Nguyen, A.T., Zingraff, J., Jungers, P., Descomps-Latscha, B., 1996, Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia, *Kidney International*, 49, 1304-1313.
- Wong, N.D., Gransar, H., Narula, J., Shaw, L., Moon, J.H., Miranda-Peats, R., Rozanski, A., Hayes, S.W., Thomson, L.E., Friedman, J.D., Berman, D.S., 2009, Myeloperoxidase, subclinical atherosclerosis, and cardiovascular disease events, *JACC: Cardiovascular imaging*, 9, 1093-1099.
- Wongrakpanich, S., Wongrakpanich, A., Melhado, K., Rangaswami, J., 2018, A comprehensive review of non-steroidal anti-inflammatory drug use in the elderly, *Aging and Disease*, 9, 143-150.
- Wu, YH., Hu, SQ., Liu, J., Cao, H.C., Xu, W., Li, Y.J., Li, L.J., 2014, Nature and mechanisms of hepatocyte apoptosis induced by D-galactosamine/lipopolysaccharide challenge in mice, *International Journal of Molecular Medicine*, 33, 1498-1506.

- Yalçın, A.S., 1998, Antioksidanlar, *Klinik Gelişim Dergisi*, 11, 342-346.
- Yanardag, R., Ozsoy-Sacan, O., Ozdil, S., Bolkent, S., 2007, Combined effects of vitamin C, vitamin E, and sodium selenate supplementation on absolute etanol-induced injuriy in various organs of rats, *International Journal of Toxicology*, 26, 513-523.
- Yentür, E.A., 2006, *Nonsteroid antiienflamatuar ilaçlar*, 1, Ağrı.
- Yerer, M.B., Aydoğan, S., 2000, Oksidatif stres ve antioksidantlar, *Sağlık Bilimleri Dergisi*, Erciyes Üniversitesi, 9, 49-53.
- Yıldırım, M., 1994, *İnsan anatomisi*, 1. Baskı, 123-141.
- Yıldız, S.E., Nazlı, M., 2015, Glikoproteinlerin yapısal özellikleri ve fetal fibronektinler, *Caucasian Journal of Science*, 44.
- Yoshikawa, T., Yokoe, N., Takemura, S., Kato, H., Hotta, T., Matsumura, N., Ikezaki, M., Hosokawa, K., Kondo, M., 1979, Lipid peroxidation and lysosomal enzymes in D-galactosamine hepatitis and its and its protection by vitamin E, *Gastroenterologia Japonica*, 14, 31-39.
- Yoshikawa, T., Furukawa, Y., Murakami, M., Takemura, S., Kondo, M., 1982, Effects of vitamin E on D-galactosamine-induced or carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity, *Digestion*, 25, 222-229.
- Yoshikawa, T., Naito, Y., Ueda, S., Takahashi, S., Oyamada H., Yoneta, T., Sugino, S., Kondo, M., 1990, Ischemia-reperfusion injury and free radical involvement in gastric mucosal disorders, *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 264, 401-410.
- Zima, T., Novak, L., Stipek, S., 1993, Plasma xanthine oxidase level and alcohol administration, *Alcohol and Alcoholism*, 28, 693-694.

[www.dicle.edu.tr](http://www.dicle.edu.tr)

<https://evrimagaci.org>

<http://drahmetdobrucali.com/peptik-ulser>

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>

[www.slideshare.net](http://www.slideshare.net)

[www.turkcerrahi.com](http://www.turkcerrahi.com)

**EKLER**



## ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Dileknur TOPALOĞLU
Doğum Yeri	Gebze
Doğum Tarihi	25.11.1991
Uyruğu	<input checked="" type="checkbox"/> T.C. <input type="checkbox"/> Diğer:
Telefon	0534 457 26 49
E-Posta Adresi	topalogludlk@gmail.com
Web Adresi	



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Kocaeli Üniversitesi
Fakülte	Fen-Edebiyat Fakültesi
Bölümü	Kimya Bölümü
Mezuniyet Yılı	2015

Yüksek Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Enstitü Adı	Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Anabilim Dalı	Kimya Anabilim Dalı
Programı	Biyokimya Programı

Makale ve Bildiriler	
Topaloglu, D., Turkyilmaz, I.B., Yanardag, R., "Vitamin U Protects Against Galactosmine Induced Gastric Damage in Rats", First International Symposium on Graduate Research in Science, İSTANBUL, TÜRKİYE, 4-5 Ekim 2018, pp 334.	