



**T.C.**

**ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ**

**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**H<sub>2</sub>S, CO VE NO'İN DENEYSEL ÜLSER MODELLERİ  
ÜZERİNDEKİ OLASI KORUYUCU ETKİLERİNİN  
SIÇANLARDA DEĞERLENDİRİLMESİ**

**DOKTORA TEZİ**

**Dudu Selcen KOCA YILDIZ**

**DANIŞMAN**

**PROF. DR. KEVSER EROL**

**2019**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

Dudu Selcen KOCA YILDIZ'ın Doktora Tezi olarak hazırladığı “H<sub>2</sub>S, CO ve NO'in Deneysel Ülser Modelleri Üzerindeki Olası Koruyucu Etkilerinin Sıçanlarda Değerlendirilmesi” başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirerek “KABUL” edilmiştir.

Tarih  
26.12.2019

Üye : Prof. Dr. Kevser EROL



Üye : Prof. Dr. Fatma Sultan KILIÇ




Üye : Prof. Dr. Kubilay UZUNER



Üye : Prof. Dr. Rana ARSLAN



Üye : Doç. Dr. F. Yasemin ÖZATIK



Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun  
tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof Dr. İ. Özkan ALATAŞ  
Enstitü Müdürü

## ÖZET

### H<sub>2</sub>S, CO VE NO'İN DENEYSEL ÜLSER MODELLERİ ÜZERİNDEKİ OLASI KORUYUCU ETKİLERİNİN SIÇANLARDA DEĞERLENDİRİLMESİ

**Giriş:** Etanol, stres ve nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçların neden olduğu mide mukozası hasarı ciddi bir tıbbi problemdir. NO, H<sub>2</sub>S ve CO gaz otakoidlerdir ve tıbbi amaçlar için çeşitli alanlarda kullanılırlar. NO'nun gastrik mukoza üzerinde koruyucu etkilerinin olduğu bilinmektedir. Son zamanlarda bazı çalışmalar H<sub>2</sub>S ve CO'nun da mide koruyucu etki gösterdiğini belirtmektedir. Bu çalışma, bu gaz otakoidlerin etanol, indometasin ve stres kaynaklı gastrik ülser modellerinde koruyucu etkilerini değerlendirmek ve karşılaştırmak amacıyla planlanmıştır.

**Metodlar:** Üç farklı otakoid prekürsör, NO için L-arginin (100 mg / kg, ip), H<sub>2</sub>S için NaHS (5 mg / kg, ig), CO için CORM-2 (Karbonmonoksit salgılayıcı molekül-2 = trikarboniildichlororuteniyum (II) dimer) (5 mg / kg, ig), nin olası gastroprotektif etkileri üç farklı mide ülseri modeli olarak etanol 1 ml% 96 ig, indometasin (40 mg / kg ig) ve stres (soğuk + hareketsizlik) üzerinde incelenmiştir. Sonuçlar ülser indeksi, gastrik mukus sekresyonu, serbest ve total asidite, MDA GSH, protein olmayan sülfhidril grupları (NP-SH), TNF alfa, PGE<sub>2</sub>, COX-1, COX-2 düzeyleri ölçülerek değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** CORM-2 ve NaHS'nin etanol ile indüklenen ülserlere karşı gastroprotektif aktivite gösterdiği bulunmuştur. L-arginin ayrıca strese bağlı ülserlere karşı gastroprotektif olmuştur. Etanol grubunda CORM-2 ve NaHS ile mukus sekresyonunun indüksiyonu ve MDA, TNF- $\alpha$  seviyelerinin azalması gözlenmiştir. Stres grubuna L-arginin verildiğinde total asidite ve TNF- $\alpha$  düzeylerinde azalma meydana gelmiştir. İndometasin, mukus seviyesini önemli ölçüde yükseltmesine rağmen asiditeyi arttırarak belirgin olarak gastrik ülser oluşumunu arttırmıştır. Bu ajanların hiçbiri, indometasinin neden olduğu ülserlere karşı gastroprotektif etki göstermemiştir.

**Sonuçlar:** CO ve H<sub>2</sub>S'nin etanol ile indüklenen ülserlere karşı gastroprotektif etkileri olabileceği görülmektedir. Bu çalışma, yeni antiülserojenik etki gösteren ajanların gelişimine ve bu aktivitelerin altında yatan mekanizmalara katkıda bulunabilir.



## SUMMARY

### EVALUATION OF POTENTIAL GASTROPROTECTIVE EFFECTS OF H<sub>2</sub>S, CO AND NO ON EXPERIMENTAL ULCER MODELS IN RATS

**Background:** Mucosal damage induced by ethanol, stress and nonsteroidal antiinflammatory drugs is serious medical problem. NO, H<sub>2</sub>S and CO are gaseous autacoids and they are used in several areas of real-life for medical purposes. It is known that NO has protective effects on gastric mucosa. Recently some studies indicated that H<sub>2</sub>S and CO also have gastroprotective effects. This study was planned to evaluate and compared the protective effects of these gaseous autacoids on ethanol, indomethacin and stress-induced gastric ulcer models.

**Methods:** The gastroprotective effects of three different autacoid precursors, L-arginine (100 mg/kg, i.p.) for NO, NaHS (5 mg/kg, i.g) for H<sub>2</sub>S, CORM-2 (Carbonmonoxide releasing molecule-2=tricarbonyldichlororuthenium (II) dimer) (5 mg/kg, i.g) for CO were examined on three different gastric ulcer models (ethanol 1ml 96% i.g.), indomethacin (40 mg/kg i.g.) and stress (cold+immobility). The results were evaluated by measuring ulcer index, gastric mucus secretion, free and total acidity, the levels of MDA, GSH, non-protein sulfhydryl groups (NP-SH), TNF alpha, PGE<sub>2</sub>, COX-1, COX-2.

**Results:** It was found that CORM-2 and NaHS showed gastroprotective activity against ethanol-induced ulcers. The significant induction of mucus secretion and reduction of MDA, TNF- $\alpha$  levels were observed in the ethanol group by CORM-2 and NaHS. The inhibition of total acidity and TNF- $\alpha$  levels was determined in the stress group by L-arginine. Although significant and increased levels of mucus were noticed by indomethacin, increases of acidity stimulated significantly gastric ulcers. None of these agents had gastroprotective activity against indomethacin-induced ulcers.

**Conclusions:** It seems that CO and H<sub>2</sub>S might have gastroprotective effects against ethanol induced ulcers and NO against stress-induced ulcers.

This study may contribute to the development of new antiulcer agents and the possible mechanisms underlied in these activities



## İÇİNDEKİLER

Özet.....	iii
SUMMARY.....	v
ŞEKİL DİZİNİ.....	ix
1.GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	5
2.1.Mide Anatomisi.....	5
2.2 Mide Fizyolojisi .....	6
2.3. ÜLSER ÇEŞİTLERİ .....	8
2.4 ÜLSERİN PATOGENEZİ VE ETYOLOJİSİ.....	10
2.5. DENEYSEL ÜLSER MODELLERİ .....	12
2.5.1. NSAİİ'lar ile Oluşturulan Ülser Modeli.....	12
2.5.2. Kimyasal Maddelerle Oluşturulan Ülser Modeli .....	13
2.5.3. Alkol ile Oluşturulan Ülser Modeli.....	13
2.5.4. Stres Kaynaklı Ülser Modeli .....	13
2.6 GASTROPROTEKTİF ETKİNLİĞİ ÖLÇÜLECEK GAZ OTAKOİDLER.....	14
2.6.2 NO	14
2.6.3 H <sub>2</sub> S	14
2.6.4 CO	15
3- GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	17
3.1 Çalışılan Deney Hayvanları .....	17
3.2 Kullanılan Aletler .....	17
3.3 Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Hazırlanışları .....	18
3.4 Yöntem .....	19
3.4.1 Sıçanlarda İndometasinle Gastrik Ülser Oluşturulması .....	19

3.4.2 İndometasin İle Oluşturulan Gastrik Ülser Üzerinde CORM-2, L-Arginin ve NaHS in Etkisinin İncelenmesi .....	19
3.4.3 Etanol İle Oluşturulan Gastrik Ülser Üzerinde CORM-2, L-Arginin ve NaHS in Etkisinin İncelenmesi .....	20
3.4.4 Sıçanlarda Stres (Soğuk+İmmobilizasyon) ile Gastrik Ülser Oluşturulması... ..	20
3.4.5 Stres (Soğuk+İmmobilizasyon) İle Oluşturulan Gastrik Ülser Üzerinde CORM-2, L-Arginin ve NaHS in Etkisinin İncelenmesi .....	21
3.4.6 İstatiksel Analiz Yöntemi .....	26
4- BULGULAR .....	27
5- TARTIşMA .....	35
6.SONUÇ ve ÖNERİLER .....	44
7.KAYNAKLAR.....	46
Özgeçmiş .....	56



## TABLO ve ŞEKİL DİZİNİ

Tablo 1. Deney Grupları, kullanılan ilaçlar ve ajanlar.....	25
Şekil 1. Gastrointestinal mukozal savunma mekanizmasında nitrik oksitin (NO) faydalı etkileri.....	3
Şekil 4.1. Ülser indeksi bulguları grafiği.....	27
Şekil 4.2. Mukus Bulguları grafiği.....	28
Şekil 4.3. Total asidite Bulguları Grafiği .....	28
Şekil 4.4. Serbest asidite Bulguları Grafiği .....	29
Şekil 4.5. TNF-alfa Bulguları Grafiği.....	30
Şekil 4.6. PGE2 Bulguları Grafiği.....	30
Şekil 4.7. MDA Bulguları Grafiği.....	31
Şekil 4.8. GSH Bulguları Grafiği.....	32
Şekil 4.9. COX-1 Bulguları Grafiği.....	32
Şekil 4.10. COX-2 Buguları Grafiği.....	33
Şekil 4.11. NP-SH Bulguları Grafiği.....	33
Şekil 4.12. H2S Bulguları Grafiği.....	34
Şekil 4.13. Nitrit Bulguları Grafiği.....	34

## SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>Kısaltma</b>	<b>Açıklama</b>
NO	Nitrik oksit
CO	Karbon Monoksit
H <sub>2</sub> S	Hidrojen Sülfür
CORM-2	Carbon Monoksit Releasing Molecule-2
NSAİİ	Non-Steroidal Antiinflamatuvar İlaçlar
PGE <sub>2</sub>	Prostaglandin E2
MDA	Malondialdehit
GSH	Glutasyon
TNF- $\alpha$	Tümör Nekrozis Faktör-alfa
COX-1	Siklooksijenaz-1
COX-2	Siklooksijenaz-2
N	Çalışmada kullanılan hayvan sayısı
HO	Hemoksijenaz
HO-1	Hemoksijenaz-1
HO-2	Hemoksijenaz-2
HO-3	Hemoksijenaz-3
AA	Araşidonik asit
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Bikarbonat iyonu
NaCl	Sodyum Klorür
HCl	Hidroklorik Asit
GIS	Gastrointestinal Sistem
GÖR	Gastroözefageal Reflü

IL-1 $\beta$	İnterlökin-1 Beta
cagA	Sitotoksin-ilişkili gen-A
AA	Araşidonik asit
ET-1	Endotelin-1
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
CGRP	Kalsitonin geni ile ilişkili peptid
CBS	Sistatyon Beta Sentaz
CSE	Sistatyon Gama Liyaz
ATP	Adenozin Trifosfat
KATP	ATP bağımlı potasyum kanalları
4HTB	4-Hidroksitiyobenzamid
sGS	Solubl (Çözünebilir) Guanilat Siklaz
MgCl <sub>2</sub>	Magnezyum Klorür
EDTA	Etilen Diamin Tetraasetik asit
VCl <sub>3</sub>	Vanadium triklorür

# 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Mide mukozası, dışarıdan alınan gıda ürünlerine sürekli olarak maruz kalmaktadır. Fizyolojik homeostazisin sürdürülmesi insan vücuduna hayati önem taşıyan besinlerle sağlanmaktadır. Ne yazık ki, bu besinsel ürünlerin ve oral yoldan verilen ilaçların birçoğu, mide mukoza bütünlüğünü etkileyebilir. Etanol, nikotin ve özellikle de nonsteroidal anti-inflamatuvar ilaçların (NSAİİ) (örneğin aspirin) yutulması, akut mukozal hasarın ve mide ülserlerinin gelişmesinde başlıca nedensel faktörler olarak kabul edilmektedir (Chávez-Pina, Tapia-Alvarez & Navarrete, 2010).

Peptik ülser; midedeki koruyucu faktörlerin kaybı ve asit salgısıyla mide-duodenum mukozasındaki lezyonlardır. Peptik ülser çoğunlukla duodenum ve midede oluşmaktadır. Genel olarak peptik ülser hastalığının nüfusun yaklaşık %5-10'u ve insidansın yılda %0,1-0,3 olduğu tahmin edilmektedir (Lanas-Gimeno, & Lanas, 2017). *Helicobacter pylori* infeksiyonu, stres ve PG sentezini bloke eden ilaçların kullanılması ülser oluşumuna neden olan en sık üç etkidir (Spechler, 2003).

Ülser oluşumunun en önemli nedeni midedeki asit salgısının artarak koruyucu faktörlerin azalmasıdır. Mide ülserinde koruyucu faktörlerin azalması, duodenal ülserde ise agresif faktörlerin çoğalması daha önemlidir. *Helicobacter pylori* ve NSAİİ koruyucu mekanizmaların bozulmasına yol açarak ülser neden olurlar. Genellikle asit salgısını artırmadıkları öne sürülmektedir. (Kılıçarslan, Kalyon & Yenice, 2011)

Mide, stresin etkilediği en önemli organdır ve çeşitli biyolojik ve psikososyal etmenlerin ülser oluşumunu arttırabileceği düşünülmektedir (Lau, Yuen, Chu, Poon & Li, 1992). Stres ülserleri midenin üst kısımlarında görülürken, peptik ülserler ise mide alt kısmı ve duodeneumda görülürler. (Gottlieb, Menashe & Cruz, 1986). Yapılan çalışmalarda oluşan fizyolojik stresin mide kan akımını azalttığı gözlenmiştir (Marrone & Silen, 1984). Kan akımının azalması ile ülserin şiddetinde artma olduğu gözlenmiştir (Brooks, 1985).

Gastrointestinal sistemdeki ülser yaraları; indometasin, diklofenak gibi NSAİİ, etanol, hidroklorik asid (HCl) gibi kimyasallara maruziyet sonucunda ve stres, safra asitleri ya da egzersiz, açlık ve immobilizasyon gibi faktörlerin etkisiyle oluşur (Szabo, 1991; Al-Moutairy & Tariq, 1996).

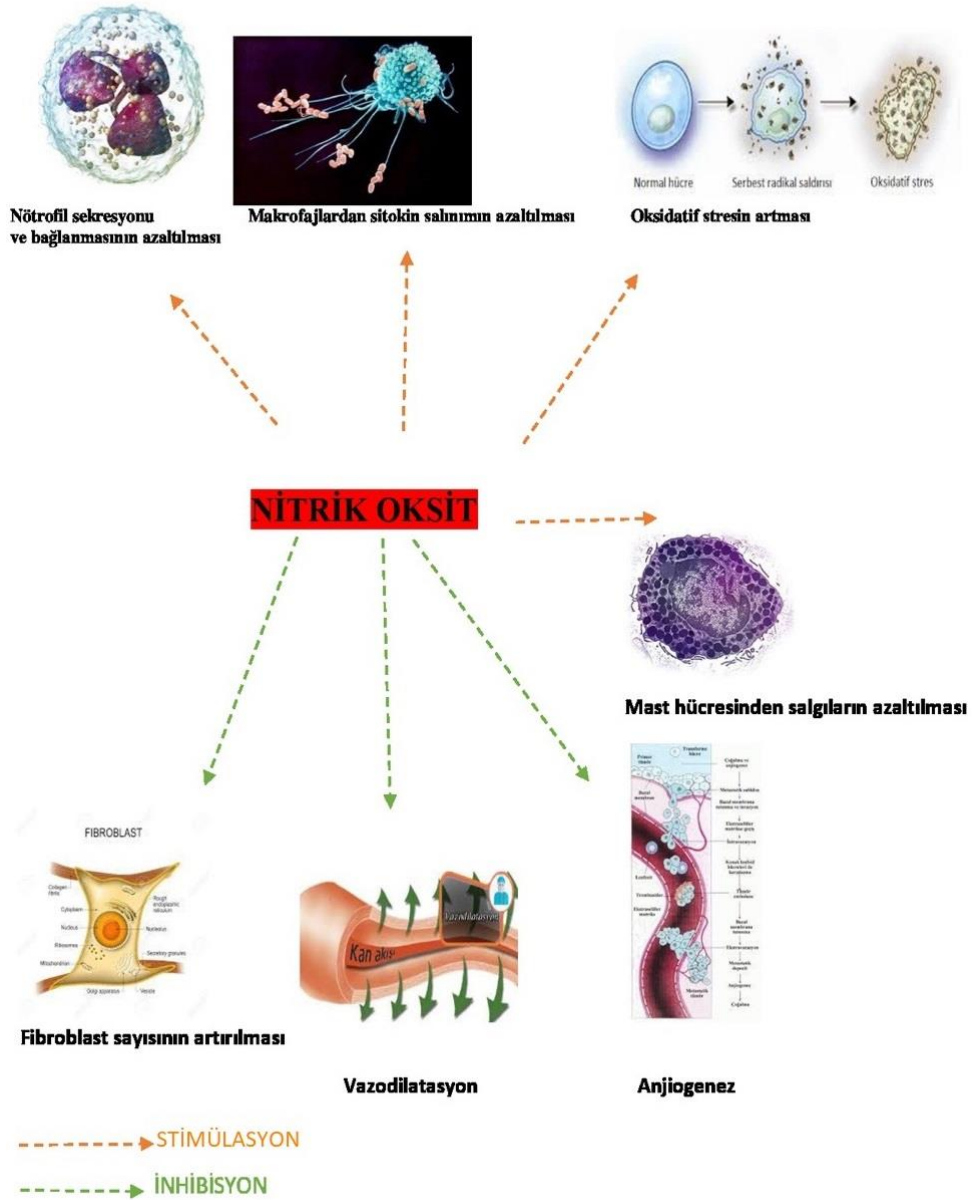
Sıçanlarda soğuk ve immobilizasyon stresi, mide mukozasında ülserasyonlara neden olmaktadır. Bu ülseratif lezyonların oluşmasına gastrik asit sekresyonundaki artış, gastrik mukozal prostaglandin sentezinin inhibe edilmesi, mide mukozasının kan akımının azalması ve mide koruyucu tabakanın bozulması gibi pek çok etkenin sebep olduğu bildirilmektedir (Aase, Roland, Liavåg & Dahl, 1985).

Gastrik ülser etyolojisinde, serbest radikallerin etkilerinin varlığını destekleyen pek çok çalışma vardır. Stresle indüklenen gastrik ülser modelinde bu serbest radikallerin arttığı ve antioksidanların azaldığı görülmüştür. (Alarcón de la Lastra, Barranco, Motilva & Herrerías, 1999). Ülser patofizyolojisi tam açıklanamamıştır, ancak ara sıra çeşitli hipotezler öne sürülmektedir. Motilitenin artması, ileri derecede vagal aktivite (Garrick, Buack & Bass, 1986), mast hücre degranülasyonu, mide mukozasının kan akımının ve prostaglandin düzeylerinin azalmasının stres ülserinin meydana gelmesinde rol aldıkları bildirilmektedir (Aase, Roland, Liavåg & Dahl, 1985).

Son zamanlarda bazı gaz otakoidlerin fizyolojik ve farmakolojik etkileri üzerinde durulmaktadır. NO, H<sub>2</sub>S ve CO gibi organizmada da üretilen gaz otakoidlerin eksikliği veya fazlalığının bazı patolojik olaylara yol açabildiği ve bunların üretiminin düzenlenmesiyle yeni bazı tedavi ufuklarının açılacağı tahmin edilmektedir (Kayaalp, 2012). NO ve H<sub>2</sub>S'in özellikle gastrointestinal sistemde iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu özelliklerinin olduğu gösterilmiştir (Mard vd., 2012, Magierowski, Magierowska, Kwiecien & Brzozowski, 2015). Ayrıca dışarıdan verilen CO veya endojen olarak hemoksijenaz-1 (HO-1) aktivitesinin artırılmasının da özellikle etanol ve nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlarla oluşan gastrik hasarlara karşı koruyucu etki gösterdiği ortaya koyulmuştur (Magierowski vd., 2015; Uc, Zhu, Wagner & Buettner, 2012).

Gaz otakoidlerden olan NO'nin (Şekil 1), mide-barsak bütünlüğün korunması da dahil olmak üzere pek çok görevinin olduğu bilinmektedir (Nomenoğlu, Yılmaz & Demirel, 2017).

### Nitrik oksitin mide mukozasındaki en önemli yararlı etkileri



Şekil 1. Gastrointestinal mukozal savunma mekanizmasında nitrik oksitin (NO) yararlı etkileri (Magierowski vd., 2015).

CO-saliverici olarak adlandırılan yeni keşfedilen moleküller (CORM'ler), gaz olarak CO açığa çıkartabilir. Çeşitli biyolojik sistemlerde ve deney koşullarında CO'in fizyolojik rolünü değerlendirmek için farmakolojik ajan olarak kullanılabilir. Bu moleküllerin strese, NSAİİ'lara karşı ve nekrotik gastrik hasara karşı koruyuculuğu gösterilmiştir (Katarzyna, Anna, Zielinska-Blizniewska & Ireneusz, 2018).

H<sub>2</sub>S, yeni keşfedilen ve endojen olarak sentezlenen gaz transmittedir. Son zamanlarda H<sub>2</sub>S'in rolünün anlaşılması için çalışmalar yapılmıştır. H<sub>2</sub>S, gastrik mukozal kan akışını ve vasküler endotele lökosit bağlanmasını düzenler (Chávez-Pina vd., 2010).

Bu çalışmada son zamanlarda gaz mediyatör olarak sıkça üzerinde durulan NO, CO ve H<sub>2</sub>S in stres, etanol ve indometasin ile oluşturulan üç değişik deneysel ülser modeli üzerindeki olası koruyucu etkileri ve bunların mekanizmalarının aydınlatılması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Mide Anatomisi

Mide, karın boşluğunun sol tarafındaki diyaframın hemen altında yer alan yuvarlak, içi boş bir organdır. Özofagus ve ileum arasında bulunur. Mide, vücudun ana gıda depolama yeridir. Midenin depolama kapasitesi olmasaydı, her gün birkaç kez yemek yerine sürekli yemek zorunda kalırdık. Mide ayrıca, yiyeceğimizi sindirmeye ve sterilize etmeye yardımcı olan bir asit, mukus ve sindirim enzimi karışımı salgılar (Soybel, 2005).

#### Makroskopik anatomi

Mide, şekil ve fonksiyona bağlı olarak dört bölgeye ayrılabilir:

- 1) Yemek borusu, mideye “kardiya” adı verilen küçük bir bölgede bağlanır. Kardiya, midenin daha geniş bölgelerine açılan tüp benzeri bir bölgedir. Kardiyanın içinde mide içinde yiyecek ve asidi tutmak için büzüşen kas dokusu bandı olan alt özofagus sfinkteri bulunur.
- 2) Kardiyanın altındaki “Corpus” midenin merkezi ve en büyük bölümüdür.
- 3) En üstte olan fundus olarak bilinen kubbe şeklinde bir bölgedir.
- 4) Midenin alt kısmında pilor olarak bilinen huni şeklindeki bir bölgedir. Pilor mideyi duodenuma bağlar ve pilor sfinkterini içerir. Pilorik sfinkter, kısmen sindirilmiş yiyeceklerin (kimus olarak da bilinir) mideden duodenum içine akışını kontrol eder (Siobhan, 2014).

#### Mikroskopik anatomi

Midenin yapısının mikroskopik analizi, birkaç farklı doku katmanından oluştuğunu ortaya çıkarır: mukoza, submukoza, muskularis ve serosa katmanları (O'Connor & O'Moráin, 2014).

Midenin en içteki tabakası mukoza olarak bilinir ve mukoza zarından yapılıdır. Mide mukozası, birçok ekzokrin hücreli basit kolumnar epitel dokusu içerir. Gastrik çukurlar adı verilen küçük gözenekler, sindirim enzimlerini ve



hidroklorik asidi midenin lümenine veya içi boş bölgesine salgılayan birçok ekzokrin hücre içerir. Midede bulunan mukoza hücreleri ve mide çukurları, mideyi kendi sindirim salgılarından korumak için mukus salgırlarlar. Mide mukozası, gastrik çukurların derinliği nedeniyle, gastrointestinal sistemin diğer organlarının mukozasından çok daha kalındır (O'Connor & O'Moráin, 2014).

Mukoza altında, muskularis mukoza olarak bilinen ince bir düz kas tabakası bulunur. Muskularis mukoza tabakası, mukozanın kıvrımlar oluşturmasına ve midenin içeriği ile temasını arttırmaya izin verir. Mukozayı mide submukoz tabakası çevrelemektedir. Submukoza, çeşitli bağ dokularından, kan damarlarından ve sinirlerden oluşur. Bağ dokular mukoza dokusunu destekler ve muskularis tabakasına bağlar (Eswaran & Roy, 2005).

Midenin kaslı tabakası, submukozayı çevreler ve mide hacminin en büyük kısmını oluşturur. Bu kas tabaka, 3 farklı yöne akan lifleri ile düzenlenmiş 3 kat düz kas dokusundan oluşur. Bu düz kas tabakaları midenin besini sindirim sistemi boyunca karıştırmayı ve ilerletmesini sağlar (Arıncı, 2006).

Musküler katmanı çevreleyen midenin en dış katmanı, basit skuamöz epitel dokusu ve areolar bağ dokusundan oluşan ince bir seröz zar olan serozadır. Seroza, pürüzsüz, kaygan bir yüzeye sahiptir ve seröz sıvı olarak bilinen ince, sulu bir salgı salgırlar. Seroza'nın pürüzsüz, ıslak yüzeyi mide, yiyeceklerle genişledikçe ve yiyecekleri karıştırmak ve itmek için hareket ettikçe sürtünmeye karşı korumaya yardımcı olur (Mertz & Walsh, 1991).

## **2.2. Mide Fizyolojisi**

### **Depolama**

Midenin büyüklüğü ortalama olarak bir öğün boyunca rahatça 1-2 litre yiyecek ve sıvı içerebilir. Büyük bir öğün veya aşırı yeme ile maksimum kapasitesine gerildiğinde, mide 3-4 litreye kadar alabilir. Midenin azami boyutuna erişilmesi sindirimi zorlaştırır, çünkü mide yiyecekleri uygun

şekilde karıştırmak için kolayca büzüşemez ve rahatsızlık hissine yol açabilir (Peek & Blasser, 1997).

Mide yiyeceklerle doldurulduktan sonra, yiyecekleri yaklaşık 1-2 saat boyunca depolar. Midenin alt ucunda bulunan pilorik sfinkter, yiyeceğin bağırsaklara hareketini kontrol eder. Pilorik sfinkter, mide içinde yiyecek ve mide salgılarını tutmak için normalde kapalıdır. İçerik mideden ayrılmaya hazır olduğunda, pilorik sfinkter az miktarda içeriğin duodenumdan geçmesine izin vermek için açılır. Gastrik boşalma olarak bilinen bu işlem, yiyeceklerin midede depolandığı 1-2 saat içinde yavaş yavaş tekrar eder. (Eswaran & Roy, 2005).

### **Salgı**

Mide, yiyeceklerin sindirimini kontrol altına almak için birkaç önemli madde üretir ve salgılar. Bu maddelerin her biri, mukozada bulunan ekzokrin veya endokrin hücreler tarafından üretilir. Midenin ana ekzokrin ürünü mide suyu - mukus, hidroklorik asit ve sindirim enzimlerinin karışımıdır (Brooks, 1985).

Mukoza hücreleri olarak bilinen mukozanın uzmanlaşmış ekzokrin hücreleri, midenin lümenine ve mide çukurlarına mukus salgılar. Bu mukus mide zarını kalın, aside ve enzime dayanıklı bir bariyerle kaplamak için mukoza yüzeyine yayılır. Mukus, mide asidinin pH'sını nötralize eden bikarbonat iyonları bakımından da zengindir (Højgaard, Nielsen & Rune, 1996).

Midenin gastrik çukurlarında bulunan parietal hücreler 2 önemli salgı üretir: içsel (intrinsik) faktör ve hidroklorik asit. İçsel faktör, midede B12 vitaminine bağlanan ve vitaminin ince bağırsakta emilmesine izin veren bir glikoproteindir. Hidroklorik asit, gıdada doğal olarak bulunan patojenik bakterileri öldürerek vücudu korur. Hidroklorik asit ayrıca proteinleri, enzimlerin sindirimi kolay olan katlanmış bir şekle denatüre ederek sindirmeye yardımcı olur. Protein sindirici enzim pepsin, mide içindeki hidroklorik aside maruz kalarak aktive olur (Dixon, 1994).

Midenin gastrik çukurlarında da bulunan baş hücreler iki sindirim enzimi üretir: pepsinojen ve gastrik lipaz. Pepsinojen, çok güçlü protein sindirici enzim pepsinin öncü molekülüdür. Pepsin onu üreten baş hücreleri yok edeceğinden, aktif olmayan pepsinojen formunda salgılanır. Pepsinojen, hidroklorik asit sayesinde midede bulunan asidik pH'a ulaştığında, şekil değiştirir ve aktif enzim pepsin olur. Pepsin daha sonra diyet proteinlerini amino asit yapı taşlarına böler. Gastrik lipaz, bir yağ asidini bir trigliserit molekülünden kopararak yağları sindiren bir enzimdir (Lüdtke vd., 1991).

G hücreleri, mide çukurlarının dibinde bulunan endokrin hücrelerdir. G hücreleri, vagus siniri sinyalleri gibi birçok uyarana yanıt olarak gastrin hormonunu kan dolaşımına salgılar. Gastrin, kan yoluyla midenin bezlerini ve kaslarını uyarması için midedeki çeşitli reseptör hücrelerine geçer. Gastrin tarafından glandüler stimülasyon sonucu sindirimi artırmak için mide suyunun sekresyonu arttırılır. Düz kasların gastrin ile uyarılması, midenin daha güçlü kasılmasına ve yiyeceği duodenuma taşımak için pilorik sfinkterin açılmasına yol açar. Gastrin ayrıca pankreas ve safra kesesindeki reseptörlere bağlanır ve burada pankreas suyu ve safranin salgılanmasını arttırır (Wolfe & Soll, 1988).

## **Sindirim**

Sindirimin midede gerçekleşen kısmı 2'ye ayrılır: mekanik ve kimyasal. Mekanik sindirim, bir yiyecek kütesinin daha küçük kütelere fiziksel olarak bölünmesi, kimyasal sindirim ise büyük moleküllerin küçük parçalara dönüşümüdür. Mide duvarlarının karıştırma etkisi, midede mekanik sindirimin oluşmasını sağlar. Midenin düz kasları, karışım dalgaları olarak bilinen kasılmalara neden olur (Lüdtke & Nustede, 1996).

## **2.3. Ülser Çeşitleri**

Ülserler, gastrointestinal sistem (GİS) mukozasının ve bunun yanında kas tabakasına kadar nüfuz eden derin lezyonlarıdır. Peptik ülser şüphesiz yirminci yüzyılın bir hastalığı olmuştur. Bu hastalığın epidemiyolojik verileri ve komplikasyonları insidans ve prevalansta çarpıcı coğrafi değişiklikler

olduğunu göstermiştir. En sık rastlanan farklı ülser tipleri peptik ülserlerdir: midenin kaplamasına zarar vermiş gibi görünen mide ülseri ve mide tarafından aşırı asit salgılanmasıyla ilişkili duodenal ülser. Peptik ülserlerin agresif faktörler (*Helicobacter pylori*, NSAİİ'lar, mide asidi) ve koruyucu faktörler (mukus, bikarbonat, prostaglandinler) arasındaki dengesizlik nedeniyle geliştiğine ve mukozal bütünlüğün kesintiye uğradığına inanılmaktadır. Sederter yaşam tarzı, alkol alımı, baharatlı yiyecekler, ilaçlar ve çeşitli bakteriyel infeksiyonlar gibi faktörlerin ülser oluşumuna yol açtığı ortaya konmuştur. Ayrıca, bazı endojen maddeler tanımlanmış ve hayvanlarda gastrointestinal lezyonların üretiminde rol aldığı bildirilmiştir. En önemlilerinden bazıları bakteriyel infeksiyon, çeşitli ilaçlar ve kimyasallar, mide salgısı, lipid metabolitleri, nöropeptitler, inflamatuvar mediatörler ve reaktif serbest radikaller olarak bilinir. Oksidatif stres, ülserin ilerlemesinde, hücresel fonksiyonları doğrudan bozan ve mitokondri, lizozomlar gibi hücrelerde hücresel organel hasarı teşvik eden ülser ilerlemesinde ana patojenik faktörlerden biri olarak ortaya çıkmıştır. Ayrıca NO, GİS mukozal savunmasının hayati aracısı olarak kabul edilir, çünkü NO oluşumu ya da sentezi ülserasyonun patogenezeine katkıda bulunur (Brooks, 1985).

**Peptik Ülser:** Peptik ülser, *H. pylori* adlı bakterinin neden olduğu infeksiyon sonucu veya steroid yapıda olmayan antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ'lar) gibi bazı ilaçlara karşı gelişir. Peptik ülserlerin semptomları karın rahatsızlığı, ağrı, iştahsızlık, şişkinlik, bulantı ve kusma olarak sayılabilir (Yuan, Padol & Hunt, 2006).

**Aftöz Ülserler:** Ağız iç tabakasında gelişen yaralara ağız ülseri denir. Ağız ülserleri yaygındır ve genellikle uygun olmayan protezler, kırık dişler veya dolgu gibi travmatik etkenler nedeniyle oluşur. Anemi, kızamık, viral infeksiyon, oral kandidiyazis, kronik infeksiyonlar, boğaz kanseri, ağız kanseri ve B vitamini eksikliği ağızda ülser veya yaraların sık görülen nedenlerinden bazılarıdır. Aftöz stomatit, ağızdaki ülseratif hastalıkların en sık görülen formları arasındadır. Dünyadaki nüfusun yaklaşık %15-20'sini etkiler. Bazı

popülasyonlarda, prevalansın %50-66 kadar yüksek olduğu belgelenmiştir ve özellikle Kuzey Amerika'da yaygındır (Talley & Phillips, 1988).

**Özofagus Ülserleri:** Özofagus ülserleri, özofagusta (yemek borusu) ortaya çıkan lezyonlardır. Bunlar en yaygın şekilde yemek borusunun sonunda oluşur ve mide ekşimesi semptomlarının hissedildiği aynı bölgede göğüs kemiğinin hemen altında bir ağrı olarak hissedilebilir. Özofagus ülserleri asit reflü veya Gastro-özofageal reflü (GÖR), NSAİİ'lar gibi ilaçların kullanımı ve sigara içme ile ilişkilidir. Gastritte TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  seviyelerinin çok fazla arttığı görülür (Yuan vd., 2006).

## **2.4. Ülserin Patogenezi ve Etyolojisi**

### **2.4.1. H.pylori**

*H. pylori*, mide ülserlerinin ana nedenidir ve ilk olarak 1982'de iki Avustralyalı bilim insanı tarafından tanımlanmıştır. Efektör protein sitotoksin ile ilişkili gen A'yı (cagA) kodlayan patojenik bir aktivite sonucu konakçı hücreye translokasyondan sonra, cagA hücre şeklini etkiler, hücre hareketliliğini artırır, hücre birleşme aktivitesini bozar ve böylece mide kanserleri ve mide ülserlerinden sorumludur (Dixon, 1994).

*H. pylori*'nin neden olduğu gastrit; *H. pylori* tarafından infekte edilen mide mukozasında lamina propria polimorfonükleer lökositler, lenfositler, monositler ve plazma hücrelerinin infiltrasyonuna ve intraepitelyal ağır nötrofil infiltrasyonuna yol açar. Proton pompa inhibitörü ikili antibiyotik ve bizmut karışımı ülser tedavisindeki altın standart tedavi rejimidir (Chan & Leung, 2002).

### **2.4.2. NSAİİ'lar (Steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar)**

NSAİİ'lar, sadece antiinflamatuvar olarak değil aynı zamanda analjezik ve antipiretik etki gösteren değerli terapötiklerdir. Bu ilaçlar çoğunlukla kas-eklem-kemik hastalıklarında ağrıyı kesmek için kullanılırlar. Ne yazık ki, mide ülseri indükleyici etkileri kullanımlarını sınırlamaktadır. Bu ilaçların kronik kullananların yaklaşık %25'inde mide ülseri gelişmektedir. Çeşitli araştırmalar, NSAİİ'ların, siklo-oksijenaz-1'i (COX-1) inhibe edip arasıdonik

asit'in (AA) prostaglandinlere (PG) dönüşümünü engelleyerek, mukozal bariyeri bozarak ve pepsin ile korozif etki oluşturarak ülserleşmenin ilerlemesine neden olduğunu göstermektedir. Ayrıca, NSAİİ'lar tarafından COX-1 inhibisyonu, mukozal hasara neden olduğu gösterilen güçlü bir vazokonstriktör olan endotelin-1'in (ET-1) belirgin bir şekilde salıverilmesine yol açar. Prostaglandin sentezini inhibe eden NSAİİ'lar; nötrofillerin aktivasyonuna ve lokal olarak reaktif oksijen türlerinin (ROS) salıverilmesine neden olur ve böylece gastrik hasarı başlatır ( Silverstein vd., 2000).

Ayrıca NSAİİ'lar, mukozal kan akışında, mukus bikarbonat salgılarında, bozulmuş trombosit agregasyonunda, azalmış epitel hücre yenilenmesinde ve ülserasyon patogeneğinde sorumlu olan lökosit yapışmasında belirgin bir azalmaya neden olur (Thun, Henley & Patrono, 2002). Gastrik asit, yüzeyel lezyonları derinleştirerek, trombosit agregasyonuna müdahale ederek ve ülser iyileşme sürecini zayıflatarak NSAİİ'ların olumsuz etkilerini daha da arttırmıştır (Schoen & Vender, 1989).

#### **2.4.3. Etanol**

Etanolün yol açtığı gastrik lezyonların mekanizmaları, gastrik mukus içeriğinin azalması, mukozal kan akımının bozulması ve mukozal hücre zedelenmesi de dahil olmak üzere çok çeşitlidir. Etanolün, gastrointestinal mukozada ciddi hasara yol açtığı, vasküler geçirgenliği ve ödem oluşumunu artıran mikrovasküler hasara yol açtığı belgelenmiştir. Szabo, etanolün intragastrik olarak uygulanmasından sonra, endotelin-1'in sistemik dolaşım içine hızlı salıverilmesinin, hemorajik mukozal erozyonların gelişmesinden önce gerçekleştiğini öne sürmüştür (Szabo, 1991). Ayrıca etanol, bikarbonat ( $\text{HCO}_3^-$ ) salıverilmesini ve mukus üretimini azaltarak mide mukozasında nekrotik lezyonlar üretir. Böylece hücre ölümüne yol açan apoptoz başlamış olur. Ayrıca, etanolün metabolize olduktan sonra süperoksit anyonu ve hidroperoksit serbest radikalleri salverdiği bildirilmiştir (Utkan vd., 1994).

## 2.5. Deneysel Ülser Modelleri

Ülser sık rastlanan bir hastalıktır ve bu sebeple klinikte kullanımları için yeni ilaçların geliştirilmesi gerekmektedir. Bu nedenle, farklı yöntemlerle ülser modelleri oluşturulmuştur.

### 2.5.1. NSAİİ'lar ile oluşturulan ülser modeli

Analjezik, antipiretik ve antiinflamatuvar özellikleri için kullanılan NSAİİ'ların mide mukozasına zararlı etkileri vardır. NSAİİ ile yapılan tedavinin bir sonucu olarak oluşan mide mukozası hasarı, bu sınıftaki bileşiklerin en ciddi istenmeyen etkileri olarak kabul edilmektedir ve son on yılda yapılan araştırmaların çoğunun arkasındaki uyaran olmuştur (Schoen & Vender, 1989).

İndometasin ve asetilsalisilik asit dahil olmak üzere çeşitli NSAİİ'ların parenteral uygulaması, NSAİİ ile indüklenen gastropatinin altında yatan mekanizmaları incelemek için güçlü bir hayvan modeli olmaktadır (Langman vd., 1994).

Çalışmalar, NSAİİ'ların en az iki ayrı mekanizma tarafından gastrik hasara neden olduğunu göstermektedir. Bunlardan biri, NSAİİ'ların siklooksijenazı bloke etmesi ve böylece endojen prostaglandin üretimini inhibe etmesidir. PGE<sub>2</sub> sentezini azaltarak mide mukozasındaki koruyucu etkiyi ortadan kaldırırlar (Armstrong & Blower, 1987).

İkinci mekanizma iyon hapsi olarak adlandırılır ve mukoza hücrelerinin nispeten nötr (pH = 7.0) hücre içi ortamında NSAİİ'ların (pKa = 3.5-4.0) asit ayrışmasından kaynaklanır. İçinde iyonlaştırılmış halde bulunan NSAİİ zayıf organik asit iyonlarının gastrik mukozaya hareketini destekleyen bir konsantrasyon gradyenti yaratarak hücre içinde sıkışıp kalmaktadır. Hücre geçirgenliği değişiklikleri ve hasarı ile birlikte sodyum ve potasyum iyonları gastrik lümen girerken hidrojen iyonlarının akmasıyla sonuçlanır. İntralüminal pH'ı 6.0-7.0'a tamponlamak, NSAİİ'ların neden olduğu mide hasarını azaltır ve bu özellik, çeşitli tamponlanmış NSAİİ'ların üretiminde kullanılır (Kayaalp, 2012).

NSAİİ'lerden olan diklofenak (0,24 mmol/kg), ibuprofen (1,60 mmol/kg) ve indometasin (0,08 mmol/kg) deney hayvanlarına subkutan olarak uygulandığında gastrik mukozada hasar meydana getirilmiştir (Kourounakis, Tsiakitzi, Kourounakis & Galanakis, 2000). 200 mg/kg asetil salisilik asit oral olarak albino sıçanlara uygulandığında gastrik mukozada hasar oluşturulmuştur (Sener-Muratoglu, Paskaloglu, Arbak, Hurdag & Ayanoglu-Dulger, 2001).

### **2.5.2. Kimyasal maddelerle oluşturulan ülser modeli**

Birçok faktör gibi bazı kimyasal maddeler de mide mukozasına zarar vermektedir. Bazı çalışmalarda ülser modeli oluşturmak amacıyla sıçanlara gavaj yoluyla hidroklorik asit (HCl), etanol, sodyum klorür (NaCl) verilerek mide mukozasında ülser oluşturulmuştur (Al-Moutairy & Tariq, 1996).

### **2.5.3. Alkol ile oluşturulan ülser modeli**

Etanolün neden olduğu gastrik mukozal lezyonlar, değişen miktarlarda (0.5-2.0 ml) konsantre (% 50-100) etanol intragastrik olarak verildiğinde güvenilir ve basitçe oluşturulmaktadır. Verilen etanol miktarına bağlı olarak, sıçanların ve farelerin midelerinin glandüler kısmı %10 ila 40'ı, etanol uygulamasından 1-2 saat sonra incelendiğinde hemorajik erozyonlarla ve ülserlerle kaplanmaktadır. (Sibilia vd., 2003; Coşkun vd., 2004; La Casa Villegas, De La Lastra, Motilva, & Calero, 2000).

### **2.5.4. Stres kaynaklı ülser modeli**

Bu ülser çeşitinin meydana gelmesinde fiziki etkenlerin rolü daha açık olmakla birlikte psişik etkenlerin rolü konusunda farklı görüşler vardır. Gastrointestinal kanama ve yanıklar, kafa içi yaralanmaları ve septik şok dahil travma sonucu bu tür lezyonları oluşmaktadır (Das & Banerjee, 1993).

Stres kaynaklı mide lezyonlarının birçok hayvan modeli bulunur, ancak en önemli modeller, hareketsizleştirme veya kısıtlamadır (Djahanguiri, Hemmati, Sadeghi & Firouzabadi, 1967; Yoshikawa vd., 1990, Guidobono vd., 1991).



## 2.6. Gaz Otakoidler

### 2.6.1. NO

NO, gaz otakoidler grubunda olup serbest radikal özelliği gösterir. NO'in birçok canlı türünde önemli görevler üstlenen bir aracı madde olduğu bilinmektedir. İlk olarak endotel kaynaklı olduğu gösterilmiştir. Vazodilatör, kalpte (+) veya (-) inotrop, antiagregan, hücre koruyucu, nörotransmitter etkileri, şimdilik iyi bilinen etkileridir. L-arginin, L-sitrüline dönüşürken ortaya çıkar. Bu reaksiyonun enzimi nitrik oksit sentaz (NOS) dır (Kayaalp, 2012; Zadori vd., 2014).

NO, organizmadaki rolünü solübl guanilat siklaz (sGS)'ı aktive etmek suretiyle meydana getirir. Etkilerini başlıca 3 mekanizma ile gerçekleştirir:

1. Metal çekirdeklere bağlanma
2. Nitrolizasyon
3. Nitrasyon ve oksidasyon

NO'in yetersizliğinin veya fazlalığının rol oynadığı pek çok patolojik olay mevcuttur. NO eksikliğinin olduğu düşünülen patolojilerde, NO'in yerine konması bir tedavi yaklaşımı olarak akılcı görünmektedir. Ancak yarılanma ömrü çok kısa olan bu gaz molekülünü organizmaya vermek zordur. Bu noktada NO'in gaz olarak solutulması, NO'in öncülü L-arginin ya da NO donörlerinin kullanımı düşünülmüştür. Birçok nöropeptid santral uygulamayı takiben vagal efferentlerin aktivasyonu ve prostaglandinler, nitrik oksit (NO) ve CGRP nin saliverilmesi olarak adlandırılan temel periferal efektör yolak tarafından düzenlenen gastrik hasara karşı korumayı sağlamaktadır (Kayaalp, 2012; Zadori vd., 2014).

### 2.6.2. H<sub>2</sub>S

Çürük yumurta kokusunu oluşturan bu zehirli gazın organizmada varlığı 1989 yılında anlaşılmıştır. Aktif-radikal özelliği taşımamaktadır. Sentezinde başlıca iki enzim rol almaktadır:

1. Sistatyon beta sentaz (CBS)

2. Sistatyon gama liyaz (CSE)

H<sub>2</sub>S SSS'de, kardiyovasküler sistemde, karaciğer ve böbrekte yüksek düzeyde bulunabilmektedir. Vazodilatör etkisinden dolayı kan basıncını düşürür, nöromodülatör ve hücre koruyucu özellikleri vardır. Etki mekanizmasında ATP'ye duyarlı potasyum kanallarının (K-ATP) aktivasyonu, adenilat siklazın uyarılması ya da serbest radikallerle etkileşme vardır (Zhao, Zhang, Lu & Wang, 2001).

Organizmada hidrojen sülfürün fazla ya da eksik olduğu bazı patolojiler saptanmış ve bu patolojilerde H<sub>2</sub>S nin rolü olabileceği düşünülmüştür. Hipertansiyon, pulmoner hipertansiyon ve sirozda düşük H<sub>2</sub>S düzeyleri söz konusuyken; Down sendromu, septik şok, kolitler, diyabet, iskemik önkoşullanma, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), inme ve febril konvülsiyonda yüksek H<sub>2</sub>S düzeyleri belirtilmiştir. H<sub>2</sub>S salıverici bazı maddelerin ilaç olarak geliştirilmesi çalışmaları da devam etmektedir (Song vd., 2014).

Son zamanlarda H<sub>2</sub>S nin rolünün anlaşılması üzerine çalışmalar yapılmıştır. H<sub>2</sub>S, gastrik mukozal kan akışını ve lökositlerin vasküler endotele bağlanmasını düzenlemektedir. Lawessons's reagent, 4-hidroksitiyobenzamid (4HTB) veya H<sub>2</sub>S sentezinin prekürsörü L-sistein veya NaHS gibi H<sub>2</sub>S donörleri ile tedavi edildiğinde gastrik ülserde iyileşme görülmüştür (Kayaalp, 2012; Chávez-Pina vd., 2010).

### 2.6.3. CO

Renksiz, kokusuz, radikal-olmayan gaz olan "karbon monoksit" in (CO) zehirlenmelerdeki rolü 1850'den beri bilinmektedir. Vücudumuzda "hem" metabolizması sırasında CO oluşumuna dair bulgular ise 1950'lerde ortaya çıkmıştır. Ancak vücutta oluşan CO' in fizyolojik rolü 1991'de anlaşılmaya başlanmıştır. CO sentezinden sorumlu 2 enzim bulunmaktadır: hem-oksijenaz-1 (HO-1) ve hem-oksijenaz-2 (HO-2). Ek olarak, HO-3 enziminin varlığı da bilinmektedir. Endojen CO' in vazodilatör, antitrombotik,

antiinflamatuvar, antiproliferatif, nöromodülatör, proapoptotik, antiapoptotik etkileri vardır. CO ile oluşan bilirubin ve biliverdin aslında organizmada hücre-dışı ortamın anti-oksidanlarıdır. Fakat düzeylerinin çok arttığı durumlarda toksik etkileri de (kernikterus gibi) gözlenebilmektedir (Nomenoğlu, vd., 2017).

Birçok ilacın etkisinde HO-1 aktivitesine bağlı olarak artan CO miktarının rol aldığı düşünülmektedir. Statinler, NSAİ ilaçlar, probukol, rapamisin, pentoksifilin, bazı bitki fenolleri ve organik nitratlar HO-1 aktivasyonuna yol açmaktadır (Kayaalp, 2012). Son zamanlarda bazı CO donörlerinin gastrik mukoza üzerine koruyucu etkileri olabileceğini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (Magierowski vd., 2016)

Sonuç olarak bu üç farklı gaz mediyatörün üç farklı deneysel ülser modeli üzerinde olası koruyucu etkilerini değerlendirmeyi amaçladık. Üç farklı deneysel ülser modeli kullanmamızın nedeni de insanlardaki ülser nedenlerinin ve mekanizmalarının farklı olmasıdır. Bunlar arasında sıklıkla kullanılan ve farklı mekanizmalarla ülser oluşturması göz önüne alınarak etanol, indometasin ve stres seçilmiştir. Ülser değerlendirmeleri ülser indeksi, total ve serbest asidite, mukus sekresyonu düzeylerinin ölçülmesi ve dokularda non-protein sülfhidril (NP-SH) grupları, H<sub>2</sub>S, COX-1, COX-2, PGE<sub>2</sub>, TNF- $\alpha$ , MDA, GSH ve NO düzeyi ölçümü yapılarak karşılaştırılması amaçlanmıştır. Böylelikle çeşitli terapötik amaçlarla kullanılma potansiyeli olan bu üç gaz otakoidin deneysel ülser modellerinin bazılarında koruyucu etkilerinin bulunma olasılığı ve bu etkilerinin mekanizmalarının da aydınlatılması bilimsel açıdan önemli bir kazanım olacaktır. Daha sonraları Faz 1 ve sonrası olarak geniş çaplı çalışmalar yapıldığında belki de gastroprotektif amaçla insanlar tarafından da güvenle kullanılacak yeni ilaçların bu etkilerini görebilmek ve olası mekanizmalarının aydınlatılmasına da ışık tutabilmek açısından çalışmamız yararlı olacaktır.

## 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

### 3.1. Çalışılan Deney Hayvanları

Deneylerde erişkin erkek Wistar albino sıçanlar (200-250 g ağırlığında) kullanılmıştır. Kullanılan hayvanlar, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi TICAM dan alınmıştır. Hayvanların çeşme suyu içmelerine izin verilmiştir. Hayvanlar  $20 \pm 2$  °C'de 12 saat gece/gündüz dengesinin sağlandığı ESOGÜ Farmakoloji A.D. laboratuvarında muhafaza edilmişlerdir. Sirkadiyen ritme bağlı olarak deney sonuçlarının değişiklik göstermemesi için deneye başlama saati hergün aynı saatte yapılmıştır. Sıçanların kendi dışkılarını yememeleri için tel delikli kafesler kullanılmış ve deneye başlanmadan 16 saat öncesinden itibaren sadece çeşme suyu içmelerine müsaade edilerek aç bırakılmışlardır. Bu çalışma ESOGÜ Hayvan Etik Kurulu'nun onayı [30.10.2017 tarih ve 548-1] ile yapılmıştır.

### 3.2. Kullanılan Aletler

- Hassas terazi (Elektronik)
- Havan, havaneli
- Su banyosu
- Santrifüj aleti (3000 rpm/s)
- Cam tüp
- Derin dondurucu (Uğur)
- 10-100µl'lik otomatik pipetler
- 1 ml'lik Eppendorf tüpleri
- Spektrofotometre (Schwadzu)
- Beher, balon joje, erlen mayer, cam tüp (10 ml) gibi cam malzemeler
- Pens
- Cerrahi makas
- Altında telli özel kafesler (6 Adet)

-İntragastrik uygulama için paslanmaz çelik niteliğinde ve 5.5 cm uzunluğunda sonda

-1,5 ve 10 ml lik enjektörler

-Büyüteç

-pH metre

-İçi parafin kaplı petri kabı, toplu iğne

### **3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Hazırlanışları**

- Sodyum Hidroksit (NaOH) (Merck®) 0.1 M olarak distile su içinde hazırlanmıştır.

- Sukroz (Merck®) 0.25 M olarak distile su içinde hazırlanmıştır.

- MgCl<sub>2</sub> (Merck®) 0.5 M olarak distile su içinde hazırlanmıştır.

- HCl (Merck®) ile pH 5.5 e ayarlanmış 0.05 M Sodyum asetat (Merck®) ile tamponlanmış 0.16 M sukroz (Merck®) içindeki %0.1 Alcian blue (Merck®) çözeltisi

- İndometasin (Deva Holding); NSAİİ, Prostaglandin sentez inhibitörü. % 5'lik (a/v) NaHCO<sub>3</sub>'ta çözülmüştür.

- NaCl (Merck®) izotonik (%0.09,a/v) olacak şekilde distile su içinde hazırlanmıştır.

- Dietil eter (Merck®)

- Absolü etanol (Merck®)

- Metil oranj (Merck®)

- Fenolftalein (Merck®)

- PGE2 ELISA kit (YL BIONT)

- TNF-ALPHA ELISA kit (YL BIONT)

- COX Activity Assay Kit 96 Well (CAYMAN)
- MDA kit (CAYMAN)
- GSH Kit (CAYMAN)
- Sevofluran (SEVORANE<sup>®</sup>), Sıvı şekildedir.

Sıçanlara verilen tüm maddeler 0.30-0.40 ml hacimde verilmiştir.

### **3.4. Yöntem**

Bu çalışmanın önemli kısmı (farmakolojik ölçüm ve deneyler) ESOGÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Laboratuvarında, biyokimyasal ölçümler Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

#### **3.4.1. Sıçanlarda indometasinle gastrik ülser oluşturulması**

Sıçanlar kendi dışkılarını yememeleri için altında delikli tel bulunan özel kafeslerde 16 saat aç bırakılmışlardır. Bu sürede sadece çeşme suyu içmelerine müsaade edilmiştir. Bu sürenin sonunda sıçanlara 40 mg/kg dozda indometasin distile suda çözülerek oral gavaj yoluyla verilmiştir (Mard, Ashabi, Badavi & Dianat, 2014).

#### **3.4.2. İndometasin ile oluşturulan gastrik ülser üzerine CORM-2, L-Arginin ve NaHS'in etkilerinin incelenmesi**

İndometasin ile oluşturulan gastrik ülser lezyonları üzerinde CORM-2 (5 mg/kg), L-Arginin (100 mg/kg) ve NaHS (5 mg/kg)'in etkileri sıçanlara tek doz uygulama (akut model) sonrasında değerlendirilmiştir (Magierowski vd., 2016; Kılıç, Sırmagül, Batu & Erol, 2006).

16 saatlik açlık periyodunun ardından distile su, , CORM-2 (5 mg/kg) ve NaHS (5 mg/kg) sıçanlara oral yolla, L-Arginin (100 mg/kg) ise i.p. yolla uygulanmıştır. Bu uygulamalardan 30 dk sonra 40 mg/kg indometasin (oral) verilmiştir. İndometasin verildikten sonra aç bırakılarak 6 saatte ülser lezyonları oluşturulmuştur. Süre dolunca sıçanlara %3 Sevofluran inhalasyonla uygulanıp hayatlarına son verilerek mideleri izole edilmiş ve her iki uçtan bağlanarak petri kabına alınmıştır. Mideler açılmış, içleri 2 ml

izotonik NaCl ile temizlenmiş ve gastrik içerik cam tüplere aktarılmıştır. Daha sonra lümen kısmı üste gelecek şekilde parafin ile kaplı petri kabına sabitlenip bir cetvel de kullanılarak büyüteç ile ülser lezyonları belirlenmiştir. (Magierowski vd., 2016; Kılıç vd., 2006; Mard vd., 2014).

### **3.4.3. Etanol ile oluşturulan gastrik ülser üzerinde CORM-2, L-Arginin ve NaHS'in etkisinin incelenmesi**

Etanol ile oluşturulan gastrik ülser lezyonları üzerinde CORM-2 (5 mg/kg), L-Arginin (100 mg/kg) ve NaHS (5 mg/kg)'in etkileri sıçanlara tek uygulama (akut model) sonrasında değerlendirilmiştir (Chávez-Pina vd., 2010).

16 saatlik açlık periyodunun ardından distile su, CORM-2 (5 mg/kg) ve NaHS (5 mg/kg) sıçanlara oral yolla, L-Arginin (100 mg/kg) ise i.p. yolla uygulanmıştır. Bu uygulamalardan 30 dk sonra etanol (Absolü, 1 ml) (oral) verilmiş ve kafeslere konularak 2 saat süreyle bekletilmişlerdir. 2 saatin sonunda sıçanların hayatına %3 Sevofluran ile son verilerek mideleri izole edilmiş ve aynı şekilde bağlanmıştır. Midelerin büyük kurvaturlarından diseke edilerek 2 ml izotonik ile yıkanmış ve gastrik içerik cam tüplere aktarılmıştır. Daha sonra lümen kısmı üste gelecek şekilde parafin ile kaplı petri kabına sabitlenip bir cetvel de kullanılarak büyüteç ile ülser lezyonları belirlenmiştir (Magierowski vd., 2016; Kılıç vd., 2006; Chávez-Pina vd., 2010).

### **3.4.4. Sıçanlarda stres (soğuk+immobilizasyon) ile gastrik ülser oluşturulması**

Stres (Soğuk + İmmobilizasyon) ile oluşturulan gastrik ülser lezyonları (Komkova, Podvigina & Filaretova, 2017; Saxena & Singh, 2017) üzerinde CORM-2 (5 mg/kg, oral), L-Arginin (100 mg/kg, i.p.) ve NaHS (5 mg/kg, oral)'in etkileri sıçanlara tek doz uygulama (akut model) sonrasında değerlendirilmiştir. Sıçanların dışkılarını yemelerini önlemek için delikli kafeste aç bırakılarak su içmelerine izin verilmiştir. 16 saat aç bırakılan hayvanların hareketleri stres kafesleri içine koyulmak suretiyle kısıtlanmış ve +4 °C de 4 saat bekletilmişlerdir (Magierowski vd., 2016; Kılıç vd., 2006).

### 3.4.5. Stres (Soğuk+İmmobilizasyon) İle Oluşturulan Gastrik Ülser Üzerinde CORM-2, L-Arginin ve NaHS in Etkisinin İncelenmesi

Belirtilen süre (4 saat) sonunda sıçanların hayatına %3 Sevofluran ile son verilerek mideleri izole edilmiş ve aynı şekilde açılmış, 2 ml'lik izotonik ile yıkanmış ve gastrik içerik cam tüplere aktarılmıştır. Değerlendirmeler için aşağıdaki yöntemler kullanılmıştır:

**Ülser indeksi:** Lümen kısmı üste gelecek şekilde parafin ile kaplı petri kabına sabitlenip bir cetvel de kullanılarak büyüteç ile ülser lezyonları belirlenmiştir. Lezyonların en uzun yerinden ölçüm yapılmış, 1mm ve daha büyük lezyonlar “mm” olarak ölçülmüştür. 1 mm'den küçükler peteşi olarak değerlendirilmiş ve 5 peteşi 1mm lezyona eşdeğer olarak belirlenmiştir. Tek mide için bütün skorlar toplanmış ve ortalama değerler saptanmıştır. (Kılıç vd., 2006).

Her 3 ülser modeli için de cam tüplere aktarılan gastrik içeriklerde ölçümler şu şekilde yapılmıştır:

**Asidite:** Hayvanların mide içerikleri santrifüj tüpüne alındıktan sonra 2 ml izotonik ile yıkanmıştır ve tüpe eklenerek santrifüj edilmiştir. Sonra total ve serbest asit düzeyi 0.1 N NaOH kullanılarak metil oranj ve fenolftalein indikatör olarak kullanılarak titrasyonla ölçülmüştür (Sırmagül, Kılıç, Batu & Erol, 2004).

Mide dokusu fundus ve korpus kısımlarından ayrılmış, korpus 4, fundus ise 6 eşit parçaya bölünerek tartılmıştır. Daha sonra aşağıdaki değerlendirmeler yapılmak üzere -20°C'de saklanmıştır. Korpus kısmında mukus düzeyi, nonprotein sülfidril (NP-SH) grupları, MDA ve GSH düzeyi ölçülmüştür. Fundus kısmında ise, PGE<sub>2</sub>, TNF- $\alpha$  ve COX-1 ve COX-2 enzimleri, NO ve H<sub>2</sub>S düzeyleri ölçülmüştür.

**Gastrik mukus düzeyi:** Parçalara ayrılan korpus kısmının bir parçası, HCl ile pH 5.5 e ayarlanmış 0.05 M sodyum asetat ile tamponlanmış 0.16 M sukroz içindeki %0.1 Alcian blue'nun 10 ml.si içerisine alınıp boyanması için 2 saat bekletilmiştir. Boya kalıntıları 15 ve 45. dakikalarda 0.25 M sukroz içinde iki kez yıkanarak uzaklaştırılmıştır. Mukuslu boya kalıntıları 0.5 M MgCl<sub>2</sub>



solüsyonuna 2 saat daldırma yöntemi ile uzaklaştırılmıştır. Eşit hacimlerde dietil eterde kısaca çalkalanmış ve son boya kalıntıları da uzaklaştırılmıştır. Sonra 10 dk süre ile 3600 rpm de santrifüj edilmiştir. Sulu tabakadaki boya konsantrasyonu, Alcian mavisinin standart kalibrasyon eğrisi 598 nm de spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Mukus içeriği  $\mu\text{g/g}$  doku olarak hesaplanmıştır (Kılıç vd., 2006).

**NP-SH grupları:** NP-SH gruplarını değerlendirmek için korpus kısmının bir parçası kullanılmıştır. Dokudaki NP-SH grupları mikromol/g cinsinden Sedlak and Lindsay metodu ile 412 nm de spektrofotometri yöntemiyle ölçülmüştür. Her hayvanın midesinin korpus parçasının glandüler kısmı ayrılmış ve buzla soğutulmuş 0.8 ml 0.02 M EDTA içinde homojen hale getirilmiştir. Homojenatın 5 ml'si, 1 ml %50 trikloroasetik asit ve 4 ml su ile karıştırılmıştır. Bu karışım 15 dk süre ile 3000 rpm de santrifüj edilmiştir. Her süpernatant, 4 ml Tris tamponu (0.4 M), (pH= 8.9) ve 0.1 ml 5,5-dithio-bis-2-nitro benzoik asit ile karıştırılmıştır. 5 dk. Sonra karışımın absorbens değeri 412 nm de ölçülmüştür. Dokudaki NP-SH bileşiğinin mikromol/g cinsinden miktarı standart glutatyon solüsyonu kullanılarak hazırlanan standart kalibrasyon eğrisi üzerinden hesaplanmıştır (Kılıç vd., 2006).

**H<sub>2</sub>S düzeyi:** Her hayvanın fundus parçalarından biri, 50 mmol/l potasyum fosfat tamponunda (pH 8.0) çözülmüş %0.5 lik Çinko asetat (Zn asetat) içinde homojenize edilmiş (Ultra-Turrax T-18 homojenizer ile) ve sonra 10 dk. oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Homojenat santrifüj edilmiş (47,000 g; 10 dk, 4°C de) ve 200 mikrolitre süpernatant TCA (%10, 160  $\mu\text{l}$ ) ile karıştırılmış ve santrifüj edilmiştir (14,000 g; 10 dk, 4°C). Temiz süpernatant toplanmış, 7.2 mol/l HCl içinde N,N dimethyl-p-phenylene-diamine sulfat (20 mmol/l; 70  $\mu\text{l}$ ), ve 1.2 mol/l HCl içinde FeCl<sub>3</sub> (30 mmol/l; 70  $\mu\text{l}$ ) ile karıştırılmıştır. 20 dk. sonra 655 nm de microplate reader (BIORAD 680) ile absorbens değeri ölçülmüştür. Absorbansın kalibrasyon eğrisi ve H<sub>2</sub>S konsantrasyonu, değişik konsantrasyonlarda NaHS solüsyonu kullanılarak elde edilmiştir. NaHS suda çözüldüğünde, HS<sup>-</sup> iyonları serbest kalacak ve H<sub>2</sub>S ve H<sup>+</sup> formları oluşacaktır. Kalibrasyon eğrisine göre değerlendirme yapılmıştır (Chávez-Pina vd., 2010).

**COX-1, COX-2, PGE<sub>2</sub> ve TNF- $\alpha$  ölçümü,** midenin fundus kısımlarının birer parçaları kullanılarak ELISA yöntemiyle ve temin edilen kitler vasıtasıyla protokole uygun olarak yapılmıştır (Magierowski vd., 2015).

**Doku Homojenatının Hazırlanması:** Alınan doku örneklerinden 0.1 g tartıldı ve 0.1 M pH:7.4 fosfat tamponundan 1 ml ilave edilerek Next Advance Bullet Blender Storm BBY24M-CE (Next Advance, Inc., Averill Park, NY, USA) marka homojenizatörle Next Advance marka zirkonyum oksit boncuklar kullanılarak homojenize edilmiştir. Ardından homojenatlar 10.000 g'de 15 dk santrifüj edilerek supernatant ayrılmış ve çalışılincaya kadar -85 °C'de saklanmıştır.

**Doku Protein Ölçüm Yöntemi:** Doku homojenatında protein düzeyleri Brilliant Blue G boyası yöntemi ile Sigma marka ticari kitler kullanılarak (Saint Louis, Missouri, USA) prospektüste belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir.

**Doku TNF- $\alpha$  Düzeylerinin Ölçümü:** Doku homojenatında TNF- $\alpha$  ölçümü YLbiont marka Rat Tumor necrosis factor  $\alpha$  ölçüm kiti ile yapılmıştır (Caoan Road, Jiading District, Shanghai, China). Absorbans okuması ChemWell 2910 marka elisa okuyucu cihazında yapılmıştır. (Awareness Technology, Inc. Martin Hwy. Palm City, USA). Sonuçlar doku homojenatının protein düzeyiyle oranlanarak ng/g protein olarak verilmiştir.

**Doku PGE<sub>2</sub> Düzeylerinin Ölçümü:** Doku homojenatında PGE<sub>2</sub> ölçümü YLbiont marka Rat Prostaglandin E<sub>2</sub> ölçüm kiti ile yapılmıştır (Caoan Road, Jiading District, Shanghai, China). Absorbans okuması ChemWell 2910 marka ELISA okuyucu cihazında yapılmıştır (Awareness Technology, Inc. Martin Hwy. Palm City, USA). Sonuçlar doku homojenatının protein düzeyiyle oranlanarak pg/mg protein olarak verilmiştir.

**Doku COX-1 Düzeylerinin Ölçümü:** Doku homojenatında COX-1 ölçümü YLbiont marka Rat Cyclooxygenase-1 ölçüm kiti ile yapılmıştır (Caoan Road, Jiading District, Shanghai, China). Absorbans okuması ChemWell 2910 marka ELISA okuyucu cihazında yapılmıştır (Awareness Technology, Inc. Martin

Hwy. Palm City, USA). Sonuçlar doku homojenatının protein düzeyiyle oranlanarak ng/mg protein olarak verilmiştir.

**Doku COX-2 Düzeylerinin lm:** Doku homojenatında COX-2 lm YLbiont marka Rat Cyclooxygenase-2 lm kiti ile yapılmıştır (Caoan Road, Jiading District, Shanghai, China). Absorbans okuması ChemWell 2910 marka ELISA okuyucu cihazında yapılmıştır. (Awareness Technology, Inc. Martin Hwy. Palm City, USA). Sonuçlar doku homojenatının protein düzeyiyle oranlanarak ng/mg protein olarak verilmiştir.

**MDA ve GSH lm** ise midenin corpus kısımlarının birer parçaları kullanılarak ve temin edilen kitler vasıtasıyla kolorimetrik yöntemle protokole uygun olarak yapılmıştır (El-Ashmawy, Khedr, El-Bahrawy & Selim, 2016).

**Doku MDA Düzeylerinin lm:** Doku homojenatında MDA lm YLbiont marka Rat Malondialdehyde lm kiti ile yapılmıştır (Caoan Road, Jiading District, Shanghai, China). Absorbans okuması ChemWell 2910 marka ELISA okuyucu cihazında yapılmıştır. (Awareness Technology, Inc. Martin Hwy. Palm City, USA). Sonuçlar doku homojenatının protein düzeyiyle oranlanarak pmol/mg protein olarak verilmiştir.

**Doku GSH Düzeylerinin lm:** Doku homojenatında GSH lm YLbiont marka Rat Glutasyon lm kiti ile yapılmıştır (Caoan Road, Jiading District, Shanghai, China). Absorbans okuması ChemWell 2910 marka ELISA okuyucu cihazında yapılmıştır (Awareness Technology, Inc. Martin Hwy. Palm City, USA). Sonuçlar doku homojenatının protein düzeyiyle oranlanarak ng/mg protein olarak verilmiştir.

**NO lm:** Mide dokusundaki nitrik oksit içeriği, dokunun nitrit miktarı llerek belirlenir. Doku olarak fundus parçalarından bir tanesi kullanılmıştır. Bu metod, Griess reaktifinin eklenmesini takiben eklenen vanadium trichloride ( $VCl_3$ ) tarafından nitratın nitrite indirgenmesine bağlı bir metoddur. Kısaca, homojenat süpernatanı (500  $\mu$ l), eşit hacimde  $VCl_3$  (400 mg  $VCl_3$ , 50 ml 1M HCl içinde zlmş) ve Griess reaktifi (100 ml suda 0.1 g naftiletilediamin ve 100 ml %5 HCl de 2 g sülfanilamid) ile karıştırılmıştır. 37°C de 30 dk. inkübasyondan sonra absorbans değeri spektrofotometre ile 540

nm de ölçülmüştür. Buna paralel olarak değerlendirilen sodyum nitrit standartları ile elde ettiğimiz değerler karşılaştırılmış, standart eğri çizilecek ve her örnek (doku) için nitrit konsantrasyonu hesaplanmıştır. Sonuçlar dokunun başlangıç ağırlığı esas alınarak nmol NO/g doku ağırlığı olarak belirlenmiştir (Magierowski vd., 2016).

**Tablo 1:** Deney Grupları, kullanılan ilaçlar ve ajanlar (n=6)

Grup 1	Kontrol (Serum fizyolojik)
Grup 2	Etanol (Absolü, 1 ml)
Grup 3	Etanol (Absolü, 1 ml)+ L-arginin (100 mg/kg)
Grup 4	Etanol (Absolü, 1 ml)+ CORM-2 (5 mg/kg)
Grup 5	Etanol (Absolü, 1 ml)+ NaHS (5 mg/kg)
Grup 6	Stres (soğuk+ immobilizasyon)
Grup 7	Stres (soğuk+ immobilizasyon)+ L-arginin (100 mg/kg)
Grup 8	Stres (soğuk + immobilizasyon) + CORM-2 (5 mg/kg)
Grup 9	Stres (soğuk + immobilizasyon) + NaHS (5 mg/kg)
Grup 10	İndometasin (40 mg/kg)
Grup 11	İndometasin (40 mg/kg) + L-arginin (100 mg/kg)
Grup 12	İndometasin (40 mg/kg) + CORM-2 (5 mg/kg)
Grup 13	İndometasin (40 mg/kg) + NaHS (5 mg/kg)

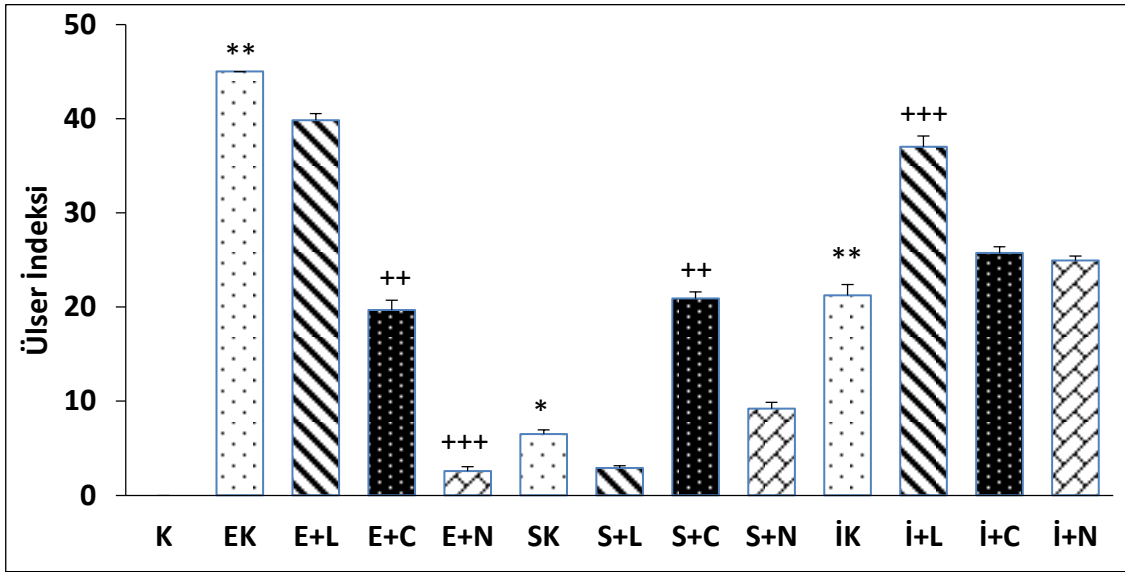
### 3.4.6. İstatistiksel analiz yöntemi

Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart hata olarak belirtilmiştir. Her bir gruptaki sıçan sayısı  $n=6$  olarak verilmiştir. Sonuçları değerlendirmek için SPSS Version 21 istatistik programı kullanılmış, kontrol ve herhangi bir ajan verilmeden sadece ülser yapılan gruplara ve ajan verilen gruplara kendi kontrol gruplarıyla karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır.  $p<0.05$  anlamlı kabul edilmiştir.



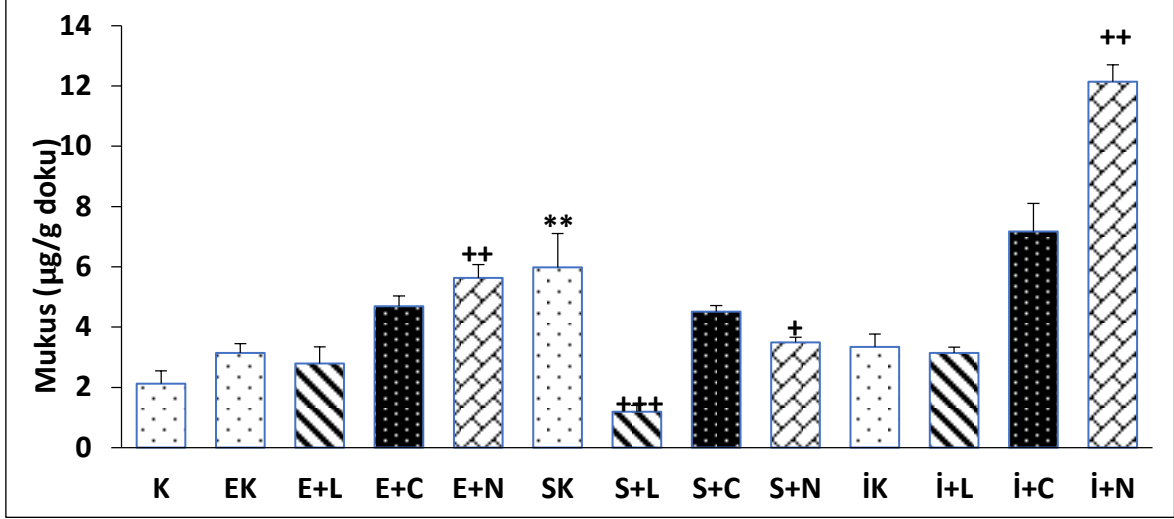
## 4. BULGULAR

Ülser indeksini etanol ( $p<0.01$ ) stress ( $p<0.05$ ) ve indometasin ( $p<0.01$ ) anlamlı olarak artırmıştır. CO ( $p<0.01$ ) ve H<sub>2</sub>S ( $p<0.001$ ) ise etanole bağlı olarak oluşan ülser artışını anlamlı olarak azalttığı halde NO ile bu etkide anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir ( $p>0.05$ ). CO ( $p<0.001$ ) ise stress ülserlerini daha da artırmıştır. İndometasine bağlı olarak oluşan ülserleri NO daha da artırmış ( $p<0.001$ ), CO ve H<sub>2</sub>S ise anlamlı bir değişiklik yapmamıştır ( $p>0.05$ ) (Şekil 4.1).



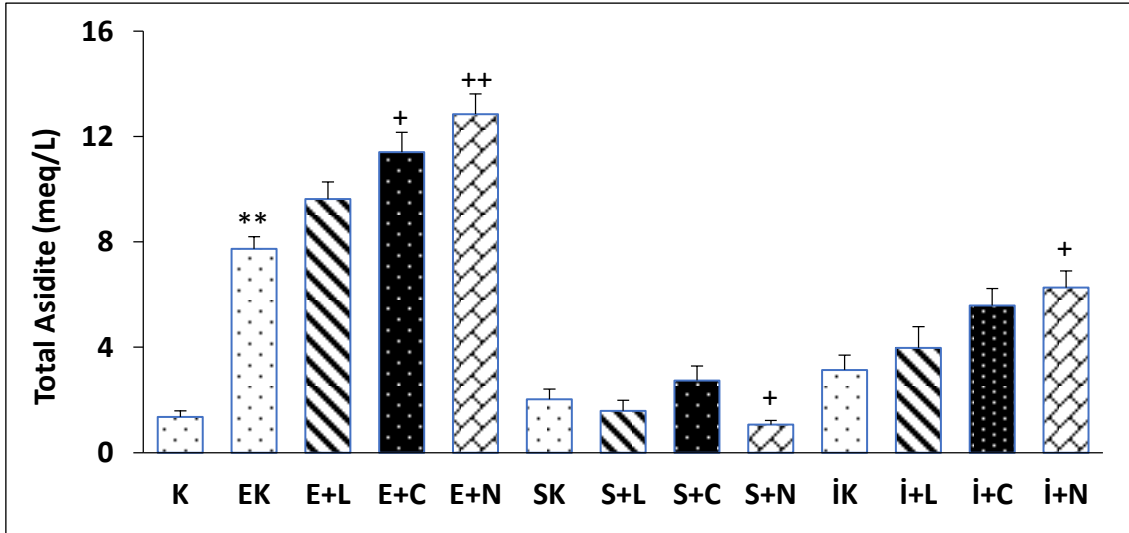
Şekil 4.1. Ülser indeksi değerleri (K;Kontrol; E;Etanol, L;L-Arginin, C;CORM-2, N;NaHS, S;Stres, İ;İndometasin). Kontrol grubuna göre; \*: $p<0,05$ , \*\*: $p<0,01$ ; Kendi kontrol grubuna göre; ++: $p<0,01$ , +++: $p<0,001$ .

Mide mukus değerini sadece stress ( $p<0.01$ ) anlamlı olarak artırmıştır. Etanol ve indometasin kontrol gruplarında anlamlı bir değişiklik görülmemiştir ( $p>0.05$ ). H<sub>2</sub>S ( $p<0.01$ ), etanol grubunda mukus değerini anlamlı derecede arttırmıştır. NO ve CO ile anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir ( $p>0.05$ ). NO ( $p<0.001$ ) ve H<sub>2</sub>S ( $p<0.05$ ) stress grubunda mukus değeri artışını anlamlı olarak azalttığı halde CO ile bu etkide anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir ( $p>0.05$ ). H<sub>2</sub>S ( $p<0.01$ ) ise indometasin grubunda mukus değerini anlamlı derecede artırmıştır. NO ve CO ile anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir ( $p>0.05$ ) (Şekil 4.2).



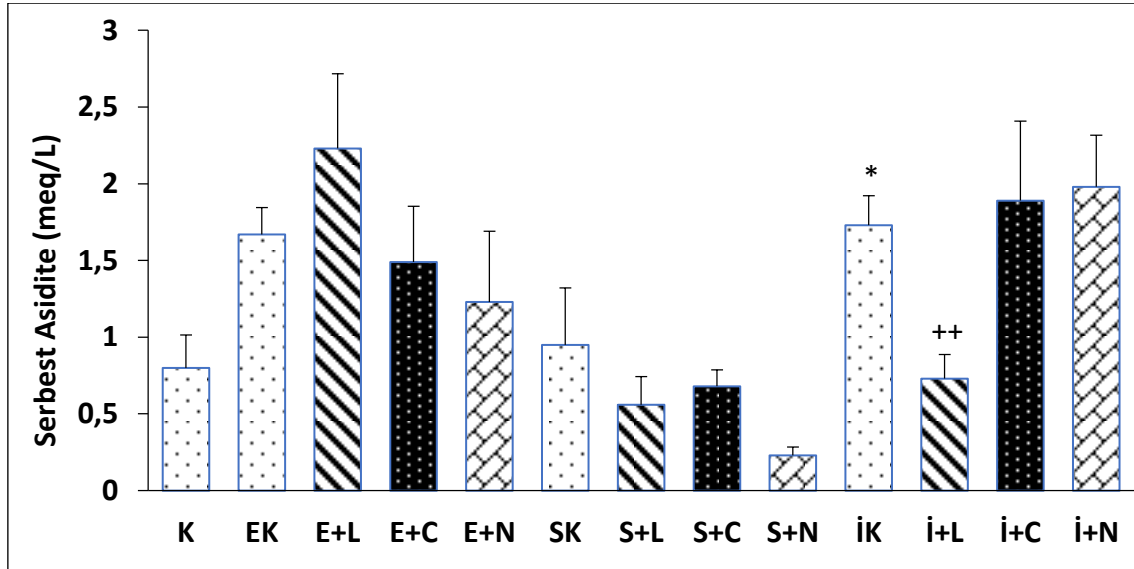
Şekil 4.2. Mukus (µg/g) doku değerleri (K;Kontrol; E;Etanol, L;L-Arginin, C;CORM-2, N;NaHS, S;Stres, I;Indometasin). Kontrol grubuna göre; \*\*:p<0,01; Kendi kontrol grubuna göre; +:p<0,05, ++:p<0,01, +++:p<0,001.

Total asidite değerini yalnızca etanol ( $p<0.01$ ) anlamlı olarak artırmıştır. CO ( $p<0.05$ ) ve H<sub>2</sub>S ( $p<0.01$ ) etanol ülseri grubundaki total asidite değerini anlamlı olarak arttırdığı halde NO ile bu etkide anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir ( $p>0.05$ ). H<sub>2</sub>S ise stress ülseri grubunda total asiditeyi anlamlı derecede ( $p<0.05$ ) azaltmıştır. İndometasin grubunda sadece H<sub>2</sub>S ( $p<0.05$ ) total asiditeyi anlamlı derecede arttırmış, NO ve CO ise anlamlı bir değişiklik yapmamıştır ( $p>0.05$ ) (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Total asidite değerleri (meq/L) (K;Kontrol; E;Etanol, L;L-Arginin, C;CORM-2, N;NaHS, S;Stres, I;Indometasin). Kontrol grubuna göre; \*\*:p<0,01; Kendi kontrol grubuna göre; +:p<0,05, ++:p<0,01.

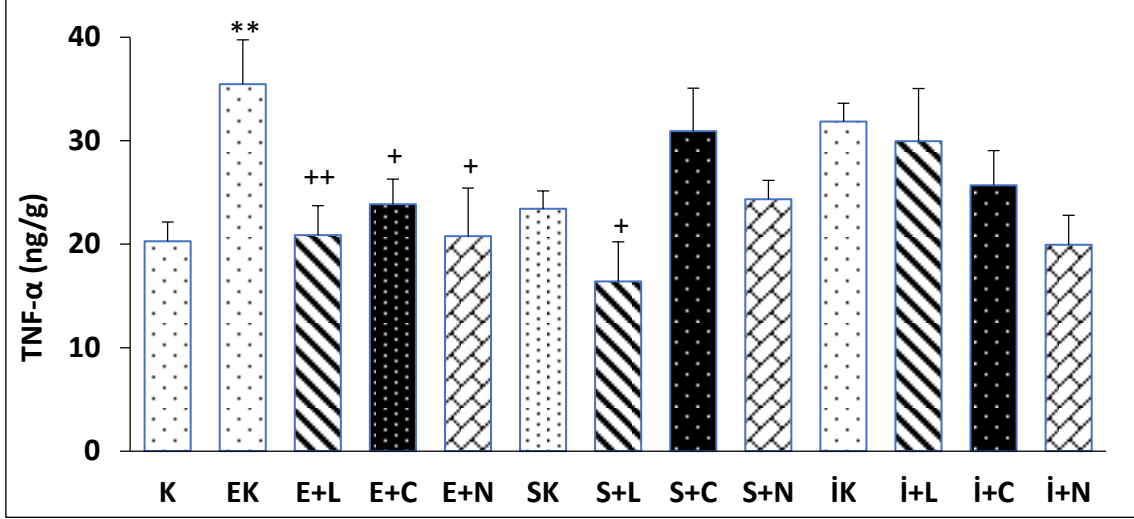
Serbest asidite değerini yalnızca indometasin ( $p<0.05$ ) anlamlı olarak artırmıştır. İndometasin grubunda NO ( $p<0.01$ ) serbest asiditeyi anlamlı derecede azaltmıştır, diğer gruplarda herhangi bir anlamlı değişiklik gözlenmemiştir ( $p>0.05$ ) (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Serbest asidite değerleri (meq/L) (K;Kontrol; E;Etanol, L;L-Arginin, C;CORM-2, N;NaHS, S;Stres, İ;İndometasin). Kontrol grubuna göre; \*: $p<0,05$ , Kendi kontrol grubuna göre; \*\*: $p<0,01$ .

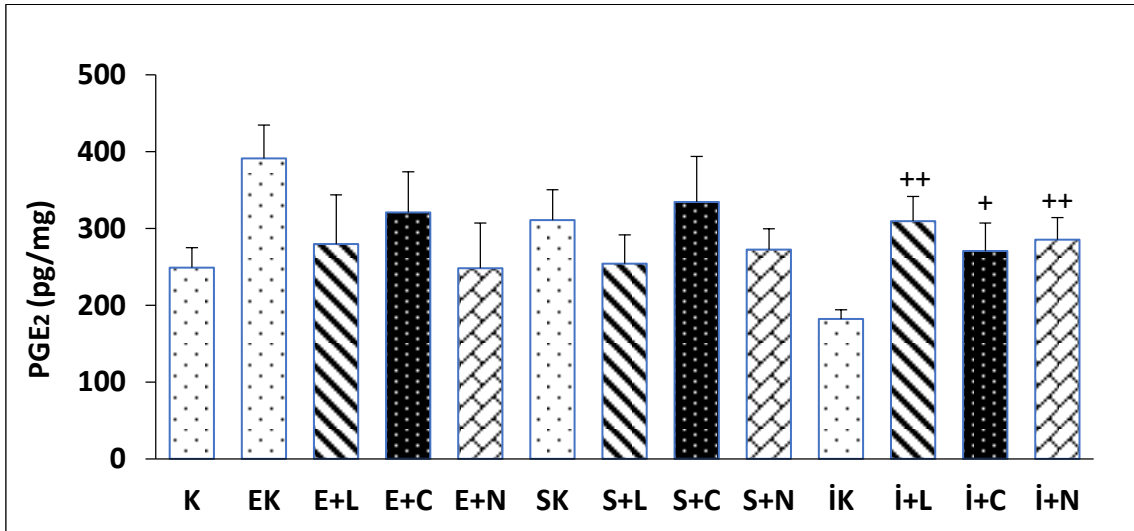
TNF-alfa değerini yalnızca etanol ( $p<0.01$ ) anlamlı olarak artırmıştır. NO ( $p<0.01$ ), CO ( $p<0.05$ ) ve H<sub>2</sub>S ( $p<0.05$ ) etanol ülseri grubundaki TNF-alfa değerini anlamlı olarak azaltmıştır. NO ( $p<0.05$ ) stress ülseri grubunda TNF-alfa değerini anlamlı derecede azalmıştır. CO ve H<sub>2</sub>S, stress grubunda TNF-alfa değerlerinde anlamlı bir değişikliğe sebep olmamıştır ( $p>0.05$ ). İndometasin grubunda NO, CO ve H<sub>2</sub>S anlamlı bir değişikliğe sebep olmamıştır ( $p>0.05$ ) (Şekil 4.5).





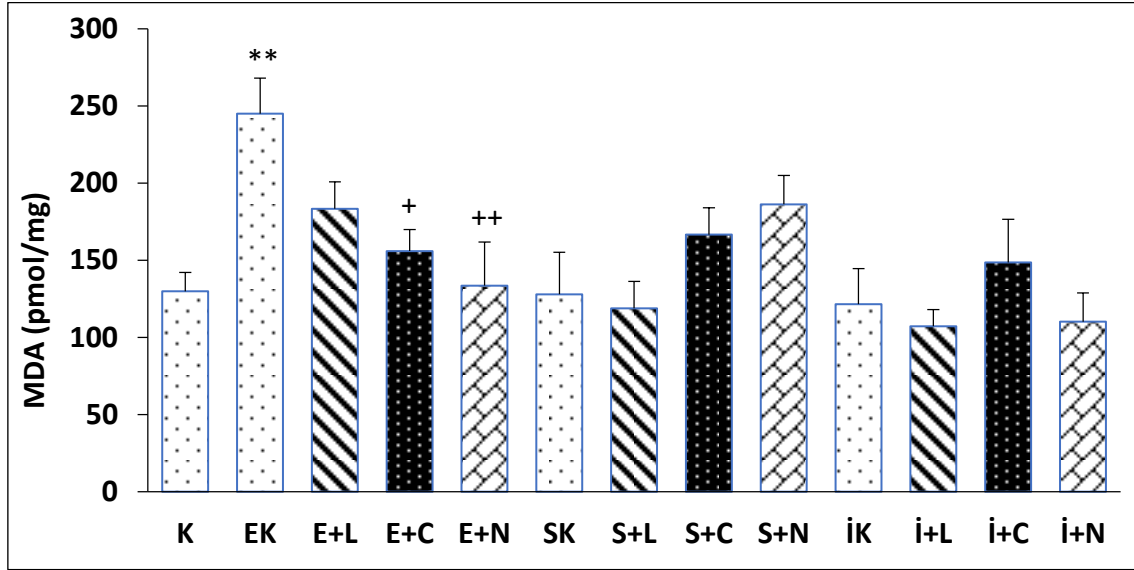
Şekil 4.5. TNF-alfa değerleri (ng/g) (K;Kontrol; E;Etanol, L;L-Arginin, C;CORM-2, N;NaHS, S;Stres, I;Indometasin). Kendi kontrol grubuna göre; \*\*:p<0,01; Kendi kontrol grubuna göre; +:p<0,05, ++:p<0,01.

PGE<sub>2</sub> değerini her üç kontrol grubu da anlamlı olarak değiştirmemiştir ( $p>0.05$ ). Etanol ve stress gruplarında her üç ajan da herhangi anlamlı bir değişikliğe sebep olmazken ( $p>0.05$ ); İndometasin grubunda her üç ajan da NO ( $p<0.01$ ), CO ( $p<0.05$ ) ve H<sub>2</sub>S ( $p<0.01$ ) PGE<sub>2</sub> değerlerini anlamlı derecede arttırmıştır (Şekil 4.6).



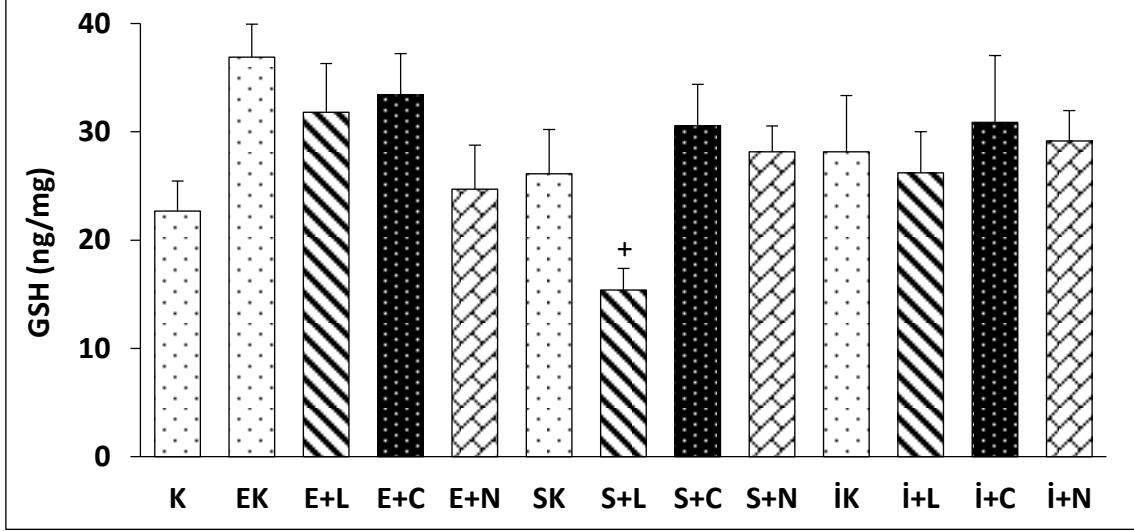
Şekil 4.6. PGE<sub>2</sub> değerleri (pg/mg) (K;Kontrol; E;Etanol, L;L-Arginin, C;CORM-2, N;NaHS, S;Stres, I;Indometasin). Kendi kontrol grubuna göre; +:p<0,05, ++:p<0,01.

MDA değerini yalnızca etanol ( $p<0.01$ ) anlamlı olarak artırmıştır. Etanol ülseri grubunda CO ( $p<0.05$ ) ve H<sub>2</sub>S ( $p<0.01$ ) anlamlı derecede MDA değerlerini azaltmış, NO ( $p>0.05$ ) anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Stress ve indometasin gruplarında her üç ajan da herhangi anlamlı bir değişikliğe sebep olmamıştır ( $p>0.05$ ) (Şekil 4.7).



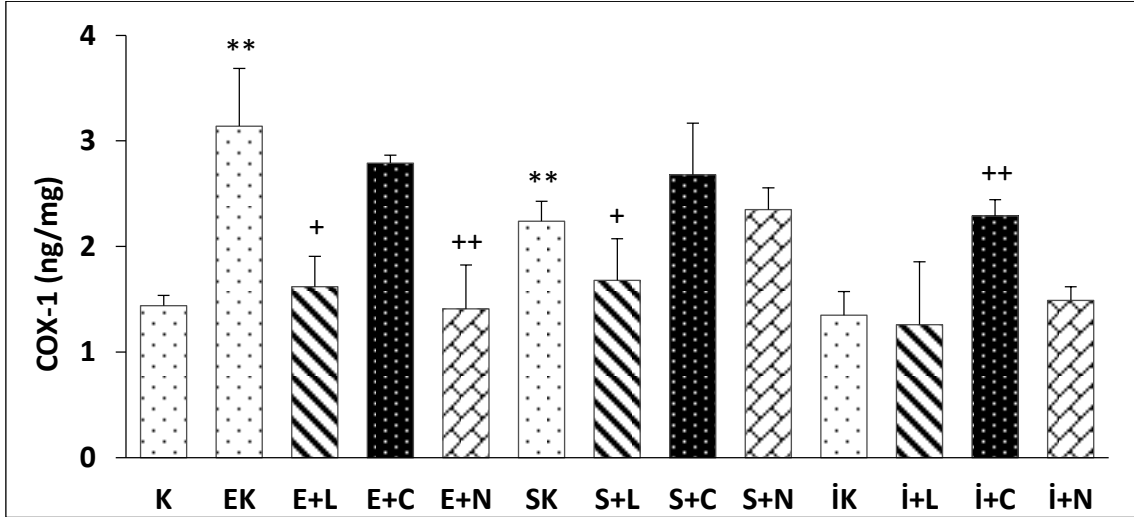
Şekil 4.7. MDA değerleri (pmol/mg) (K;Kontrol; E;Etanol, L;L-Arginin, C;CORM-2, N;NaHS, S;Stres, İ;Indometasin). Kontrol grubuna göre; \*\*:  $p<0,01$ ; Kendi kontrol grubuna göre; +:  $p<0,05$ , ++:  $p<0,01$ .

GSH değerini her üç grup da anlamlı derecede değiştirmemiştir ( $p>0.05$ ). Stres grubunda NO ( $p<0.05$ ), GSH değerini anlamlı derecede azaltmış, diğer ajanlar GSH değerlerinde anlamlı bir değişikliğe neden olmamışlardır ( $p>0.05$ ) (Şekil 4.8).



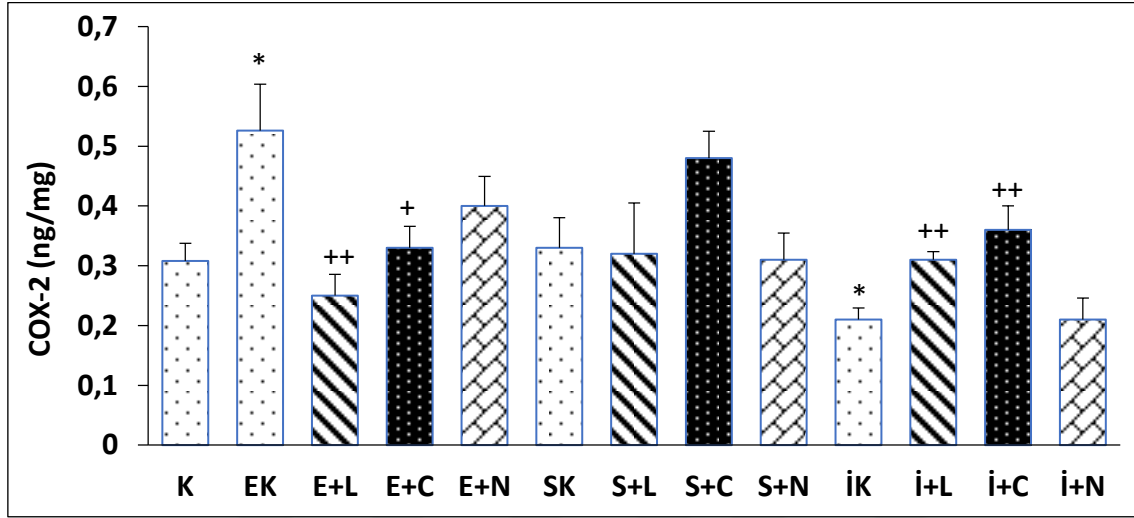
Şekil 4.8. GSH değerleri (ng/mg) (K;Kontrol; E;Etanol, L;L-Arginin, C;CORM-2, N;NaHS, S;Stres, İ;İndometasin). Kendi kontrol grubuna göre; +: $p<0,05$ .

COX-1 değerini etanol ( $p<0.01$ ) ve stress ( $p<0.01$ ) anlamlı olarak artırmıştır. Etanol grubunda NO ( $p<0.05$ ) ve H<sub>2</sub>S ( $p<0.01$ ), COX-1 değerlerini anlamlı olarak azaltmıştır. Stress grubunda sadece NO ( $p<0.05$ ) COX-1 değerini azaltmıştır. İndometasin grubunda ise sadece CO ( $p<0.01$ ) COX-1 değerini anlamlı olarak artırmıştır (Şekil 4.9).



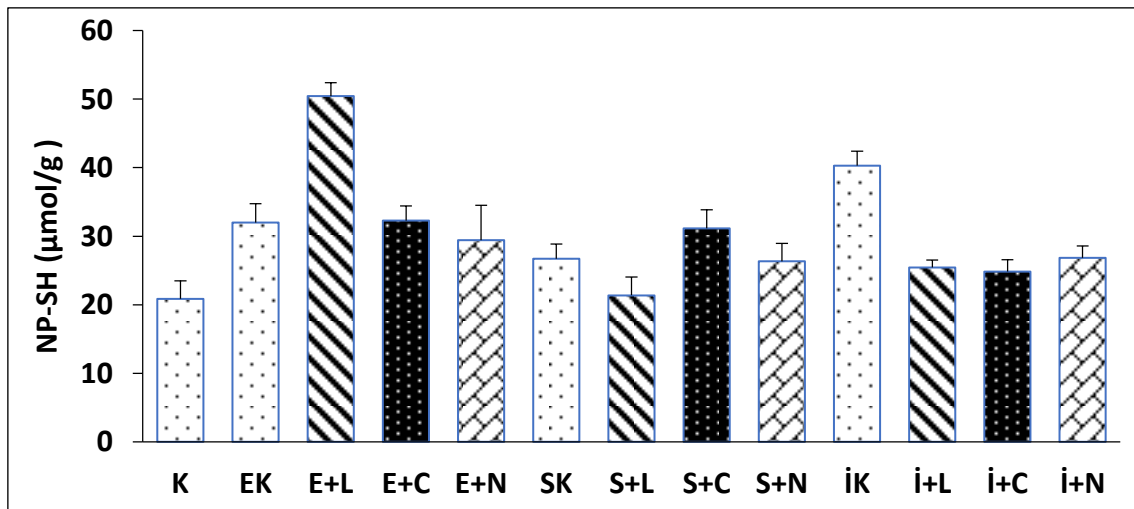
Şekil 4.9. COX-1 değerleri (ng/mg) (K;Kontrol; E;Etanol, L;L-Arginin, C;CORM-2, N;NaHS, S;Stres, İ;İndometasin). Kontrol grubuna göre; \*\*:  $p<0,01$ ; Kendi kontrol grubuna göre; +: $p<0,05$ , ++: $p<0,01$ .

COX-2 değerini etanol ( $p<0.05$ ) anlamlı derecede artırmış, indometasin ( $p<0.05$ ) ise anlamlı derecede azaltmıştır. NO ( $p<0.01$ ) ve CO ( $p<0.05$ ) etanol ülseri grubundaki COX-2 değerini anlamlı olarak azaltmıştır. Stress grubunda NO, CO ve H<sub>2</sub>S anlamlı bir değişikliğe sebep olmamıştır ( $p>0.05$ ). NO ( $p<0.05$ ) ve CO ( $p<0.01$ ) indometasin ülseri grubunda COX-2 değerini anlamlı derecede arttırmıştır (Şekil 4.10).



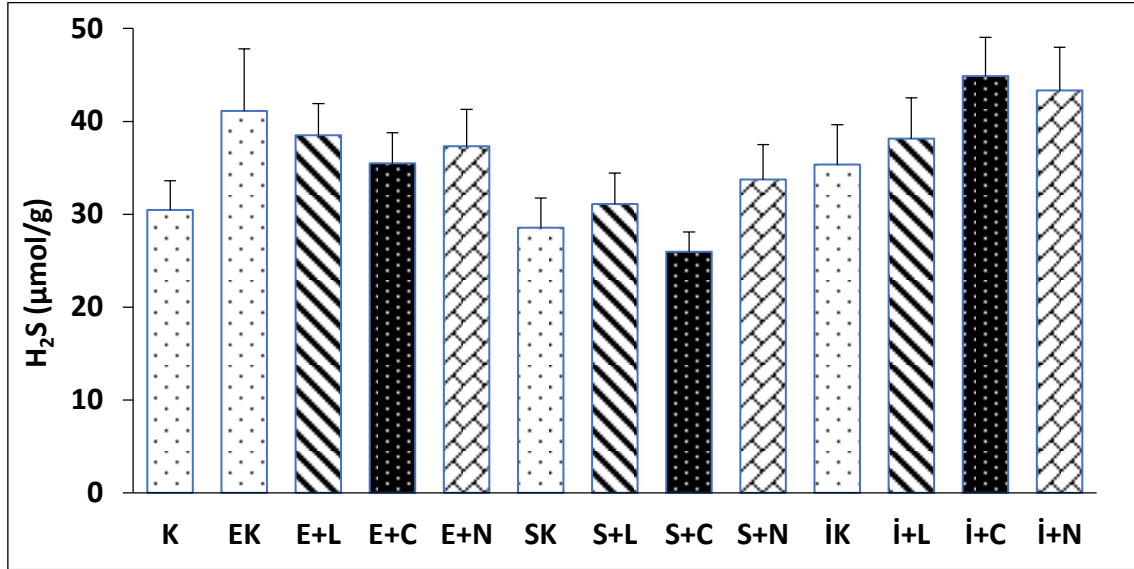
Şekil 4.10. COX-2 değerleri (ng/mg) (K;Kontrol; E;Etanol, L;L-Arginin, C;CORM-2, N;NaHS, S;Stres, I;Indometasin). Kontrol grubuna göre \*: $p<0,05$ ; Kendi kontrol grubuna göre +: $p<0,05$ , ++:  $p<0,01$ .

NP-SH değerini yalnızca etanol ( $p<0.05$ ) anlamlı olarak artırmıştır. Diğer ülser gruplarında anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir ( $p>0.05$ ) (Şekil 4.11).



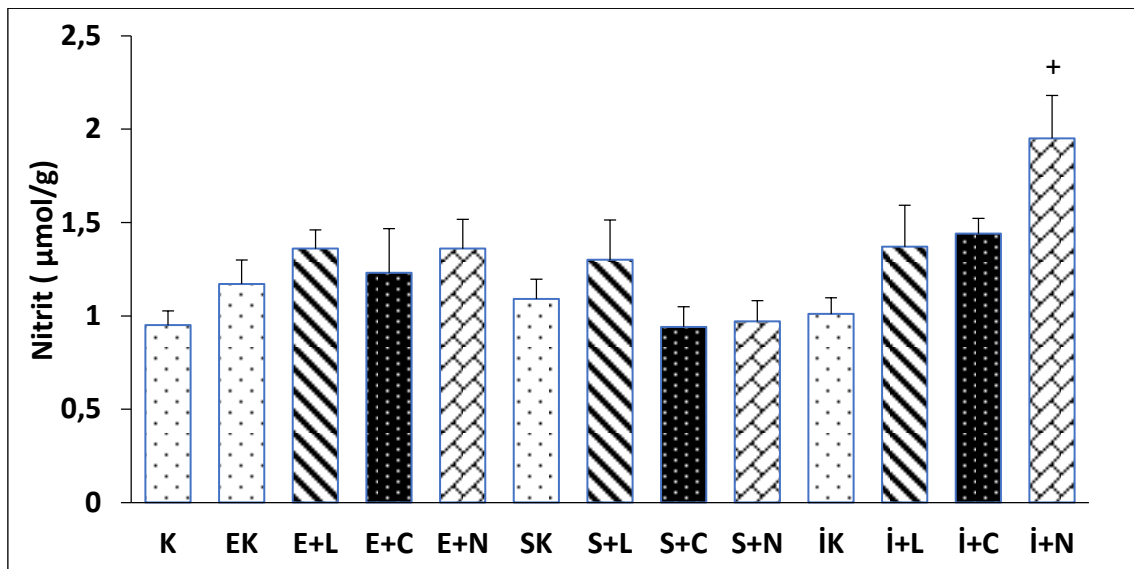
Şekil 4.11. NP-SH değerleri (µmol/g) (K;Kontrol; E;Etanol, L;L-Arginin, C;CORM-2, N;NaHS, S;Stres, I;Indometasin). Kontrol grubuna göre \*: $p<0,05$ .

H<sub>2</sub>S değerinde hiçbir grup anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır ( $p>0.05$ ) (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. H<sub>2</sub>S değerleri (µmol/g) (K;Kontrol; E;Etanol, L;L-Arginin, C;CORM-2, N;NaHS, S;Stres, İ;İndometasin).

Her üç grup da nitrit değerini anlamlı olarak değiştirmemiştir ( $p>0.05$ ). İndometasin grubunda H<sub>2</sub>S ( $p<0.05$ ), nitrit değerini anlamlı derecede arttırmış, diğer gruplarda anlamlı herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir ( $p>0.05$ ) (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. Nitrit değerleri (µmol/g) (K;Kontrol; E;Etanol, L;L-Arginin, C;CORM-2, N;NaHS, S;Stres, İ;İndometasin). Kontrol grubuna göre +: $p<0,05$ .

## 5. TARTIŞMA

Çalışmamızda üç farklı deneysel ülser modeli üzerinde karşılaştırdığımız üç farklı gaz mediyatörün genelde koruyucu etkilerinin olabileceğini gösterdik. Bu üç deneysel model sıklıkla ülserlere neden olan faktörlerin modelleri olarak stres, etanol ve aspirin-benzeri ilaçlar olarak seçilmiştir. Özellikle CO ve H<sub>2</sub>S'in etanolle oluşturulan ülserlere karşı koruyucu etki gösterdiği bulunmuştur.

Peptik ülser hastalığı dünyada yaşam kalitesini bozan en önemli hastalıklardandır. En sık görülen nedenler *Helicobacter pylori* enfeksiyonu ve non-steroid antiinflamatuvar ilaç (NSAİİ) kullanımınıdır. Günümüzde NSAİİ ilaçlara bağlı mide ülseri, *H.pylori*'ye bağlı görülen mide ülserinden daha sık görülmektedir. Tüm ülserlerin %15 i *H.pylori* ye bağlı oluşur. Bu kronik hastalığın gelişmesinde ekzojen ve endojen agresif ve koruyucu faktörler ile arasındaki dengenin bozulmasının yattığı bildirilmektedir. Agresif faktörler arasında asit ve pepsin salgılanması, *Helicobacter pylori*, ilaçlar özellikle (NSAİİ), mukozal kan akımında azalma, koruyucu faktörler arasında da mukozal kan akımı ve mukus üretiminde artma, bikarbonat, prostaglandinler, nitrik oksit ve sülfhidril grupları bulunmaktadır. (Kangwan, Park, Kim & Hahm, 2014, Ribeiro, A. R. S., Diniz, P. B., Pinheiro, M. S., Albuquerque-Júnior, R. L., & Thomazzi, S. M. (2016).

Etanol ile oluşan ülserlerin ortaya çıkış mekanizmalarına bakıldığında oksidatif stres, inflamasyon, gastrik mukus ve prostaglandin üretiminde azalma gibi faktörlerin yer aldığı görülmektedir (Alqasoumi, Al-Sohaibani, Al-Howiriny, Al-Yahya & Rafatullah, 2009). Ayrıca etanolün oksidatif strese bağlı olarak gastrik mukozada apoptotik hücre ölümüne yol açtığı da bildirilmektedir (El-Maraghy, Rizk & Shahin, 2015; Karakaya vd., 2015; Khalil, 2015).

Stres ülserlerinde ise genellikle vazokonstriksiyona bağlı olarak mide mukozasındaki mikrosirkülasyonun bozulması, gastrik asit salgılanmasında değişiklikler ve gastrik motilitenin bozulmasının rolü olduğu bildirilmektedir (Allen & Flemstrom, 2005; Levenstein, Kaplan & Smith, 1995). Ayrıca iskemi

sonucunda serbest oksijen radikalleri seviyelerinin ve lipid peroksidasyonunun artması (Das & Banerjee, 1993) yanında prostaglandin sentezinin azalması (Govindarajan vd., 2006) da önemli faktörler arasında bulunmaktadır.

NSAİİ'lerin aşırı kullanımına bağlı gastrik kanama, bu ilaçların en önemli komplikasyonudur. NSAİİ'lara bağlı oluşan gastrik ülserlerin nedeni, COX-1 inhibisyonuna bağlı gastrik koruyuculuğun kaybıdır. COX-1 birçok dokuda bulunmaktadır. Mide mukozasının korunmasında rolü olan mukozal prostaglandin üretimini sağlamaktadır. Bunun yanında mide mukozasında mukus ve bikarbonat sekresyonu artışına yol açmaktadır (Sostres, Gargallo, Arroyo & Lanas, 2010). İndometasin NSAİİ'ler içinde en çok ülserasyona yol açan ajan olarak bilinmektedir. Bunun nedenleri arasında reaktif oksijen radikallerinin yayılması, lipid peroksidasyonunun başlatılması, lökosit infiltrasyonu, apoptozun indüklenmesi ve prostaglandin biyosentezinin inhibisyonu gibi faktörler bulunmaktadır (Bech vd., 2000). Reaktif oksijen radikallerinin yayılması sırasında NADPH oksidazlar (NOX) da katkıda bulunmaktadır (Bedard & Krause, 2007). Aspirinin gastrik ülser oluşturmasındaki majör faktör olarak NOX upregülasyonu yapması üzerinde de durulmaktadır (Liu vd., 2012).

Bizim çalışmamızda; Etanol ile indüklenen ülser modelinde ülser indeksinin anlamlı derecede arttığını görmekteyiz. Total asidite, TNF-alfa, MDA, COX-1, COX-2 ve NP-SH değerlerine bakıldığında artış görülmektedir. Total asidite artışı yanında, lipid peroksidasyonun artması olarak değerlendirilen MDA artışı ve COX-1 deki artış buna yol açmış olabilir. Muhtemelen bir rebound etki olarak değerlendirilebilecek NP-SH grubunda görülen artış bu etkide bir düzelleme sağlamaya yetmemiştir.

Ülser indeksinin stres ülserinde kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede arttığını gözlemlemekteyiz. Stres grubunda mukus değerinde artma görülmesine rağmen serbest ve total asidite, TNF-alfa, PGE<sub>2</sub>, MDA, GSH, COX-2 değerlerinde anlamlı bir değişiklik görmemekteyiz. Mukus değerinin ve COX-1 artmasına rağmen ülser indeksindeki artış asiditeden, oksidan

parametrelerden ve COX düzeylerinde herhangi bir değişimin olmamasından kaynaklanıyor olabilir.

İndometasin ülserinde ise ülser indeksi ve serbest asidite kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede artmıştır. COX-2 değeri anlamlı olarak azalmıştır. Serbest asidite değerlerinde artma, PGE<sub>2</sub> değerlerinde azalma saptanmıştır. Total asidite, MDA, TNF-alfa, GSH ve COX-1 değerlerinde de anlamlı bir değişiklik görülmemektedir.

Ülser tedavisinde en önemli strateji *H.pylori* eradikasyonu ve mide asidinin azaltılmasıdır. Tedavide ilk seçenek ilaçlar, proton pompa inhibitörleridir. Bu ilaçlar midedeki asit salgısını azaltarak mide duvarındaki yıkıcı etkinin ortadan kalkmasına yardımcı olmaktadır. Bunun yanı sıra *H.pylori* eradikasyonunda kullanılan antibiyotik tedavisi sonucunda ülserde iyileşme ve ülser nükslerinde azalma meydana gelmektedir. Ayrıca mukoza koruyucu diğer ilaçlar da ülserde iyileşme meydana getirmektedirler (Oppong, Majumdar, Atherton & Bebb, 2015).

Peptik ülserin tedavisiyle ilgili çok sayıda araştırma yapılmıştır. Özellikle tedavideki başarısızlıklar yeni ilaçlar ve yeni koruyucu maddelerin aranmasına neden olmuştur. Bunun için sıçanlarda oluşturulan ülser modellerinde çok sayıda koruyucu madde denenmiş ve sonuçları karşılaştırılmıştır. Bunlardan en önemli olanları gaz otakoidlerdir. NO, CO ve H<sub>2</sub>S çeşitli medikal amaçlarla kullanılan gaz mediyatörlerdir (Farrugia, & Szurszewski, 2014). NO'in gastroprotektif etki gösterdiği bilinmektedir (Zádori vd., 2014). Son zamanlarda CO ve H<sub>2</sub>S'in gastroprotektif etkileri ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır (De Araújo vd., 2018).

Günümüzde NO'in mukozal savunmada rol oynadığı bilinmektedir ve gastrointestinal sistemde prostaglandinlerle benzer özellikler sergilemektedir (Moncada & Higgs, 1991). Mukozal kan akımını, mukus ve bikarbonat salgılarını artırdığı ve mide dokusu zedelendiğinde doku onarımını indüklediği bildirilmiştir (Takeuchi, Ueki & Okabe, 1986; Takeuchi, Ohuchi, & Okabe, 1994; Hirata, Ukawa, Yamakuni, Kato & Takeuchi, 1997; Takeeda, Yamato, Kato, & Takeuchi, 2003). Ek olarak, COX-2'den üretilen PG'lerin, mide



ülserlerinin ve bağırsak lezyonlarının iyileşmesinde çok önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Wang, Yamasaki, Takeuchi & Okabe, 1989; Mizuno vd., 1997; Araki vd., 2002). Birçok çalışmada, endojen NO'nin mide ülserlerinin iyileşmesindeki rolü incelenmiştir ve iyileşme sürecinde bu molekülün de aktif olarak yer aldığı öne sürülmüştür (Konturek, Brzozowski, Majka, Pytko-Polonczyk & Stachura, 1993; Takeuchi, Kato, Nishiwaki, & Hirata, 1997; Araki vd., 2002).

Karbon monoksit (CO), hidrojen sülfür (H<sub>2</sub>S) ve Nitrik Oksit (NO), GI kanalındaki birçok fizyolojik işlevi etkileyen endojen gaz otakoidler olarak kabul edilmiştir. (Gibbons, Verhulst, Bharucha, & Farrugia, 2013). Hem parçalanması; hem oksijenaz (HO) enzimi tarafından katalize edilen reaksiyon yoluyla CO, biliverdin ve demirin (Fe<sup>++</sup>) üretimine yol açar. Her üç molekülün de antioksidan, antiinflamatuvar ve antiapoptotik etkilere sahip olduğu, safra sekresyonunun modülasyonu, diyabet ve obezitenin metabolik düzenlenmesi, duodenal HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> iyonlarının salgılanmasına katıldığı gösterilmiştir (Farrugia & Szurszewski, 2014).

Şimdiye kadar üç HO izozimi tanımlanmıştır. HO-1 adı verilen HO'nun ilk izoformu, ağır metaller, UV radyasyonu, hipoksi, hiperoksi, infeksiyonlar, hem kendi substratları ve hem de hemoglobinler gibi çok sayıda uyarıcı tarafından indüklenebilir. İzofom HO-2, çoğu dokularda yapısal olarak ifade edilirken, yakın zamanda keşfedilen üçüncü bir HO, henüz bilinmeyen bir işleve sahiptir. Ek olarak, ksenobiyotiklerden, lipid peroksidasyonu ve bağırsak bakterilerinin metabolik aktivitesi sonucu da bir miktar CO'nin oluşabildiği kanıtlanmıştır. HO-1 enziminin karsinogenezde ve mide korunmasında çok önemli bir rolünün olduğu bildirilmektedir (Magierowska vd., 2015).

Hidrojen sülfür, gastrointestinal mukozal savunma ve onarımın korunmasına katkıda bulunur. Aynı zamanda, vasküler endotele lökosit yapışmasının engellenmesi ve inflamasyon bölgelerine lökosit göçünün önlenmesini sağlayarak anti-inflamatuvar etki de göstermektedir. Endojen hidrojen sülfür sentezinin inhibisyonu da mukozal bütünlüğün kaybına ve

mukozal inflamasyonun artmasına neden olmaktadır. Bu nedenle, hidrojen sülfürün, mukozal savunmanın düzenlenmesi ve inflamasyonun azaltılması açısından nitrik oksit ve prostaglandinlerle benzer özelliklere sahip olduğu görülmektedir. Son kanıtlar, hidrojen sülfürün bu özelliklerinden dolayı gastrointestinal sistemin ülseratif ve inflamatuvar hastalıkları için öngörülen yeni tedavilerin tasarımında kullanılabileceğini göstermektedir (Wallace, Caliendo, Santagada, Cirino & Fiorucci, 2007).

Hidrojen sülfür ( $H_2S$ ), nitrik oksit (NO) ve karbon monoksit (CO), midenin korunmasında ve mukozal savunmada önemli görevleri olan, biyolojik olarak aktif olduğu düşünülen gaz otakoidlerdir. Bu yüzden bu moleküller, gastrik lezyonların önlenmesi veya tedavisi gibi gastrointestinal (GI) sistemle ilgili çalışmaların odağı olmuştur. Özellikle,  $H_2S$ , NO ve CO, gastrik mukozanın savunma faktörlerinin pozitif modülasyonu yoluyla gastroprotektif etkiler göstermektedir. Örneğin,  $H_2S$  prekürsörlerinin anti-oksidan ve anti-inflamatuvar etkileri aracılığıyla lipid peroksidasyonunu önleyerek stres kaynaklı mide ülserlerini azalttığı gözlenmiştir (Magierowski vd., 2018).

NO prekürsörleri, mide mukozasındaki prostaglandin üretimini artırarak koruyucu bir etki sağlamıştır. CO vericiler serbest radikal üretiminin azaltılması yoluyla etanol ile indüklenen mide hasarını azaltmıştır. Ayrıca, AMP ile aktive olan protein kinazın (AMPK), farklı hücre tiplerinde bu gaz otakoidlerin biyolojik aktivitelerinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (De Araújo vd., 2018).

Daha önce yapılan çalışmalar, biyolojik olarak aktif olan gaz otakoidlerin mide mukozal savunma mekanizmasının ayrılmaz bir parçası olduğunu ortaya koymuştur. Son çalışmalar, CO veya  $H_2S$  prekürsörlerinin mide koruyucu etkilerinden dolayı suya daldırma ve immobilizasyon stresi ile indüklenen gastrik lezyonlarda iyileşme sağladığını göstermiştir (Magierowski vd., 2018). Ayrıca NO, CO ve  $H_2S$ 'in, mukozayı etanol, aspirin veya bifosfonatlar gibi topikal etki gösteren nekrotizan ajanlara karşı koruduğu gösterilmiştir (Magierowski vd., 2015). Bizim çalışmamızda ise belirtilen moleküllerin stres, etanol ve NSAİ ilaçla oluşturulmuş ülserlere karşı etkisi karşılaştırıldı.

Böylece gastrik ülser tedavisindeki etkilerinin bu üç ülser çeşidindeki yerleri araştırıldı.

Stres, indometasin ve etanolle oluşturulmuş ülser modelleri ile ilişkili birçok çalışma mevcuttur. Önceki çalışmalar, gastrik mukozada CO ve H<sub>2</sub>S etkisinin ana mekanizmasının, bu gaz medyatörler tarafından mide kan akımının düzenlenmesi ve çözünür guanilat siklaz (sGC) / cGMP'nin aktivitesi ile ilgili olduğunu göstermiştir (Magierowska vd., 2016). Bu nedenle, bu gaz otakoidler, mide mukozasının bütünlüğünün korunmasına ve akut mide lezyonlarına karşı mide koruma mekanizmasına katkıda bulunmaktadır (Magierowski vd., 2018). Bu çalışma, ülser oluşumunun engellenmesinde H<sub>2</sub>S, CO ve NO'in, mide ülseri oluşum sürecine dahil olan mekanizma ve faktörlerin tanımlanması için planlanmıştır.

Gastrik ülser iyileşme süreci; çeşitli moleküler yolların, hormonların ve endojen PG'ler, NO, TGF- $\beta$ , Epitelyal Growth Faktör (EGF)'nin ekspresyonunun artması ve anjiyojenik Vasküler Endotelyal Growth Faktör (VEGFA) artışı gibi fizyolojik faktörlerin aktivitesini de içermektedir (Tarnawski, 2005). Önceki çalışmalar, H<sub>2</sub>S'in anti-inflamatuvar özelliklerinin sıçan midesinde bu gaz molekülünün gastroprotektif aktivitesine katkıda bulunabileceğini belgelemiştir (Wallace vd., 2007, 2015).

H<sub>2</sub>S'in stresle oluşturulmuş ülser modelinde asit salgılanmasını azaltarak ve mukozal bariyeri artırarak koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir (Aboubakr, Taye, El-Moselhy & Hassan, 2013). Başka bir çalışma ise nikotinle oluşturulmuş ülser modelinde, nikotinin ülserojenik etkisini, NO'nun sitoprotektif bir yolla tersine çevirdiğini göstermektedir (Qui, Mei, Liu & Tchou-Wong, 2004). H<sub>2</sub>S'in mide mukozasındaki lipid peroksidasyon ürünlerinin konsantrasyonunu ve stresle oluşturulan ülser modelinde mide mukozasındaki ortalama lezyon sayısını azalttığı gösterilmiştir (Lou, Geng, Du & Tang, 2008).

Wallace vd. H<sub>2</sub>S prekürsörü ile kombinasyon halinde verildiğinde COX inhibitörleri, naproksen veya ASA gibi NSAİİ tarafından indüklenen mide ülserinde H<sub>2</sub>S'in gastrik mukozal lezyonları hafiflettiğini göstermiştir

(Wallace vd., 2007). NSAİİ ve H<sub>2</sub>S kombinasyonlarının, bu ajanların tek başına olan formu ile karşılaştırıldığında GI kanalda yan etkilerin azaldığı gösterilmiştir (Blackler, Syer, Bolla, Ongini & Wallace, 2012). Bu sonuçlar Liu ve ark. tarafından aminosalisilik asitle oluşturulan ülser modelinde H<sub>2</sub>S in ülserasyonu azalttığı gösterilerek doğrulanmıştır (Liu vd., 2012). Stresle oluşturulan deneysel ülser modelinde hem NO hem CO in karşılaştırıldığı bir çalışmada birbirinden bağımsız olarak gastroprotektif etki gösterdikleri saptanmıştır (Magierowska vd., 2016)

Yapılan çalışmalarda etanolle oluşturulan ülser modelinde de çok sayıda madde mide koruyuculuğu açısından değerlendirilmiştir. Etanolle oluşturulan ülser için kurkumin, ghrelin ve timokinon gibi moleküller kullanılmış ve bunların midede koruyucu etkileri olduğu saptanmıştır (Sibilia vd., 2003; Mei, Xu, Xu, Zheng & Xu, 2012; Arslan vd., 2005).

Etanol ülser modelimizde kontrol grubuna göre değerlendirildiğinde etanol; total asidite, TNF-alfa, MDA, COX-1, ve COX-2 ve NP-SH düzeylerini anlamlı olarak artırmıştır.

L-arginin (NO) verdiğimiz grupta ülser indeksinde anlamlı görülmemekle birlikte bir miktar azalma görülmüştür. TNF-alfa, COX-1 ve COX-2 değerlerindeki azalmanın anlamlı derecede olduğu görülmüştür. Ülser indeksi, mukus, PGE<sub>2</sub>, MDA, GSH ve H<sub>2</sub>S değerlerinde anlamlı olmamakla birlikte bir miktar azalma, total ve serbest asidite, nitrit, NP-SH, değerlerinde anlamlı olmamakla birlikte artma gözlenmiştir (Şekil 4.1).

CORM-2 verdiğimiz grupta ülser indeksi azalmıştır. Bu etki TNF-alfa, MDA ve COX-2 değerlerinin azalmasına bağlanabilir. Ancak serbest asidite, PGE<sub>2</sub> ve COX-1 değerlerinde anlamlı değişiklik gözlenmemiştir. Total asiditedeki artışı ise rebound etki olarak değerlendirebiliriz (Şekil 4.1).

H<sub>2</sub>S verdiğimiz grupta; ülser indeksi çok anlamlı şekilde azalmıştır. Mukus değeri çok anlamlı derecede artmış, serbest asidite değeri belirgin değişiklik göstermezken total asidite değeri anlamlı derecede artmıştır. TNF-alfa, MDA ve COX-1 anlamlı derecede azalmıştır. PGE<sub>2</sub>, COX-2 ve GSH değerlerindeki azalma anlamlı bulunmamıştır (Şekil 4.1).

Stres ülseri modelimizde stres ülseri kontrol grubuna göre değerlendirildiğinde; Mide mukusu ve COX-1 düzeyinde anlamlı bir yükselme izlenmiştir (Şekil 4.2, Şekil 4.9).

L-Arginin verdiğimiz grupta ülser indeksinin azaldığı görülmektedir. Ancak bu azalma anlamlı derecede değildir (Şekil 4.1). (Şekil 4.2). TNF-alfa, ve COX-1 değerlerinde anlamlı derecede azalma görülmüş, ancak mukus ve GSH değeri de anlamlı derecede azalmıştır. Bu da mukus ve GSH'ın olumlu etkisini gölgelemiştir. Serbest ve total asidite, PGE<sub>2</sub>, MDA ve COX-2 değerlerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 4.3, 4.10).

CO verdiğimiz grupta ülser indeksi kontrol grubuna göre çok anlamlı artış göstermiştir (Şekil 4.1). GSH de anlamlı olmamakla birlikte artış gözlenmiştir. Bu grupta mukus, serbest ve total asidite, TNF-alfa, PGE<sub>2</sub>, MDA, COX-1, COX-2, NP-SH, Nitrit ve H<sub>2</sub>S değerlerinde anlamlı derecede değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 4.2, 4.10).

H<sub>2</sub>S verdiğimiz grupta ülser indeksi anlamlı olmamakla birlikte artmıştır (Şekil 4.1). Mukus değeri ve total asidite değeri azalmış, MDA, serbest asidite, TNF-alfa, PGE<sub>2</sub>, GSH, COX-1 ve COX-2 değerlerinde değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 4.1, 4.10).

İndometasin ülseri modelimizde indometasin ülseri kontrol grubuna göre değerlendirildiğinde; serbest asidite anlamlı olarak artmış, COX-2 değeri ise azalmıştır (Şekil 4.4, 4.10)

L-arginin verdiğimiz grupta ülser indeksinde artış görülmüştür (Şekil 4.1). Mukus ve total asidite değerlerinde değişiklik gözlenmemiş (Şekil 4.2, 4.3), serbest asidite değerleri çok anlamlı derecede azalmıştır (Şekil 4.4). TNF-alfa, MDA, GSH ve COX-1 değerlerinde değişiklik gözlenmemiştir. PGE<sub>2</sub> değerinin artmasıyla birlikte COX-2 değerleri de artmıştır (Şekil 4.5, 4.10).

CO verilen grupta; ülser indeksinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 4.1). Mukus ve total asidite değerlerinde anlamlı olmamakla birlikte artış görülmüştür (Şekil 4.2, 4.3). PGE<sub>2</sub>, COX-1 ve COX-2 değerlerinde artış gözlenmiş (Şekil 4.6-4.9-4.10); Serbest asidite, TNF-alfa,

MDA ve GSH değerlerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 4.4, 4.5, 4.7, 4.8).

H<sub>2</sub>S verilen grupta ülser indeksi anlamlı bir şekilde değişmemiştir (Şekil 4.1). Mukus ve PGE<sub>2</sub> değerleri çok anlamlı derecede artmış(Şekil 4.2-4.6), total asidite ve nitrit değerlerinde de artış gözlenmiştir (Şekil 4.3-4.13). Serbest asidite, TNF-alfa, GSH, MDA, COX-1 ve COX-2 değerlerinde anlamlı değişiklikler gözlenmemiştir (Şekil 4.5, 4.7, 4.8, 4.9, 4.10).

CORM-2 ve NaHS'nin etanol ile indüklenen ülserlere karşı gastroprotektif aktivite gösterdiği bulunmuştur. NaHS ile etanol grubunda mukus sekresyonunun indüksiyonu ve total asidite artışı (Şekil 4.2, 4.3); MDA ve COX-1 seviyelerinin azalması gözlenmiştir (Şekil 4.7, 4.9) . Stres grubunda L-arginin ile mukus, TNF-alfa, GSH ve COX-1 düzeylerinin azaldığı belirlenmiştir (Şekil 4.2, 4.5, 4.8,4.9)

İndometasin ülserinde, asiditenin artması belirgin olarak ülserasyonu artırmıştır (Şekil 4.1). COX-2 anlamlı derecede azalmıştır (Şekil 4.10). Ancak bu ajanların hiçbiri, indometasinin neden olduğu ülserlere karşı gastroprotektif aktivite göstermemiştir. Çünkü indometasinin ülserasyona yol açan nedenleri arasında lipid peroksidasyonu ve reaktif oksijen radikallerinin üretiminin artması, lökosit infiltrasyonu, apoptozun indüklenmesi ve prostaglandin biyosentezinin inhibisyonu gibi faktörler bulunmaktadır (Bech vd., 2000). L-arginin, indometasinin yol açtığı üserasyonu daha da artırmıştır (Şekil 4.1). Bunda COX-2 düzeylerindeki artışın önemli katkısı olabileceği dikkat çekmektedir (Şekil 4.10). Kullanılan ajanların hiçbirinin COX-2 üzerinde inhibitör etkilerinin bulunmaması bu sonucu desteklemektedir. Hatta L-arginin ve CORM-2, COX-2 üretimini anlamlı olarak artırmıştır (Şekil 4.10). L-arginin, CORM-2 ve NaHS ise PGE<sub>2</sub> seviyelerini arttırdığı gözlenmiştir (Şekil 4.6). Ancak bu etkiler indometasin ile uyarılan gastrik ülserleri korumak için yeterli bulunamamıştır.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Günümüzde ülser önemli ve oldukça sık karşılaşılan bir hastalık olarak karşımıza çıkmaktadır. Tedavi için şimdiye kadar birçok molekül geliştirildiyse de bir kısmı ciddi yan etki profilleri nedeniyle kullanıma sunulmadı, bir kısmı kullanıma sunuldu fakat tekrar toplatıldı, bir kısmı ise hala kullanılmaya devam etmektedir.

Tedavide kullanılan ajanların hiçbirisi masum olmamakla birlikte yarar/zarar oranına bakılarak kullanılmaya devam edilmektedir. Çalışmamızda belki de etkinliği aynı veya daha yüksek olan ve yan etki profili çok daha iyi olan yeni moleküllerin geliştirilmesine ışık tutabilmeyi ve üç farklı ülser modelinde üç farklı ajanın etkilerini değerlendirerek bu etkilere geniş bir perspektiften bakabilmeyi amaçladık.

Çalışmada etanol, indometasin ve stres (soğuk+immobilizasyon) ile üç farklı ülser modeli oluşturulmuş ve bu ülser modelleri üzerinde nitrik oksit, hidrojen sülfür ve karbonmonoksit; ülser indeksi, mukus değeri, PGE<sub>2</sub>, TNF-alfa, MDA, GSH, COX-1 ve COX-2 değerleri açısından değerlendirilmiştir. Elde edilen verilere göre aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır:

Bizim çalışmamızda; Etanol ile indüklenen ülser modelinde ülser indeksinin anlamlı derecede arttığını görmekteyiz (Şekil 4.1). Total asidite, TNF-alfa, MDA, COX-1 ve COX-2 değerlerine bakıldığında artış görülmektedir.

Stres ülserinde ülser indeksinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığını gözlemlemekteyiz. Stres grubunda mukus ve COX-1 değerlerinde artma görülmesine rağmen serbest ve total asidite, TNF-alfa, PGE-2, MDA, GSH ve COX-2 değerlerinde anlamlı bir değişiklik görmemekteyiz. Mukus değerinin artmasına rağmen ülser indeksindeki artış asiditenin yüksek olmasına bağlanabilir,

İndometasin ülserinde ise ülser indeksi kontrol grubuna göre anlamlı derecede artmıştır. Serbest asiditede artma, COX-2 değerlerinde azalma

görmekteyiz. PGE<sub>2</sub>, TNF-alfa, GSH ve COX-1 değerlerinde ise anlamlı bir değişiklik görülmemektedir.

CORM-2 ve NaHS'nin etanol ile indüklenen ülserlere karşı gastroprotektif aktivite gösterdiği bulunmuştur. Stres grubunda CORM-2 ülserasyonu daha da artırmıştır. İndometasin grubunda, asiditenin artması belirgin olarak ülserasyonu artırmıştır. Bu ajanların hiçbiri, indometasinin neden olduğu ülserlere karşı gastroprotektif aktivite göstermemiştir. L-arginin indometasinin yol açtığı ülserasyonu daha da artırmıştır. COX-2 düzeylerindeki artışın önemli katkısı olabileceği dikkat çekmektedir. Kullanılan ajanların hiçbirinin COX-2 üzerinde inhibitör etkilerinin bulunmaması bu sonucu desteklemektedir. Hatta L-arginin ve CORM-2, COX-2 üretimini anlamlı olarak artırmıştır. L-arginin, CORM-2 ve NaHS'nin ise PGE<sub>2</sub> seviyelerini arttırdığı izlenmiştir. Ancak bu etkiler indometasin ile oluşturulan gastrik ülserleri korumak için yeterli olmamıştır.

Sonuç olarak ülser oluşumunu etkileyen faktörlerin çeşitliliği ve kullanılan ajanların olumlu faktörler yanında olumsuz faktörlerde de istenmeyen yönde oluşturabildikleri etkiler bu ajanların gastroprotektif etkilerini kısmen maskeleymiştir. Bu çalışmadan elde edilen en önemli sonuç etanole bağlı olarak oluşan ülserler üzerinde her üç ajanın da gastroprotektif etki gösterebildiği oysa indometasin ile oluşturulan ülserlerde ise koruyucu etkilerinin olmadığı hatta NO'nin bunu daha da artırabildiğidir. Gastroprotektif etkilerini değerlendirmeyi hedeflediğimiz bu ajanlar ile ilgili daha ileri, geniş çaplı çalışmalar yapılmalıdır. Yan etki profilleri de iyi belirlenmelidir. Bu çalışmalar yapıldığı takdirde belki de mide koruyucu etkinliği daha iyi olan ve yan etkileri piyasadaki güncel ilaçlardan daha az olan yeni moleküller ortaya çıkarılabilir.

Bu ajanların yine çeşitli ülser modelleri üzerinde doz-bağımlı çalışmalarını da yapılmalıdır. Bizim denediğimiz veya yapılan çalışmalarda kullanılan dozlardan daha farklı dozlarda etki ve yan etki profillerinin nasıl değiştiği gözlenmelidir. Daha yüksek veya daha düşük dozlarda çok farklı ve yararlı etkiler elde edilebilir.



## 7. KAYNAKLAR

- Aase, S., Roland, M., Liavåg, I., & Dahl, E.** (1985). Stereological analysis of human parietal cells before and 6 months after vagotomy. *Scand J Gastroenterol.* 20(3): 257-67.
- Aboubakr, E. M., Taye, A., El-Moselhy, M. A., & Hassan, M. K.** (2013). Protective effect of hydrogen sulfide against cold restraint stress-induced gastric mucosal injury in rats. *Archives of pharmacal research*, 36(12): 1507-1515.
- Allen, A., & Flemstrom, G.** (2005). Gastroduodenal mucus bicarbonate barrier: protection against acid and pepsin. *Am J Physiol Cell Physiol* 288(1): C1–C19.
- Al-Moutairy, A. R., & Tariq, M.** (1996). Effect of vitamin E and selenium on hypothermic restraint stress and chemically-induced ulcers. *Dig Dis Sci* 41(6): 1165-1171.
- Alqasoumi, S., Al-Sohaibani, M., Al-Howiriny, T., Al-Yahya, M., & Rafatullah, S.** (2009). Rocket "Eruca sativa": a salad herb with potential gastric anti-ulcer activity. *World J Gastroenterol.* 28;15(16): 1958-1965.
- Araki, K., Ohno, S., Egashira, A., Saeki, H., Kawaguchi, H., & Sugimachi, K.** (2002). Pathologic features of superficial esophageal squamous cell carcinoma with lymph node and distal metastasis. *Cancer*, 94(2): 570-575.
- Arıncı, K.** (2006). *Anatomi 2. cilt: Dolaşım sistemi, periferik sinir sistemi, merkezi sinir sistemi, duyu organları.* Güneş kitabevi.
- Armstrong, C. P., & Blower, A. L.** (1987). Non-steroidal anti-inflammatory drugs and life threatening complications of peptic ulceration. *Gut*, 28(5): 527-532.
- Arslan, S. O., Gelir, E., Armutcu, F., Coskun, O., Gurel, A., Sayan, H., & Celik, I. L.** (2005). The protective effect of thymoquinone on ethanol-induced acute gastric damage in the rat. *Nutrition Research*, 25(7): 673-680.
- Bech, P.L., Xavier, R., Lu, N., Nanda, N. N., Dinauer, M., Podolsky, D. K., & Seed, B.** (2000). Mechanism of NSAID-induced gastrointestinal injury defined using mutant mice. *Gastroenterology*, 119: 699–705.
- Bedard, K., & Krause, K.H.** (2007). The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology, *Physiol. Rev.* 87(1): 245-313.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Blackler, R., Syer, S., Bolla, M., Ongini, E., & Wallace, J. L.** (2012). Gastrointestinal-sparing effects of novel NSAIDs in rats with compromised mucosal defence. *PLoS ONE*, 7(4): e35196.
- Brooks, F. P.** (1985). The pathophysiology of peptic ulcer disease. *Digestive diseases and Sciences*, 30(11): 15-29.
- Chan, F. K., & Leung, W. K.** (2002). Peptic-ulcer disease. *The Lancet*, 360(9337): 933-941.
- Chávez-Pina, A. E., Tapia-Alvarez, G. R., & Navarrete, A.**(2010). Inhibition o Endogenous Hydrogen Sulfide Synthesis by PAG Protects Against Ethanol-Induced Gastric Damage in The Rat. *Eur. Journal of Pharmacology* 25;630(1-3); 131-136.
- Coşkun, Ö., Kanter, M., Armutçu, F., Çetin, K., Kaybolmaz, B., & Yazgan, Ö.** (2004). Protective effects of quercetin, a flavonoid antioxidant, in absolute ethanol-induced acut gastric ulcer. *Eur J Gen Med*, 1(3): 37-42.
- Das, D., & Banerjee, R.** (1993). Effect of stress on the antioxidant enzymes and gastric ulceration. *Mol Cell Biochem*, 125(2): 115-125.
- De Araújo, S., Oliveira, A. P., Sousa, F. B., Souza, L. K., Pacheco, G., Filgueiras, M. C., Nicolau, L. A. D., Brito, G. A. C., Cerqueira, G. S., Silva, R. O., Souza, M. H. & Medeiros, J. V. R.** (2018). AMPK activation promotes gastroprotection through mutual interaction with the gaseous mediators H<sub>2</sub>S, NO, and CO. *Nitric Oxide*, 78: 60-71.
- De La Lastra, C. A., Motilva, V., Martin, M. J., Nieto, A., Barranco, M. D., Cabeza, J., & Herrerías, J. M.** (1999). Protective effect of melatonin on indomethacin-induced gastric injury in rats. *Journal of pineal research*, 26(2): 101-107.
- De La Lastra, C. A., Barranco, M. D., Motilva, V., & Herrerías, J. M.** (2001). Mediterranean diet and health: biological importance of olive oil. *Curr Pharm Des.* 7(10): 933-950.
- Dixon, M. F.** (1994). Pathophysiology of Helicobacter pylori infection. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 29(sup201): 7-10.
- Djahanguiri, B., Hemmati, S., Sadeghi, D., & Firouzabadi, A.** (1967). The prevention of acute gastric ulcer in the rat by α-methyl dopa. *Pharmacology*, 17(5): 427-433.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- El-Ashmawy, N., Khedr, E. G., El-Bahrawy, H. A., & Selim, H. M.** (2016). Nebivolol Prevents Indomethacin-Induced Gastric Ulcer in Rats. *Journal of Immunotoxicology*, 13(4): 580-589.
- El-Maraghy, S. A., Rizk, S. M., & Shahin, N. N.** (2015). Gastroprotective effect of crocin in ethanol-induced gastric injury in rats. *Chemico-biological interactions*, 229: 26-35.
- Eswaran, S., & Roy, M. A.** (2005). Medical management of acid-peptic disorders of the stomach. *Surgical Clinics*, 85(5): 895-906.
- Farrugia, G., & Szurszewski, J. H.** (2014). Carbon monoxide, hydrogen sulfide, and nitric oxide as signaling molecules in the gastrointestinal tract. *Gastroenterology*, 147(2): 303-313.
- Garrick, T., Buack, S., & Bass, P.** (1986). Gastric motility is a major factor in cold restraint-induced lesion formation in rats. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 250(2): 191-199.
- Gibbons, S. J., Verhulst, P. J., Bharucha, A., & Farrugia, G.** (2013). Review article: carbon monoxide in gastrointestinal physiology and its potential in therapeutics. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 38(7): 689–702.
- Gottlieb, J. E., Menashe, P. I., & Cruz, E.** (1986). Gastrointestinal complications in critically ill patients: the intensivists' overview. *American Journal of Gastroenterology*, 81(4): 227-238.
- Govindarajan, R., Vijayakumar, M., Singh, M., Rao, ChV., Shirwaikar, A., Rawat, A. K., & Pushpangadan, P.** (2006). Antiulcer and antimicrobial activity of *Anogeissus latifolia*. *J Ethnopharmacol* 106(1): 57–61.
- Guidobono, F., Netti, C., Pagani, F., Bettica, P., Sibilia, V., Pecile, A., & Zanelli, J.** (1991). Effect of unmodified eel calcitonin on gastric acid secretion and gastric ulcers in the rat. *Farmaco*, 46(4): 555-563.
- Hirata, T., Ukawa, H., Yamakuni, H., Kato, S., & Takeuchi, K.** (1997). Cyclo-oxygenase isozymes in mucosal ulcerogenic and functional responses following barrier disruption in rat stomachs. *British journal of pharmacology*, 122(3): 447-454.
- Højgaard, L., Nielsen, A. M., & Rune, S. J.** (1996). Peptic ulcer pathophysiology: acid, bicarbonate, and mucosal function. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 31(sup216): 10-15.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Kangwan, N., Park, J. M., Kim, E. H., & Hahm, K. B.** (2014). Quality of healing of gastric ulcers: natural products beyond acid suppression. *World journal of gastrointestinal pathophysiology*, 5(1): 40-47.
- Karakaya, K., Barut, F., Hanci, V., Can, M., Comert, M., Ucan, H. B., Cakmak, G. K., Irkorucu, O., Tascilar, O., & Emre, A. U.** (2015). Gastroprotective effects of CoQ10 on ethanol-induced acute gastric lesions. *Bratisl. Lek. Listy* 116: 51-56.
- Katarzyna, M., Anna, S., Zielinska-Blizniewska, H., & Ireneusz, M.** (2018). An Evaluation of the Antioxidant and Anticancer Properties of Complex Compounds of Copper (II), Platinum (II), Palladium (II) and Ruthenium (III) for Use in Cancer Therapy. *Mini Rev Med Chem*, 18(16): 1373-1381.
- Kayaalp, S. O.** (Ed.). (2012). *Akılclı Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji kitabı*. 2. Cilt (13. Baskı). Ankara: Pelikan Yayıncılık.
- Khalil, S. M.** (2015). The postulated mechanism of the protective effect of ginger on the aspirin induced gastric ulcer: histological and immunohistochemical studies. *Histol. Histopathol.* 30: 855-864.
- Kılıç, F. S., Sirmagül, B., Batu, Ö., & Erol, K.** (2006). Dose-Dependent Effects of Verapamil on Ethanol-Induced Gastric Lesions in Rats. *Journal of Health Science*, 52(6): 781-786.
- Kılıçarslan, H., Kalyon, S., & Yenice, N.** (2011). Peptik ülser etyopatogenezi. *Okmeydanı Tıp Dergisi*, 27(2): 65-69.
- Komkova, O. P., Podvigina, T. T., & Filaretova, L. P.** (2017). Transformation Of Gastroprotective Effect Of Stress In Proliferogenic Consequence: Development Of Experimental Models. *Rossiiskii fiziologicheskii zhurnal imeni IM Sechenova*, 103(2):182-192.
- Konturek, S. J., Brzozowski, T., Majka, J., Pytko-Polonczyk, J., & Stachura, J.** (1993). Inhibition of nitric oxide synthase delays healing of chronic gastric ulcers. *European journal of pharmacology*, 239(1-3): 215-217.
- Kourounakis, P. N., Tsiakitzis, K., Kourounakis, A. P., & Galanakis, D.** (2000). Reduction of gastrointestinal toxicity of NSAIDs via molecular modifications leading to antioxidant anti-inflammatory drugs. *Toxicology* 144(1-3): 205-210.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- La Casa, C., Villegas, I., De La Lastra, C. A., Motilva, V., & Calero, M. M.** (2000). Evidence for protective and antioxidant properties of rutin, a natural flavone, against ethanol induced gastric lesions. *Journal of ethnopharmacology*, 71(1-2): 45-53.
- Lanas-Gimeno, A., & Lanas, A.** (2017). Risk of gastrointestinal bleeding during anticoagulant treatment. *Expert opinion on drug safety*, 16(6): 673-685.
- Langman, M. J. S., Weil, J., Wainwright, P., Lawson, D. H., Rawlins, M. D., Logan, R. F., Murphy M, Vessey MP, & Colin-Jones, D. G.** (1994). Risks of bleeding peptic ulcer associated with individual non-steroidal anti-inflammatory drugs. *The Lancet*, 343(8905): 1075-1078.
- Lau, W. Y., Yuen, W. K., Chu, K. W., Poon, G. P., & Li, A. K.** (1992). Obscure bleeding in the gastrointestinal tract originating in the small intestine. *Surgery, gynecology & obstetrics*, 174(2): 119-124.
- Levenstein, S., Kaplan, G., & Smith, M.** (1995). Sociodemographic characterized, life stressor and peptic ulcer. A prospective study. *J Clin Gasrtroenterol*, 21: 185-192.
- Liu, L., Cui, J., Song, C. J., Bian, J. S., Sparatore, A., Soldato, P. D., Wang, X. Y., & Yan, C. D.** (2012). H(2)S-Releasing Aspirin Protects against Aspirin-Induced Gastric Injury via Reducing Oxidative Stress. *PLoS ONE*, 7(9): e46301.
- Lou, L. X., Geng, B., Du, J. B., & Tang, C. S.** (2008). Hydrogen sulfide-induced hypothermia attenuates stress-related ulceration in rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 35(2): 223–228.
- Lüdtke, F. E., Maierhof, S., Köhler, H., Bauer, F. E., Tegeler, R., Schauer, A., & Lepsien, G.** (1991). Helicobacter pylori colonization in surgical patients. *Der Chirurg; Zeitschrift fur alle Gebiete der operativen Medizen*, 62(10): 732-738.
- Lüdtke, F. E., & Nustede, R.** (1996). Gastrointestinal Tract. *Essentials of Experimental Surgery: Gastroenterology*. Netherland: Harwood Academic Publishers.
- Magierowska, K., Magierowski, M., Hubalewska-Mazgaj, M., Adamski, J., Surmiak, M., Sliwowski, Z., Kwiecien, S., & Brzozowski, T.** (2015). Carbon monoxide (CO) released from tricarbonyldichlororuthenium (II) dimer (CORM-2) in gastroprotection against experimental ethanol-induced gastric damage. *PLoS One*. 13(10)10: e0140493.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Magierowska, K., Magierowski, M., Surmiak, M., Adamski, J., Mazur-Bialy, A. I., Pajdo, R., Sliwowski, Z., Kwiecien, S., & Brzozowski, T.** (2016). The protective role of carbon 23 monoxide (CO) produced by heme oxygenases and derived from the CO-releasing molecule CORM-2 in the pathogenesis of stress-induced gastric lesions: evidence for non-involvement of nitric oxide (NO). *Int. J. Mol. Sci.*, *17*(4): 442.
- Magierowski, M., Magierowska, K., Kwiecien, S., & Brzozowski, T.** (2015). Gaseous mediators nitric oxide and hydrogen sulfide in the mechanism of gastrointestinal integrity, protection and ulcer healing. *Molecules*. *20*(5): 9099-9123.
- Magierowski, M., Magierowska, K., Szmyd, J., Surmiak, M., Sliwowski, Z., Kwiecien, S., & Brzozowski, T.** (2016). Hydrogen Sulfide and Carbon Monoxide Protect Gastric Mucosa Compromised by Mild Stress Against Alendronate Injury. *Dig Dis Sci.*, *61*(11): 3176-3189.
- Magierowski, M., Hubalewska-Mazgaj, M., Magierowska, K., Wojcik, D., Sliwowski, Z., Kwiecien, S., & Brzozowski, T.** (2018). Nitric oxide, afferent sensory nerves, and antioxidative enzymes in the mechanism of protection mediated by tricarbonyldichlororuthenium (II) dimer and sodium hydrosulfide against aspirin-induced gastric damage. *J. Gastroenterol.*, *53*(1): 52-63.
- Mard, S. A., Neisi, N., Solgi, G., Hassanpour, M., Darbor, M., & Maleki, M.** (2012). Gastroprotective effect of NaHS against mucosal lesions induced by ischemia-reperfusion injury in rat. *Dig Dis Sci.*, *57*(6): 1496-1503.
- Mard, S. A., Ashabi, A., Badavi, M., & Dianat, M.** (2014). Protective effects of vitamin B6 alone and in combination with L-cysteine and NaHS on ethanol and indomethacin-induced gastric lesions in mice. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, *18*(3): 253-258.
- Marrone, G. C., & Silen, W.** (1984). Pathogenesis, diagnosis and treatment of acute gastric mucosal lesions. *Clinics in gastroenterology*, *13*(2): 635-650.
- Mei, X., Xu, D., Xu, S., Zheng, Y., & Xu, S.** (2012). Novel role of Zn (II)-curcumin in enhancing cell proliferation and adjusting proinflammatory cytokine-mediated oxidative damage of ethanol-induced acute gastric ulcers. *Chemico-biological interactions*, *197*(1): 31-39.
- Mertz, H. R., & Walsh, J. H.** (1991). Peptic ulcer pathophysiology. *Medical Clinics of North America*, *75*(4): 799-814.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Mizuno, H., Sakamoto, C., Matsuda, K., Wada, K., Uchida, T., Noguchi, H., Akamatsu, T., & Kasuga, M.** (1997). Induction of cyclooxygenase 2 in gastric mucosal lesions and its inhibition by the specific antagonist delays healing in mice. *Gastroenterology*, *112*(2): 387-397.
- Moncada, S., & Higgs, E. A.** (1991). Endogenous nitric oxide: physiology, pathology and clinical relevance. *European journal of clinical investigation*, *21*(4): 361-374.
- Nomenoğlu, T., Yılmaz, T., & Demirel, E.** (2017). Sinir Sistemindeki Gaz Yapıda Aracı Moleküller: Nitrik Oksit, Hidrojen Sülfür ve Karbonmonoksit. *Turkiye Klinikleri Journal of Neurology*, *12*(3): 71-88.
- O'Connor, A., & O'Moráin, C.** (2014). Digestive function of the stomach. *Digestive diseases*, *32*(3): 186-191.
- Oppong, P., Majumdar, D., Atherton, J., & Bebb, J.** (2015). Helicobacter pylori infection and peptic ulcers. *Medicine*, *43*(4): 215-222.
- Peek, R. M., & Blaser, M. J.** (1997). Pathophysiology of Helicobacter pylori-induced gastritis and peptic ulcer disease. *The American journal of medicine*, *102*(2): 200-207.
- Qui, B. S., Mei, Q. B., Liu, L., & Tchou-Wong, K. M.** (2004). Effects of nitric oxide on gastric ulceration induced by nicotine and cold-restraint stress. *World journal of gastroenterology*, *10*(4): 594-597.
- Ribeiro, A. R. S., Diniz, P. B., Pinheiro, M. S., Albuquerque-Júnior, R. L., & Thomazzi, S. M.** (2016). Gastroprotective effects of thymol on acute and chronic ulcers in rats: the role of prostaglandins, ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels, and gastric mucus secretion. *Chemico-biological interactions*, *244*, 121-128.
- Saxena, B., & Singh, S.** (2017). Comparison of three acute stress models for simulating the pathophysiology of stress-related mucosal disease. *Drug discoveries & therapeutics*, *11*(2): 98-103.
- Schoen, R. T., & Vender, R. J.** (1989). Mechanisms of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced gastric damage. *The American journal of medicine*, *86*(4): 449-458.
- Sener-Muratoglu, G., Paskaloglu, K., Arbak, S., Hurdag, C., & Ayanoglu-Dulger, G.** (2001). Protective effect of famotidine, omeprazole and melatonin against acetylsalicylic acid-induced gastric damage in rats. *Dig Dis Sci*, *46*(2): 318-330.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Sırmagül, B., Kılıç, F. S., Batu, Ö., & Erol, K.** (2004). The Effects of Verapamil on Stress- and Histamine-Induced Gastric Lesions in Rats. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, 26(10): 763-767.
- Sibilia, V., Rindi, G., Pagani, F., Rapetti, D., Locatelli, V., Torsello, A., Campanini, N., Deghenghi, R., & Netti, C.** (2003). Ghrelin protects against ethanol-induced gastric ulcers in rats: studies on the mechanisms of action. *Endocrinology*, 144(1): 353-359.
- Silverstein, F. E., Faich, G., Goldstein, J. L., Simon, L. S., Pincus, T., Whelton, A., Makuch, R., Eisen, G., Agrawal, N. M., Stenson, W. F., Burr, A. M., Zhao, W. W., Kent, J. D., Lefkowitz, J. B., Verburg, K. M., & Geis, G. S.** (2000). Gastrointestinal toxicity with celecoxib vs nonsteroidal anti-inflammatory drugs for osteoarthritis and rheumatoid arthritis: the CLASS study: a randomized controlled trial. *Jama*, 284(10): 1247-1255.
- Siobhan, M.** (2014). *Gastrointestinal system. Knottenbelt and Pascoe's color atlas of diseases and disorders of the horse. 2nd ed. China: Elsevier. p, 1-83.*
- Song, Z. J., Ng, M. Y., Lee, Z. W., Dai, W., Hagen, T., Moore, P. K., Huang, D., Deng, L. W., & Tan, C. H.** (2014). Hydrogen sulfide donors in research and drug development. *MedChemComm*, 5(5): 557-570.
- Sostres, C., Gargallo, C. J., Arroyo, M. T., & Lanas, A.** (2010). Adverse effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs, aspirin and coxibs) on upper gastrointestinal tract. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 24(2): 121–132.
- Soybel, D. I.** (2005). Anatomy and physiology of the stomach. *Surgical Clinics*, 85(5): 875-894.
- Spechler, S. J.** (2003). Clinical manifestations and esophageal complications of GERD. *The American journal of the medical sciences*, 326(5): 279-284.
- Szabo, S.** (1991). Gastroduodenal mucosal injury, acute and chronic pathways, mediators and mechanisms. *J Clin Gastroenterol*, 13(Suppl 1): 1-8.
- Takeeda, M., Yamato, M., Kato, S., & Takeuchi, K.** (2003). Cyclooxygenase isozymes involved in adaptive functional responses in rat stomach after barrier disruption. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 307(2): 713-719.



KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Takeuchi, K., Ueki, S., & Okabe, S.** (1986). Importance of gastric motility in the pathogenesis of indomethacin-induced gastric lesions in rats. *Digestive diseases and sciences*, 31(10): 1114-1122.
- Takeuchi, K., Ohuchi, T., & Okabe, S.** (1994). Endogenous nitric oxide in gastric alkaline response in the rat stomach after damage. *Gastroenterology*, 106(2): 367-374.
- Takeuchi, K., Kato, S., Nishiwaki, H., & Hirata, T.** (1997). Analysis of pathogenic elements involved in gastric lesions induced by non-steroidal anti-inflammatory drugs in rats. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 12(5): 360-367.
- Talley, N. J., & Phillips, S. F.** (1988). Non-ulcer dyspepsia: potential causes and pathophysiology. *Annals of Internal Medicine*, 108(6): 865-879.
- Tarnawski, A.** (2005). Cellular and molecular mechanisms of gastrointestinal ulcer healing. *Dig. Dis. Sci.* 50(Suppl 1): 24-33.
- Thun, M. J., Henley, S. J., & Patrono, C.** (2002). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs as anticancer agents: mechanistic, pharmacologic, and clinical issues. *Journal of the National Cancer Institute*, 94(4): 252-266.
- Uc, A., Zhu, X., Wagner, B. A., Buettner, G. R., & Berg, D. J.** (2012). Heme Oxygenase 1 is protective against non-steroidal anti-inflammatory drug-induced gastric ulcers. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 54(4): 471-476.
- Utkan, N. Z., Canturk, N. Z., Candan, F., Duzcan, E., Yildirim, C., Dulger, M., & Goz, S.** (1994). The role of oxygen free radicals and radical scavengers in ethanol induced gastric mucosal damage in rats. *Turkish Journal of Surgery*, 10(6): 336-340.
- Wallace, J. L., Blackler, R. W., Chan, M. V., Da Silva, G. J., Elsheikh, W., Flannigan, K. L., Gamaniek, I., Manko, A., Wang, L., Motta, J. P., & Buret, A. G.** (2015). Anti-inflammatory and cytoprotective actions of hydrogen sulfide: translation to therapeutics. *Antioxidants & redox signaling*, 10;22(5): 398-410.
- Wallace, J. L., Caliendo, G., Santagada, V., Cirino, G., & Fiorucci, S.** (2007). Gastrointestinal safety and anti-inflammatory effects of a hydrogen sulfide-releasing diclofenac derivative in the rat. *Gastroenterology*, 132(1): 261-271.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Wang, J. P., Yamasaki, S., Takeuchi, K., & Okabe, S.** (1989). Delayed healing of acetic acid-induced gastric ulcers in rats by indomethacin. *Gastroenterology*, *96*(2): 393-402.
- Wolfe, M. M., & Soll, A. H.** (1988). The physiology of gastric acid secretion. *The New England journal of medicine*, *319*(26): 1707-1715.
- Yoshikawa, T., Naito, Y., Ueda, S., Oyamada, H., Takemura, T., Yoshida, N., Sugino S, & Kondo, M.** (1990). Role of oxygen-derived free radicals in the pathogenesis of gastric mucosal lesions in rats. *Journal of clinical gastroenterology*, *12*(Suppl 1): 65-71.
- Yuan, Y., Padol, I. T., & Hunt, R. H.** (2006). Peptic ulcer disease today. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, *3*(2): 80-89.
- Zádori, Z. S., Tóth, V. E., Fehér, Á., Philipp, K., Németh, J., & Gyires, K.** (2014). Evidence for the gastric cytoprotective effect of centrally injected agmatine. *Brain Research Bulletin*, *108*:51-59.
- Zhao, W., Zhang, J., Lu, Y., & Wang, R.** (2001). The vasorelaxant effect of H<sub>2</sub>S as a novel endogenous gaseous KATP channel opener. *The EMBO journal*, *20*(21): 6008-6016.

Özgeçmiş

### **Bireysel Bilgiler**

Adı-Soyadı : Dudu Selcen KOCA YILDIZ  
Doğum tarihi ve yeri : 05/04/1988- Eskişehir  
Uyruğu : T.C.  
Medeni durumu : Evli  
İletişim adresleri : Selçuklu Mahallesi 1380. Sokak Derya Evler B  
Blok A Girişi No:9 Afyonkarahisar Merkez

### **Eğitim Durumu**

09/1994-06/2002 : Afyon Bolvadin Kocatepe İlköğretim Okulu  
09/2002-06/2006 : Afyon Bolvadin M.H.G Anadolu Öğretmen Lisesi  
09/2006-06/2011 : Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

**Mesleki Deneyim** : 10/2011-07/2018 : Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri  
Üniversitesi Hastanesi Hastane Eczacılığı

08/2018-halen : Afyon Selcen Eczanesi sahibi ve mes'ul müdürü olarak görev  
yapmaktayım.

### **Üye Olunan Bilimsel Kuruluşlar:**

**Yayımlar** :

### **Bilimsel Etkinlikler**

Burslar :

Ödüller :

Projeler :

Sözlü Konferans veya Seminerler :

Kurslar ve Eğitim Programları



