



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL STRES MODELİYLE İNDÜKLENEN GASTRİK
LEZYONLARA KARŞI *Lactobacillus rhamnosus*'un
KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MUSAP IŞIK

DANIŞMAN

PROF.DR. İRFAN DEĞİRMENCİ

ARALIK 2016



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL STRES MODELİYLE İNDÜKLENEN GASTRİK
LEZYONLARA KARŞI *Lactobacillus rhamnosus*'un
KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MUSAP IŞIK

DANIŞMAN

PROF.DR. İRFAN DEĞİRMENCİ

Bilimsel Araştırma Projesi; Proje No:2016-937

KABUL VE ONAY SAYFASI

Musap IŞIK'in Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı "Deneysel Stres Modeli İle İndüklenen Gastrik Lezyonlara Karşı *Lactobacillus rhamnosus*'un Koruyucu Etkilerinin Araştırılması" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirerek "KABUL" edilmiştir.

22.12.2016

Üye : Prof.Dr. Hasan Veysi GÜNEŞ

Üye : Prof.Dr. İrfan DEĞİRMENCİ (Danışman)

Üye : Yrd.Doç.Dr. Dilek BURUKOĞLU DÖNMEZ

Üye : Yrd.Doç.Dr. M.Cengiz ÜSTÜNER

Üye : Yrd.Doç.Dr. Cansu ÖZBAYER

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 30.12.2016 tarih ve ..114./5318.. sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof Dr. Hasan Veysi GÜNEŞ
Enstitü Müdürü

ÖZET

Bu çalışmada sıçanlarda deneysel stres modeli ile indüklenen gastrik lezyonlara karşı probiyotik *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103)' nin koruyucu etkileri araştırılmıştır.

Bu çalışmada sağlıklı, 8-9 aylık ve ortalama 420 gr ağırlığında *Wistar albino* erkek sıçanlar arasından rastgele seçimle her birinde n=7'şer sıçan olmak üzere toplam 6 grupta toplam 42 adet sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi'nden alınmıştır. Deneysel çalışmalar Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır. Sıçanların uyum sağlaması açısından 1 hafta beklenmiştir. Uygulamalar süresince tüm deney hayvanları 12/12 aydınlık/ karanlık ışıklandırması olan, sıcaklığı (22 ± 2 °C) ve nemi (%45- 50) optimize edilmiş odalarda, polikarbonat şeffaf kafeslerde standart pellet yem ile beslenip çeşme suyu verilerek yaşatılmıştır.

Kontrol ve stres grubuna oral yolla 1 hafta boyunca serum fizyolojik (1 ml/gün) verildi. Pantoprazol grubuna oral yolla 1 hafta boyunca 4mg/ml/gün pantoprazol verildi. M1 grubuna 3×10^8 cfu/ml, M5 grubuna 15×10^8 cfu/ml, M10 grubuna 30×10^8 cfu/ml dozda *Lactobacillus rhamnosus* GG oral yolla günde 1 defa 1 hafta boyunca verildi. Kontrol grubunda deney hayvanları 8. gün etik kurallar dahilinde eter anestezisi altında bayıltıldı, intrakardiyak yolla kalpten kan alındı ve bu yolla sakrifiye edildi ve disseksiyon gerçekleştirildi. Kontrol grubu dışındaki tüm gruplar 8. gün 24 saat aç bırakıldı ancak su verilmeye devam edildi, 23. saatin sonunda su verimi durduruldu. 9. gün sıçanlar tel kafesler içinde hareket etmeyecek şekilde (soğuk + immobilizasyon) + 4 °C'de 4 saat tutularak stres ülseri yapıldı ve sonra sıçanlar etik kurallar dahilinde eter anestezisi altında bayıltıldı, intrakardiyak yolla kalpten kan alındı ve bu yolla sakrifiye edildi ve disseksiyon gerçekleştirildi.

Mide dokusunda ülserleşme oranı stres grubunda yüksek oranda (83.5 ± 18.42 mm²) bulunurken M5 grubunda (5.03 ± 4.62 mm²) kontrol grubuna yakın değerde bulundu. Stres grubundaki asidik pH değerini (3.26 ± 0.71) M5 grubunda *Lactobacillus rhamnosus* GG bakterisinin azalttığı (4.75 ± 1.60) görülmüştür. Serumda glukokortikoid (GK) seviyesi stres grubunda (45.76 ± 14.50 ng/L) pantoprazol grubuna göre (26.47 ± 4.84 ng/L) önemli düzeyde yüksek oranda görülmüştür. Mide dokusunda katalaz (KAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve malondialdehit (MDA) seviyelerinde kontrol grubuna göre önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) seviyesinin pantoprazol grubuna (50.04 ± 9.21 U/ml) göre stres (76.52 ± 10.62 U/ml) ve M5 grubunda (76.54 ± 20.37 U/ml) önemli düzeyde yüksek oranda olduğu görülmüştür. Nitrik oksit (NO) seviyesinin M5 grubunda (43.01 ± 8.76 µmol/L) pantoprazol grubuna (24.08 ± 1.21 µmol/L) göre önemli düzeyde yüksek oranda olduğu görülmüştür. Midenin epitel dokusunda yoğun hücresel hasar stres grubunda bulunurken kontrol

grubuna kıyasla midenin epitel dokusunda en az hücresel hasar M5 grubunda görülmüştür. Kontrol grubu ve M5 grubuna ait mide preparatlarında benzer oranda mast hücreleri izlenirken, stres grubunda, kontrol grubu ve M5 grubuna oranla daha fazla sayıda mast hücresi izlenmiştir.

Bu çalışmada stres kaynaklı ülseri önlemede *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) bakterisinin kullanılabileceği gösterilmiştir.

Anahtar kelimeler:

Stres, ülser, probiyotik, laktobasillus, oksidatif stres, antioksidan



SUMMARY

In this study, protective effects of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) were investigated against gastric lesions by induced experimental stress model in rats.

In this study, Wistar albino male rats were used and they were 8-9 months old and had 420 gr weight. Each group had 7 rats and totaly 42 rats used in 6 groups. Rats have been taken from Eskişehir Osmangazi University Medical and Surgical Research Center and the experiment carried out in Eskişehir Osmangazi University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology. Rats were waited to accommodate to their new home for a week. During the practices all experimental animals in polycarbonate cages lived in a room having 12/12 light/dark, (22 ± 2 °C) temperature, (%45- 50) humidity and were given standard pallet feed and tap water.

Control and stress groups were given with saline orally (1ml/per day) for a week. Pantoprazole group were given pantoprazole 4 mg/ml/per day for a week. Bacteria groups were given 3×10^8 cfu/ml (M1 group), 15×10^8 cfu/ml (M5 group), 30×10^8 cfu/ml (M10 group) *Lactobacillus rhamnosus* GG orally for a week. In the control group, the experimental animals were etherized and intracardiac blood taken from the heart and were sacrificed by this way under ether anesthesia on the 8th day within ethic rules and dissection was performed. All groups except the control group were fasted for 24 hours on day 8th, but continued to given water, the water wasn't given at the end of 23 hours. On 9th day rats put to wire nettings as motionless and the wire nettings were put to refrigerator to keep at + 4 ° C for 4 hours (cold + immobilization). After the cold + immobilization the experimental animals were etherized and intracardiac blood taken from the heart and were sacrificed by this way under ether anesthesia on the 8th day within ethic rules and dissection was performed.

In the stomach tissue, ulceration rate was found in high level in stress group (83.5 ± 18.42 mm²) and was found similar to control group in M5 group (5.03 ± 4.62 mm²). *Lactobacillus rhamnosus* GG decreased the acidic pH level of the stress group (3.26 ± 0.71) in the M5 group (4.75 ± 1.60). In the serum, glucocorticoid level was found at a significant level in the serum group (45.76 ± 14.50 ng/L) when compared to the pantoprazole group. In the stomach tissue in levels of catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) was not observed a significant change when compared to the control group. Glutathione peroxidase (GSH-Px) level was found at a significant level in the serum group (76.52 ± 10.62 U/ml) and M5 group (76.54 ± 20.37 U/ml) when compared to the pantoprazole group (50.04 ± 9.21 U/ml). Nitric oxide (NO) level was found at a significant level in the M5 group (43.01 ± 8.76 µmol/L) when compared to the pantoprazole group (24.08 ± 1.21 µmol/L). The most intensive cellular damage in gastric epithelial tissue was found in the stress group and minimum cellular damage in gastric epithelial tissue was observed in the M5 group. In control and M5

groups, mast cells were observed at the similar rate. When compared to the control group and the M5 group, more much mast cells were observed in the stress group, pantoprazole group, M1, and especially M10 group.

In this study, it has been showed that *Lactobacillus rhamnosus GG* (ATCC 53103) can be used to prevent stress-induced gastric ulcer.

Key words:

Stress, ulcer, probiotic, lactobacillus, oxidative stress, antioxidant



İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
SUMMARY	iii
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİL DİZİNİ	ix
TABLO DİZİNİ	xi
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Stres.....	2
2.1.1. Organizmada Oluşan Stres Yanıtı	3
2.1.2. Stres ve Gastrointestinal Sistem	4
2.2. Ülser	5
2.2.1. Ülser Etiyolojisi	5
2.2.2. Ülseratif Kolit	6
2.3. Peptik Ülser	6
2.3.1. Epidemiyoloji.....	7
2.3.2. Etiyopatogenez.....	7
2.3.3. Peptik Ülser Profilaksisi	8
2.3.4. Gastrointestinal Sistem Kanamaları	8
2.3.5. Gastrik Ülser	8
2.3.5.1. Primer Gastrik Ülser	10
2.3.5.2. Sekonder Gastrik Ülser	10
2.3.5.2.1. Stres Ülseri.....	10
2.3.5.2.1.1. Stres Ülseri Profilaksisi	12
2.3.5.2.1.2. Stres Ülseri Etiyolojisi	13
2.3.5.2.1.2.1. Gastrik Asit	14
2.3.5.2.1.2.2. Mast Hücresi	14
2.3.5.2.1.2.3. Histamin	15
2.3.5.2.1.2.4. Heparin	16
2.3.5.2.1.2.5. Motilite	16
2.3.5.2.1.2.6. Mukus	16
2.3.5.2.1.2.7. Lökotrien	16
2.3.5.2.1.2.8. Platelet Aktive Edici Faktör	17
2.3.5.2.1.2.9. Endotelin	17
2.3.5.2.1.2.10. Serotonin ve Epinefrin	17
2.3.5.2.1.2.11. Serbest Oksijen Radikalleri	17
2.3.5.2.1.2.11.1. Nitrik Oksit (NO)	18
2.3.5.2.1.2.11.1.1. Nitrik Oksit'in Negatif ve Pozitif Etkileri.....	20
2.3.5.2.1.2.11.1.2. Nitrik Oksit'in Gastrointestinal Sistemdeki Rolü	22
2.3.5.2.1.2.11.2. Serbest Radikallerin Biyolojik Hedefleri ve Dokular Üzerindeki Etkileri	23
2.3.5.2.1.2.11.2.1. Serbest Radikallerin Zar Lipidleri Üzerine Etkileri ve Lipid Peroksidasyonu.....	23
2.3.5.2.1.2.11.2.2. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri	25
2.3.5.2.1.2.11.2.3. Serbest Radikallerin Karbonhidratlar Üzerine Etkileri	26

2.3.5.2.1.2.11.2.4. Serbest Radikallerin Nükleik Asitler ve DNA Üzerine Etkileri	26
2.3.5.2.1.2.11.3. SOR'nin Neden Olduğu Makromoleküler Değişiklikler	27
2.3.5.2.1.2.11.4. Oksidatif Stres ve Reaktif Oksijen Metabolitlerinin Hastalıklarda Rolü	28
2.3.5.2.2. İlaç İlişkili Ülserler	30
2.3.5.2.3. Sekonder Gastrik Ülserin Diğer Nedenleri	31
2.3.6. Duodenal Ülser	31
2.4. Ülser Marjiniinde Hücreyel Ve Moleküler Olaylar.....	31
2.5. Gastrik Ülserin İyileşme Mekanizması	31
2.5.1. Erken Cevap Genleri: Protoonkogenler.....	33
2.5.2. Anjiogenez ve Anjiogenik Büyüme Faktörü	34
2.5.3. Trombositler.....	35
2.5.4. Isı Şok Proteinleri (HSP) ve HSP70	35
2.5.5. Anneksin-1.....	37
2.5.6. Ekstraselüler Matriks ve Doku Yenilenmesi	37
2.6. Gastrik Mukozanın Savunma Mekanizması	37
2.6.1. Gastrik Mukozal Savunmanın Lokal Mekanizmaları	37
2.6.1.1. Mukus Bikarbonat-Fosfolipit Bariyeri	37
2.6.1.2. Epitelyal Hücreler	38
2.6.1.3. Mukozal Hücre Yenilenmesi	38
2.6.1.4. Mukozal Kan Akımı	39
2.6.1.5. Duyusal Sinirlerin Oluşumu.....	39
2.6.1.6. Prostaglandinler	39
2.6.2. Nörohormonal Mekanizmalar	40
2.6.2.1. Glukokortikoidler.....	40
2.7. Deneysel Ülser Modelleri.....	42
2.8. Antioksidanlar	42
2.8.1. Süperoksit Dismutaz (SOD).....	43
2.8.2. Katalaz (KAT)	44
2.8.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px).....	44
2.8.4. Antioksidanların Etki Mekanizmaları.....	44
2.8.5. Antioksidan Etki Şekli	44
2.8.6. İnsan Sağlığı Üzerinde Antioksidanların Rolü.....	45
2.9. Probiyotikler	45
2.9.1. Probiyotiklerin Etki Mekanizmaları	48
2.9.2. İdeal Bir Probiyotiğin Sahip Olması Gereken Özellikler	48
2.9.3. Probiyotikler İle Yapılan Klinik Çalışmalar	48
2.9.4. Vücudumuzda Bulunan Laktobasillus Türleri	50
2.9.4.1. <i>Lactobacillus rhamnosus GG</i>	50
3. GEREÇ ve YÖNTEM	51
3.1. Gereç	51
3.1.1. Deney Hayvanları.....	51
3.1.2. Probiyotik Bakteri: <i>Lactobacillus rhamnosus GG</i> (ATCC 53103)	51
3.1.3. Kimyasal Maddeler ve Malzemeler	51
3.1.4. Cihazlar.....	53
3.2. Yöntem	56
3.2.1. Bakteri İçeriğinin Hazırlanması	56

3.2.2. Pantoprazol İçeriğinin Hazırlanması	56
3.2.3. Deney Grupları ve Doz Miktarları	56
3.2.4. Deney Hayvanlarından Çalışılacak Örneklerin Alınması	58
3.2.5. Mide Dokusunda Ülserli Alanların Belirlenmesi	58
3.2.6. pH Ölçümü.....	59
3.2.7. Serum Eldesi.....	59
3.2.8. Mide Dokusunda GK, KAT, SOD, GSH-Px, NO, MDA Seviyesinin Belirlenmesi İçin Homojenat Hazırlanması	59
3.2.9. Mide Dokusunda ve Serumda GK Seviyesinin Belirlenmesi.....	59
3.2.10. Mide Dokusunda KAT Seviyesinin Belirlenmesi	62
3.2.11. Mide Dokusunda SOD Seviyesinin Belirlenmesi.....	64
3.2.12. Mide Dokusunda GSH-Px Seviyesinin Belirlenmesi	65
3.2.13. Mide Dokusunda NO Seviyesinin Belirlenmesi.....	66
3.2.14. Mide Dokusunda MDA Seviyesinin Belirlenmesi	67
3.2.15. Mide Dokusunda DNA Fragmantasyon Seviyesinin Belirlenmesi	68
3.2.16. Mide Dokusunda Mukus Seviyesinin Belirlenmesi	70
3.2.17. Mide Dokusunda Histolojik Çalışma.....	71
3.2.18. Mide Dokusunda HSP70 Protein Ekspresyon Seviyesinin Belirlenmesi	72
3.3. İstatistiksel Analiz	76
4. BULGULAR	77
4.1. Mide Dokusunda Ülser Oranına Ait Bulgular.....	77
4.2. pH Değerine Ait Bulgular	81
4.3. Mide Dokusunda ve Serumda GK Seviyesine Ait Bulgular	82
4.4. Mide Dokusunda KAT Seviyesine Ait Bulgular.....	85
4.5. Mide Dokusunda SOD Seviyesine Ait Bulgular	87
4.6. Mide Dokusunda GSH-Px Seviyesine Ait Bulgular	88
4.7. Mide Dokusunda NO Seviyesine Ait Bulgular.....	89
4.8. Mide dokusunda MDA Seviyesine Ait Bulgular	91
4.9. Mide dokusunda DNA Fragmantasyon Seviyesine Ait Bulgular.....	92
4.10. Mide Dokusunda Mukus Seviyesine Ait Bulgular	93
4.11. Mide Dokusunda Histolojik Sonuçlara Ait Bulgular ve Histolojik Skorlama	94
4.12. HSP70 Protein Ekspresyonu Seviyesine Ait Bulgular.....	108
5. TARTIŞMA	111
5.1. Mide Dokusunda Ülser Oranına Ait Bulgular.....	111
5.2. pH Değerine Ait Bulgular	112
5.3. Mide Dokusunda ve Serumda GK Seviyesine Ait Bulgular	112
5.4. Mide Dokusunda KAT Seviyesine Ait Bulgular.....	113
5.5. Mide Dokusunda SOD Seviyesine Ait Bulgular	113
5.6. Mide Dokusunda GSH-Px Seviyesine Ait Bulgular	114
5.7. Mide Dokusunda NO Seviyesine Ait Bulgular.....	114
5.8. MDA Seviyesine Ait Bulgular.....	115
5.9. DNA Fragmantasyon Seviyesine Ait Bulgular	115
5.10. Mide Dokusunda Mukus Seviyesine Ait Bulgular	116
5.11. Mide Dokusunda Histolojik Sonuçlara Ait Bulgular ve Histolojik Skorlama	116
5.12. HSP70 Protein Ekspresyonu Seviyesine Ait Bulgular.....	117

6. SONUÇ	117
7. KAYNAKLAR	120



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1: Tel kafesler içinde immobilizasyon.....	58
Şekil 3.2: Ülser hesaplanmasında kullanılacak fotoğraf tipi.....	58
Şekil 3.3: Jelin hazırlanması.....	74
Şekil 3.4: Western sandwich blotlama.....	76
Şekil 4.1: Kontrol grubu mide örnekleri.....	78
Şekil 4.2: Stres grubu mide örnekleri	78
Şekil 4.3: Pantoprazol grubu mide örnekleri	79
Şekil 4.4: M1 grubu mide örnekleri.....	79
Şekil 4.5: M5 grubu mide örnekleri.....	80
Şekil 4.6: M10 grubu mide örnekleri.....	80
Şekil 4.7: Mide dokusunda ülser oranı (mm ²).....	81
Şekil 4.8: pH değeri.....	82
Şekil 4.9: Mide dokusunda GK seviyesi (ng/L)	84
Şekil 4.10: Serumda GK seviyesi (ng/L)	86
Şekil 4.11: Mide dokusunda KAT seviyesi (ng/ml).....	88
Şekil 4.12: Mide dokusunda SOD seviyesi (ng/ml).....	89
Şekil 4.13: Mide dokusunda GSH-Px seviyesi (U/ml).....	91
Şekil 4.14: Mide dokusunda NO seviyesi (µmol/L).....	93
Şekil 4.15: Mide dokusunda MDA seviyesi (µM)	94
Şekil 4.16: Mide dokusunda DNA fragmentasyon seviyesi (%)	96
Şekil 4.17: Mide dokusunda mukus seviyesi (mg/gr).....	97
Şekil 4.18: Kontrol grubu, midenin epitel dokusunda hücrel hasar.....	98
Şekil 4.19: Stres grubu, midenin epitel dokusunda hücrel hasar	99
Şekil 4.20: Stres grubu midenin epitel dokusunda hücrel hasar.....	99
Şekil 4.21: Stres grubu midenin epitel dokusunda hücrel hasar.....	100
Şekil 4.22: Pantoprazol grubu midenin epitel dokusunda hücrel hasar	101
Şekil 4.23: Pantoprazol grubu midenin epitel dokusunda hücrel hasar.....	101
Şekil 4.24: Pantoprazol grubu midenin epitel dokusunda hücrel hasar.....	102
Şekil 4.25: M1 grubu midenin epitel dokusunda hücrel hasar.....	102
Şekil 4.26: M5 grubu midenin epitel dokusunda hücrel hasar.....	103
Şekil 4.27: M10 grubu midenin epitel dokusunda hücrel hasar.....	104
Şekil 4.28: Kontrol grubu, mast hücre hareketi.....	104
Şekil 4.29: Stres grubu, mast hücre hareketi.....	105
Şekil 4.30: Pantoprazol grubu, mast hücre hareketi.....	105
Şekil 4.31: M1 grubu, mast hücre hareketi.....	106
Şekil 4.32: M5 grubu, mast hücre hareketi.....	106
Şekil 4.33: M10 grubu, mast hücre hareketi.....	107
Şekil 4.34: Mide dokusunda ülserasyon seviyesi	110
Şekil 4.35: Mide dokusunda ödem seviyesi.....	111
Şekil 4.36: Mide dokusunda hücrel hasar seviyesi.....	111
Şekil 4.37: Mide dokusunda hücrel infiltrasyon seviyesi	112

Şekil 4.38: Wester blot analizi ile HSP70 protein ekspresyon görüntüleri.....114
Şekil 4.39: Mide dokusunda HSP70 protein ekspresyonu seviyesi (r/v)...114



TABLolar DİZİNİ

Tablo 4.1: Mide Dokusunda Ülser Oranına Ait İstatistiksel Sonuçlar.....	77
Tablo 4.2: pH Değerine Ait İstatistiksel Sonuçlar.....	82
Tablo 4.3: Mide Dokusunda GK Seviyesine Ait İstatistiksel Sonuçlar.....	83
Tablo 4.4: Serumda GK Seviyesine Ait İstatistiksel Sonuçlar.....	85
Tablo 4.5: Mide Dokusunda KAT Seviyesine Ait İstatistiksel Sonuçlar.....	87
Tablo 4.6: Mide Dokusunda SOD Seviyesine Ait İstatistiksel Sonuçlar.....	89
Tablo 4.7: Mide Dokusunda GSH-Px Seviyesine Ait İstatistiksel Sonuçlar.....	90
Tablo 4.8: Mide Dokusunda NO Seviyesine Ait İstatistiksel Sonuçlar.....	92
Tablo 4.9: Mide Dokusunda MDA Seviyesine Ait İstatistiksel Sonuçlar.....	94
Tablo 4.10: Mide Dokusunda DNA Fragmantasyon Seviyesine Ait İstatistiksel Sonuçlar.....	95
Tablo 4.11: Mide Dokusunda Mukus Seviyesine Ait İstatistiksel Sonuçlar.....	97
Tablo 4.12. Kontrol Grubu Mide Dokusunda Histolojik Sonuçlara Ait Skorlama.....	107
Tablo 4.13. Stres Grubu Mide Dokusunda Histolojik Sonuçlara Ait Skorlama.....	108
Tablo 4.14. Pantoprazol Grubu Mide Dokusunda Histolojik Sonuçlara Ait Skorlama.....	108
Tablo 4.15. M1 Grubu Mide Dokusunda Histolojik Sonuçlara Ait Skorlama.....	109
Tablo 4.16. M5 Grubu Mide Dokusunda Histolojik Sonuçlara Ait Skorlama.....	109
Tablo 4.17. M10 Grubu Mide Dokusunda Histolojik Sonuçlara Ait Skorlama.....	110
Tablo 4.18: Mide Dokusunda HSP70 Protein Ekspresyonu Seviyesine Ait İstatistiksel Sonuçlar.....	113

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

Açıklama

K	Kontrol grubu
S	Stres grubu
P	Pantoprazol grubu
M1	M1 grubu
M5	M5 grubu
M10	M10 grubu
GK	Glukokortikoid
KAT	Katalaz
SOD	Süperoksit dismutaz
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
NO	Nitrik oksit
MDA	Malondialdehit
HCl	Hidroklorik asit
GİS	Gastrointestinal sistem
HPA aksı	Hipotalamus-hipofiz-adrenal aksı
CRH	Kortikotropin salıcı hormon
NSAİİ	Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar
PÜH	Peptik ülser hastalığı
PGE	Prostaglandin
PGÜ	Primer gastrik ülser
SGÜ	Sekonder gastrik ülser
PDGF	Platelet kaynaklı büyüme faktörü

TGF- β	Dönüştürücü büyüme faktörü beta
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
FGF-2	Fibroblast büyüme faktörü 2
NGF	Sinir büyüme faktörü
NANC	Nonadrenerjik ve nonkolinerjik
SOR	Serbest oksijen radikalleri
NAD	Nikotinamid dinükleotid
EGF-R	Endotelyal büyüme faktörü reseptörü
bFGF	Temel fibroblast büyüme faktörü
HGF	Hepatosit büyüme faktörü
İTF	İntestinal trefoil faktörü
HGF-R	Hepatosit büyüme faktörü reseptörü
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
ECM	Ekstraselüler matriks
EPS	Ekzopolisakkarit
PGI-2	Prostasiklin
CGRP	Kalsitonin gen ilişkili peptid
CRF	Kortikotropin salıcı faktör
IGF-1	İnsülin-benzeri büyüme faktörü-1
ILSI	Uluslararası Yaşam Bilimleri Enstitüsü
PDEGF	Platelet kaynaklı endotelyal büyüme faktörü
TGF- α	Reseptör dönüştürücü büyüme faktörü-alfa

TBA	Tiyobarbitürük asit
rpm	Dakikadaki devir sayısı
g/L	Gram/Litre
mg	Miligram
gr	Gram
ml	Mililitre
μ l	Mikrolitre
ng/L	Nanogram/Litre
nm	Nanometre
U/ml	Ünite/mililitre
μ mol/L	Mikromol/Litre
ng/ml	Nanogram/mililitre
mg/gr	Miligram/gram
mg/ml	Miligram/mililitre
mM	Milimolar
mA	Miliamper
V	Volt
r/v	Raw volume
WHO/FAO	Dünya Sağlık Örgütü/Gıda ve İlaç İdaresi

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Stres 21. yüzyılın önemli sorunlarından birisidir ve pek çok hastalığa zemin hazırlamaktadır. Stresin neden olduğu önemli hastalıklardan birisi de stres ülseridir. İlk defa Cushing ve arkadaşları beyin ameliyatlarından sonra akut mide ve duodenum ülseri meydana geldiğini göstermişlerdir ve nöropsişik faktörlere dikkati çekmişlerdir ve bundan sonra stres ülseri konusuna olan ilgi yoğunlaşmıştır (Büyükcoşkun, 2002). Stres ülserleri genellikle sepsis, yanık, santral sinir sistemi travması, solunum güçlüğü, hipotansiyon ve ciddi bir ameliyatı takip eden bir komplikasyon olarak meydana gelen klinik bir olaydır (Levine, 1926).

HCl (hidroklorik asit), reflü olan safra, çeşitli içerikte ve sıcaklıkta yiyecekler, mikroorganizmalar, alkol ve nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar gibi luminal içeriği hasarlayıcı ajanlar ülseri neden olmaktadır ve bu faktörlere karşı çok sayıda gastroduodenal defans bileşeni vardır. Bu komponentler mukus-bikarbonat bariyeri, yüzey epitel hücreleri, mukozanın yenilenmesi, kan akımı, asit-baz dengesi, endojen sülfidril ve epidermal büyüme faktörü gibi bileşenlerdir (Shorrock & Rees, 1988). Stres ve stres ülseri gelişimi arasındaki ilişkiyi açıklayabilmek için deneysel olarak çeşitli yöntemler geliştirilmiştir ve bu yöntemlerden biri de hayvan modelleridir. Deney hayvanları üzerinde stres oluşturma yöntemlerinden bazıları hareketsiz bırakma, soğukta bırakma ve yüzdürmedir (Brodie & Hanson, 1960). Bu yöntemler ile insanlarda stres ülseri etiolojisinin açıklanabileceği düşünülmektedir (Szabo & Cho, 1988).

Bifidobacterium bifidum YIT 10347 probiyotik bakterisi ile *Helicobacter pylori* kaynaklı ülser üzerinde yapılan bir araştırmada kullanılan probiyotik bakterinin *Helicobacter pylori*'nin aktivitesini engellediği ve mukozal gastrik hasarı önlediği kanıtlanmıştır. Usnik asit ile kombinasyon olarak deney hayvanlarına verilen *Lactobacillus casei* probiyotik bakterisinin soğuk + hareketsiz bırakma yöntemiyle stres ülseri yapılan sıçanlarda etkileri araştırılmış ve mukus sekresyonunun artmasını sağlayan prostaglandin seviyesinde artış meydana gelmesini sağladığı görülmüştür. Yapılan bir başka çalışmada *Lactobacillus rhamnosus* GG'nin gastroduodenal hasarlarda iyileşmenin ana etkeni olan yeni damar oluşumunu önemli derecede uyardığı görülmüştür (Lam et al., 2007).

Ülser tedavisinde kullanılan ilaç sayısı oldukça fazladır, bunlardan bazıları antasitler, muskarinik ve histaminik antagonistler, proton pompa inhibitörleridir, ayrıca prostaglandinler de tedavide kullanılmaktadır. Ancak tedaviye yönelik farmakolojik ajanların kullanılmasına rağmen ülser tedavisinde her zaman istenilen sonucu elde etmek mümkün olmamaktadır. Ayrıca bu ajanların aşırı duyarlılık, iktidarsızlık, jinekomasti aritmi, halsizlik ve hematopoetik bozukluklar gibi yan etkilere neden olduğu bilinmektedir. Bu durum ülserin polietiyolojik bir hastalık olduğunu göstermektedir. Bu bakımdan peptik ülser tedavisi nedene yönelik olmalıdır. Ülser tedavisi tıbbın önemli sorunlarından biri olarak karşımıza

çıkılmaktadır ve günümüzde ülserin kalıcı tedavisine yönelik birçok çalışma yapılmaktadır ve daha az yan etkiye sahip alternatif tedavi yöntemlerine acil bir ihtiyaç vardır (www.tfd.org.tr/eski/Aydin2009_kitapcik.pdf, 2009), (Jalilzadeh-Amin, Najarnezhad, Anassori, Mostafavi, & Keshipour, 2015; J.-W. Song et al., 2016).

Lactobacillus rhamnosus bağırsak sisteminin ve vajinal sistemin mikroflorasından birisidir ve gastrik asiditeye karşı dirençlidir ve aynı zamanda safra varlığında da iyi bir gelişim gösterir. Ulaşacağı sisteme nispeten hızlı bir şekilde ulaşır. Bağışıklık yanıtını artırır ve besinlerin alerjik etkilerini azaltır. Fagositozu uyarır. Çeşitli hastalıklarda olumlu yönde bir etkiye sahiptir (Velmani, 2010).

Bu doğrultuda çalışmamızda farklı dozlarda tüketilecek *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG)'nin ve 4mg/ml pantoprazolun mide dokusunda ülser oranına, pH değerine, mide dokusunda ve serumda glukokortikoid seviyesine, mide dokusunda KAT, SOD, GSH-Px, NO, MDA, DNA fragmentasyon, mukus seviyelerine, midenin epitel dokusunda meydana gelecek hücresel hasara ve mast hücre hareketine, mide dokusunda HSP70 protein ekspresyonu seviyesine etkileri araştırılmıştır ve ülserle karşı korumada en uygun bakteri dozunun bulunması amaçlanmıştır ve bakterinin etkileri pantoprazolun etkileri ile karşılaştırılmıştır.

Stres kaynaklı ülser hastalığının tedavisinde ve önlenmesinde probiyotik *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103)'nin kullanılması ile proton pompa inhibitörlerinin yan etkilerinden korunulmuş olacak ve pahalı tedavi yöntemlerine gerek kalmadan klinik bir hastalığın tedavisi ekonomik bir şekilde sağlanmış olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Stres

Stres, sözcük anlamı bakımından Latince "estictia" sözcüğüne dayalıdır. 17. yüzyılda stres sözcüğü "felaket, bela, musibet, dert, keder" gibi farklı anlamlarda kullanılmıştır. 18. ve 19. yüzyıllarda "güç, baskı, zor" gibi değişik anlamlarda objelere, kişilere ve ruhsal yapıya olan baskıyı anlatmak için kullanılmıştır (Erdoğan, Ünsar, & Necdet, 2009).

Lazarus'a göre stres, kişinin karşılaştığı olumsuz durumlardaki kayıplarıdır (Erdoğan et al., 2009). Ivancevich ve Matteson'a göre stres, "duygusal bir durumu ifade ettiği için anlamının açıklanması güçtür" şeklinde açıklanmıştır. Cofer ve Appley strese ilişkin "stresin organizmaya ait olan bir durum olduğu, stresin kişinin çevreyle olan etkileşimini içerdiği, çelişkiyi ve çöküntüyü aynı anda içerebildiği, stres ile algılanabilen bir tehdidin olduğu, organizmanın bütünlüğünü kapsadığı, normal bir şekilde ayarlanabilen bir tepki olmadığı" gibi önemli saptamalar yapmışlardır (Ulusoy, 2015).

Stresin insan üzerindeki etkilerini incelemek üzere ilk bilimsel çalışmaları 1956 yılında Kanadalı bilim adamı Hans Selye yapmıştır ve stres bilimsel ifade olarak ilk kez Hans Selye tarafından tanımlanmıştır. Selye'ye göre stresli bir durumla karşı karşıya kalan canlı organizma bazı tepkiler gösterir. Bu tepki davranışsal, fizyolojik ya da psikolojiktir. Kalp atışında hızlanma, titreme, iştah bozukluğu, aşırı terleme, ağız kuruması, huzursuzluk, sıkıntı, bunaltı, çeşitli ağrılar, yorgunluk ve çökkünlük gibi değişik durumlar meydana gelir. Kişi stresi oluşturan faktörle başa çıkmaya ve ona uyum sağlamaya çalışır ve eğer uyum sağlarsa başlangıçta ortaya çıkan tepki ya da tepkiler kaybolur. Stresin uzun sürmesi durumunda eğer strese karşı uyum sağlanamazsa tükenme başlar, kişi hastalığa yakalanır ve ölebilir (Tuğrul, 2000). Ayrıca Selye stresin etkilerini; a) adrenal bezlerin büyümesi, b) lenf düğümleri, timus ve dalak atrofisi, c) gastrointestinal sistemde (GİS) akut ülserler ya da erozyonlar şeklinde tanımlamıştır (Cho, Koo, Garg, & Ogle, 1992).

Stres, çağımızın en önemli hastalığı olarak kabul edilmektedir. İçinde bulunduğumuz çağın yaşam koşullarında ve özellikle de çalışma yaşamı içerisinde bulunan kişilerin uyum, bütünleşme ve verimliliğini etkileyen temel unsurların başında gelmektedir. Eğer stres aşırı bir şekilde ortaya çıkarsa kişinin bütün biyolojik ve psikolojik kaynaklarını tüketen bir durum olarak değerlendirilir (Ulusoy, 2015). Stres reaksiyonunun santral sinir sistemi, endokrin sistem ve immün sistem arasındaki kompleks bir etkileşimi kapsadığı düşünülmektedir (Cho et al., 1992).

Stres kaynakları özellikleri bakımından 3 grupta toplanır, bunlar; günlük olaylar, yaşamsal olaylar, spesifik yaşam durumlarıdır (Tuğrul, 2000). Stresi belirtilerine göre de fiziksel, duygusal, zihinsel ve sosyal belirtiler olmak üzere 4 grupta toplayabiliriz. Stresin fiziksel belirtilerine örnek olarak baş ağrısı, düzensiz uyku, sırt ağrıları, çene kasılması ya da diş gıcırdatma, döküntü, kas ağrıları, yüksek tansiyon, kalp krizi, aşırı terleme, yorgunluk, kazalarda artış, kabızlık, ishal ve kolit, hazımsızlık ve ülser verilebilir (Ulusoy, 2015).

2.1.1. Organizmada Oluşan Stres Yanıtı

Bütün canlı organizmalar bir iç denge (homeostaz) halinde yaşamlarını sürdürmektedir. Canlılar iç dengeyi sağlamak ve yaşamlarını sürdürebilmek için stres unsurlarıyla başa çıkmalıdır. Canlıların karşılaştığı stres faktörleri iç kaynaklı ve dış kaynaklı olabilir. Bu faktörler fizyolojik, patofizyolojik (inflamasyon, enfeksiyon, yaralanma vb.), metabolik, oksidatif ve çevresel stres faktörleridir.

Çevresel faktörler ksenobiyotikler, sıcaklık, ışık, işitsel ve görsel stres faktörleridir. Yaşamımız boyunca etkileşimde olduğumuz kimyasal ajanlar, tarımda kullanılan herbisit ve insektisitler, ilaç etken maddeleri, UV radyasyon, karsinojen alkaloidler de çevresel stres faktörleri arasında sayılabilir.

Organizmanın stres faktörlerine karşı vereceği yanıt stres faktörünün çeşidine ve ciddiyetine göre farklılık gösterir. Bu ciddiyete göre hücre apoptoz yolunu veya yaşamını sürdürmek için korumacı hücresel yanıtı seçebilir. Hücre tarafından stres faktörüne karşı oluşturulan yanıt ısı şok yanıtı, katlanmamış protein yanıtı ve DNA hasarı gibi yanıtlardır ve bu yanıtlar oksidatif strese karşı oluşabilir. Isı şok yanıtı strese karşı cevaplardan bir tanesidir ve 35°C'nin üzerinde indüklenebileceği gibi kimyasal stres, oksidatif stres ve metal maruziyetine karşı da meydana gelebilir.

Oksidatif stres yanıtı metabolizmanın normal aerobik fonksiyonu sırasında üretilen ve aynı zamanda dış kaynaklı kimyasal ajanların enzimatik indirgenmesi esnasında oluşan serbest oksijen radikallerinin (SOR) hücreyi tehdit eden boyutlarda sentezlenmesine karşı gelişmiş bir hücresel koruma tepkisidir. Metabolizma tarafından yok edilemeyecek miktarda SOR oluşursa DNA, protein ve lipidler önemli derecede zarar görebilir, bu moleküllerin DNA'ya bağlanmaları sonucunda kanser gelişebilir. SOR enzimatik radikal temizleyiciler olan SOD, KAT, GSH-Px ve enzimatik olmayan glutatyon, A,C,E gibi bazı vitaminler ve flavonoidler ile etkisiz hale getirilebilir (Ağuş, 2014).

2.1.2. Stres ve Gastrointestinal Sistem

Stres vücut içi dengeyi önemli derecede tehdit eder ve GİS'in fonksiyonları üzerinde hem kısa hem uzun dönem etkiler gösterir (Konturek, Brzozowski, & Konturek, 2011).

GİS yaklaşık olarak 100 milyon nörondan oluşmaktadır. Bu sistem duysal, motor ve ara nöronları içeren enterik sinir sistemidir. Enterik sinir sistemi ve merkezi sinir sistemi beyin-mide aksını kapsayan sempatik ve parasempatik yol boyunca çift yönlü bir etkileşim içindedir. İç organ duyu stresörleri (inflamasyon, enfeksiyon, kanama) merkeze giden somatik ve visceral yol aracılığı ile merkezi sinir sistemine uzanır, dışa duyarlı stresörler (psikolojik) otonomik eferentleri, hipotalamus-hipofiz- adrenal aksı (HPA aksı) ve ağrı düzenleyici sistemleri içeren duysal motor nöronları aktive eder (Meerveld, Moloney, Johnson, & Vicario, 2016).

Fizyolojik ve psikolojik stres farklı derecelerde otonomik, endokrin ve davranışsal yanıtlar oluşturur. Bu durumda vücut homeostazı tekrar oluşturulmuş olur. Eğer vücut homeostazına bir tehdit algılanırsa hipotalamik-pütiteradrenal (HPA) aksı aktive edilir ve böylece strese karşı bir cevap ortaya çıkar (Ak et al., 2015). Aynı zamanda fizyolojik ve psikolojik stres adaptif tepkileri (allostatik) sinir sisteminin ve HPA aksının aktivasyonu vasıtasıyla uyarır. Ancak iç ortamın kararlılığını korumayı amaçlayan allostatik mekanizmalar uyumsuz olabilir, çünkü aşırı strese maruz kalmak adaptif cevapları bozar ve sonuçta organizmanın hasta olması için zemin hazırlanmış olur. GİS özellikle strese karşı duyarlıdır, bu durum strese duyarlı fonksiyonel rahatsızlıklar, besinlere karşı alerji,

gastroözofajeal reflü hastalığı ve peptik ülser, irritabl bağırsak sendromu, inflamatuvar bağırsak hastalığında gözlemlendiği gibi var olan hastalığın tekrardan ortaya çıkması ya da şiddetlenmesi gibi gastrointestinal rahatsızlıkların yüksek prevalansı ile kanıtlanmıştır (Meerveld et al., 2016), (Konturek et al., 2011).

Gastrointestinal fonksiyonu üzerinde stresin etkileri sağlıklı insanlarda ve hayvanlarda deneysel olarak gösterilmiştir. Bu gastroparezde azalışı, bağırsak motilitesinde ve epitelyal geçirgenlikte artışı, bakteri girişindeki artışı ve viseral duyarlılıktaki artışı kapsamaktadır. Gastrointestinal motor ve duysal fonksiyonlarının stres dağılımının irritabl bağırsak hastalığının patogeneğinde anahtar bir rol oynadığına inanılmaktadır. Kortikotropin salıcı hormon (CRH) beyin-mide aksındaki stres yanıtının ana mediyatörüdür. CRH, hem beyinde hem de nöral hücrelerin, enterokromafin hücrelerin, goblet hücrelerinin ve bağırsıklık hücrelerinin çeperinde eksprese olmuş olan CRH reseptör tip 1 ve CRH reseptör tip 2 aracılığı ile görevini yerine getirir. Stres, kolonik motiliteyi arttıran ve viseral hipersensitiviteye (iç organlardaki aşırı duyarlılık, aşırı uyarılabilirlik) neden olan CRH-1 ve psikolojik olarak miyenterik nöronlar ile nörotransmitter salınımını düzenleyerek CRH-1 aktivasyonunun etkilerini etkisiz hale getiren CRH-2'yi aktifleştirir. CRH aynı zamanda mukus üretimini, demir ve su sekresyonunu arttırarak ve epitelyal geçirgenliği arttırarak bağırsak epitelyal bariyer fonksiyonunu etkiler (Meerveld et al., 2016).

2.2. Ülser

Mide mukozası normal şartlar altında asit-peptik aktiviteden etkilenmemektedir. Kronik hastalık, şok, kurt, travma ve çeşitli organ yetmezliği gibi fiziksel ve psişik stres durumları oluşursa gastroduodenal mukozada otodigesyon gelişebilir. Böyle durumlarda yüzeyde erozyon ya da muskularis mukozayı içine alan ülser oluşumu görülür (Karasu, 2001).

Ülserin meydana gelmesinde indometazin, aspirin gibi nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ), etanol, HCl gibi kimyasallarla etkileşim, serbest radikaller, safra asitleri, proteazlar gibi iç kaynaklı etkenler rol oynamaktadır ve mide iskemisi ya da iskemi reperfüzyonun da ülser oluşumunda rol oynadığı bilinmektedir. Ayrıca çeşitli içerikteki ve sıcaklıktaki yiyecekler ve içecekler, mikroorganizmalar da mukozal hasara yol açarak ülser oluşumuna neden olur (Özer, Akbulut, Gönül, Yetkin, & Çelebi, 2004), (Büyükcoşkun, 2002).

2.2.1. Ülser Etiyolojisi

Ülser hastalığının varlığı uzun yıllardır bilinmesine rağmen etiyolojisi hakkındaki fikirler gün geçtikçe değişmektedir. Hastaların yaklaşık olarak %60-80'inde etiyolojik etkenler bilinmemektedir. Peptik ülser oluşumunda NSAİİ, alkol kullanımı ve stres gibi agresif faktörler etkili bir rol oynayarak

agresif ve koruyucu faktörler arasındaki dengeyi agresif faktörler lehine değiştirirler ve sonuç olarak ülser meydana gelmektedir. Araştırmalar sonucunda uzun süre NSAİİ kullanımının ülser oluşumuna neden olduğu bildirilmiştir.

Stresli bir durum ya da olayla karşılaşan normal insanlarda gastroduodenal hasarın meydana gelme oranı %29,6'dır ve strese duyarlı insanlarda bu oran %80'in üzerindedir ve bu oran stresin ülser etiolojisinde ne kadar önemli olduğunu göstermektedir (www.tfd.org.tr/eski/Aydin2009_kitapcik.pdf, 2009).

GİS'de ortaya çıkan ülserler bölgeye bağlı olarak ülseratif kolit (aşağı bölümde ortaya çıkan) ve peptik ülser (yukarı bölümde ortaya çıkan) şeklinde iki yaygın tipe ayrılabilir.

2.2.2. Ülseratif Kolit

Ülseratif kolit kolon ve rektumun mukozal ve submukozasını etkileyen inflamatuvar kronik bir hastalıktır. Kolonun iç kısmında ülseratif kolit, ülser ve inflamasyon bulunan hastalarda kanlı ishal semptomları, bağırsak hareketi sırasında abdominal krampların ve ayrıca iltihap ve mukus oluşumuna neden olur. Ülseratif kolitli hastalar hiçbir semptom görülmeden değişik zamanlarda kriz nöbetleri geçirirler.

Bu hastalığın belirtileri hafif dereceli, orta dereceli ve ağır dereceli olabilir.

Hafif dereceli belirtiler: Her gün dört kez dışkılamadan daha az dışkılama (kanlı ya da kansız ve sistemik bir rahatsızlık olmadan), normal eritrosit sedimentasyon hızı görülür.

Orta dereceli belirtiler: Her gün minimal sistemik rahatsızlıklarla birlikte dörtten daha fazla dışkılama görülür.

Ağır dereceli belirtiler: Her gün ateş, taşikardi, anemi ve otuzdan daha yüksek eritrosit sedimentasyon hızı gibi sistemik rahatsızlıklar ile birlikte görülen 6'dan daha fazla kanlı dışkılama görülür. (Awaad, El-Meligy, & Soliman, 2013).

2.3. Peptik Ülser

Peptik ülser hastalığı (PÜH), 20. ve 21. yüzyıllarda dünya genelinde bir çok insanı etkileyen ve morbidite ve mortalitenin önemli bir nedeni olan gastrointestinal bir hastalıktır. Epitelyal hücrelerin luminal yüzeyinde gastrik asit ve pepsin ile mukus sekresyonu, bikarbonat sekresyonu, mukozal kan akımı, büyüme faktörleri, endojen sülfidril, prostaglandin (PGE)'ler ve mukozal epitelin tekrar yenilenmesi gibi faktörler arasındaki

dengelesizlik nedeniyle PÜH oluşmaktadır. Bu dengelesizlik hipoksi, safra asitleri, iskemi, NSAİİ, aspirin, *Helicobacter pylori*, besinler, psikolojik stres, sigara ve alkol tüketimi nedeniyle ortaya çıkmaktadır. Bu faktörler nötrofillerin, eozinofillerin ve mast hücrelerinin inflamatuvar etki göstermelerine neden olurlar (Takayama et al., 2016), (Nugroho, Wijayanti, Mutmainah, Susilowati, & Rahmawati, 2016), (Awaad et al., 2013), (Büyükcoşkun, 2002).

Agresif ve koruyucu faktörler arasındaki bu dengelesizlik sonucu asit-pepsin içeren mide sıvısı, mide ve duodenumda musküler mukozayı içine alan ve sınırları belirli doku kaybına neden olur. Bu duruma PÜH denir. PÜH'nin iki tane önemli özelliği vardır, bunlar; asit ve pepsin ile temas eden yerlerde oluşması ve en az muskularis mukozaya kadar ilerlemiş olmasıdır. Muskularis mukozaya kadar inmeyen doku kaybına erozyon denir. Peptik ülser, mide (gastrik) ve duodenum ülseri olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Taş, Ülger, Önder, Kapan, & Bozdağ, 2015), (Erkin, Dokmeci, Altaner, & Turan, 2005).

2.3.1. Epidemiyoloji

PÜH tüm dünyada her ırkta, her iki cinste sık olarak görülen yaygın bir hastalıktır. ABD'de her yıl yarım milyon yeni duodenal ülser tanısı ve doksan bin gastrik ülser tanısı konulmaktadır. Nüfusun yaklaşık olarak %10'u hayatlarının herhangi bir döneminde PÜH'na yakalanmaktadır.

PÜH, 20-60 yaşları arasında çok sık görülür ve yaş ilerledikçe PÜH sıklığı artar. Duodenal ülserler 20-50 yaşları arasında çok sık görülürken mide ülseri 40-70 yaşları arasında çok sık görülür. 20 yaşın altındaki kişilerde de PÜH görülme sıklığı az değildir.

Yaş ile birlikte coğrafi konum ve mevsim farklılıkları epidemiyolojik etkenler arasındadır. Sonbahar ve kış aylarında PÜH'nin daha sık ortaya çıktığı belirlenmiştir. Meslek, sosyoekonomik durum, çevre şartları ve beslenme alışkanlıklarının PÜH epidemiyolojisini etkilediği yönünde kesin kayıtlar yoktur ancak sosyoekonomik düzeyi düşük yerlerde mide ülserinin, meslek ve çevre şartlarına bağlı olarak aşırı şekilde strese maruz kalan kişilerde duodenum ülserinin daha sık olduğu kabul gören bir görüştür. PÜH, erkeklerde bayanlara göre 2-3 kat daha fazla görülür, duodenal ülserler de mide ülserlerinden 5-6 kat daha fazla görülür. Cerrahi tedaviye ihtiyaç duyulan PÜH insidansı son yıllarda giderek azalmıştır (Taş et al., 2015), (Erkin et al., 2005).

2.3.2. Etiyopatogenez

Son yıllarda PÜH'nin patogenezinde rol oynayan bazı yeni etkenler bulunmuştur ancak klasik olarak bilinen agresif ve koruyucu faktörlerin arasındaki dengenin bozulmasının patogenezde etkili olduğudur (Taş et al., 2015).

2.3.3. Peptik Ülser Profilaksisi

Ülser tedavisinde kullanılan ilaç sayısı oldukça fazladır, bunlardan bazıları antasitler, muskarinik ve histaminik antagonistler, proton pompa inhibitörleridir, ayrıca PGE'ler de tedavide kullanılmaktadır. Ancak tedaviye yönelik farmakolojik ajanların kullanılmasına rağmen ülser tedavisinde her zaman istenilen sonucu elde etmek mümkün olmamaktadır. Ayrıca bu ajanların aşırı duyarlılık, iktidarsızlık, jinekomasti, aritmi, halsizlik ve hematopoetik bozukluklar gibi yan etkilere neden olduğu bilinmektedir. Bu durum ülserin polietiyolojik bir hastalık olduğunu göstermektedir. Bu bakımdan peptik ülser tedavisi nedene yönelik olmalıdır. Ülser tedavisi tıbbın önemli sorunlarından biri olarak karşımıza çıkmaktadır ve günümüzde ülserin kalıcı tedavisine yönelik birçok çalışma yapılmaktadır ve daha az yan etkiye sahip alternatif tedavi yöntemlerine acil bir ihtiyaç vardır (Jalilzadeh-Amin et al., 2015; J.-W. Song et al., 2016) (www.tfd.org.tr/eski/Aydin2009_kitapcik.pdf, 2009).

2.3.4. Gastrointestinal Sistem Kanamaları

Üst GİS kanamaları acil servislere başvuruların en sık nedenleri arasında bulunur, yüksek tanı ve tedavi maliyetine neden olan bir durumdur ve en önemli morbidite ve mortalite sebebidir. Kanama Treitz ligamentinin üstünden kaynaklanmaktadır. Üst GİS kanama etiyojisine bakıldığında literatürde en sık neden peptik ülser olarak görülmektedir. GİS kanamalarında en çok saptanan endoskopik lezyonlar gastrik ya da duodenal ülserlerdir. Varis dışı üst GİS kanamalarında kanama yaklaşık %80 oranında kendiliğinden durmaktadır ve mortalite oranı %3-12 arasında değişkenlik göstermektedir ancak varis kanamalarında mortalite oranı %15-20 gibi çok yüksek bir değerdedir. Son zamanlarda GİS kanamalarına yönelik endoskopik band ligasyonu, beta bloker ilaç kullanımı ve riskli hastalarda NSAİİ ile asit baskılayıcı ilaçların kombine edilmesi şeklinde profilaktik önlemlerin artması sonucunda GİS kanama insidansında azalma sağlanmıştır. Yinede mortalite oranında çok ciddi bir düşüş yaşanmamıştır. Tüm GİS kanamalarının yaklaşık %85'i üst GİS nedenlidir. 60 yaşın üzerinde olmak (60 yaş üstü hastaların oranı 20. yüzyıl başlarında % 10 oranlarında iken bu oran günümüzde %60 civarındadır) , hematemez ile prezenteasyon, varis kanama, tekrarlayan kanama, yandaş kronik hastalığın bulunması, kardiyak hadiseler, böbrek ve karaciğer yetmezliği, malignite varlığı, peptik ülser öyküsü, geçirilmiş GİS operasyonu ve hipotansiyon gelişimi mortalite açısından önemli risk faktörleri arasında bulunmaktadır (Olt et al., 2015), (Tanoğlu, Kara, Yazgan, Eroğlu, & Yıldırım, 2015).

2.3.5. Gastrik Ülser

Gastrik ülserler midenin tunica mucosa tabakasında oluşan ve lamina muscularis mucosa'ya, tela submucosa'ya ve daha derine inebilen ülseratif lezyonlardır (Savran & Koltuksuz).

Gastrik ülser myeloperoksidazların aktivitesinde bir artışa neden olan nötrofillerin infiltrasyonu, artan nekrozis, azalan kan akımı, oksidatif stresin uyarımı ve inflamatuvar mediyatörlerin sekresyonu ile karakterize olan patolojik bir lezyondur. Bu hastalık stres, alkol kullanımı, kötü beslenme, etanol, gastrik asit, asit-pepsin, SOR, NSAİİ, travma, yanıklar, lökotrien, endotelin ve *Helicobacter pylori* 'den oluşan çeşitli agresif ve koruyucu faktörler nedeniyle veya üremi, sarılık, beyin travması (yaralanması), hipotansiyon, solunum güçlüğü gibi hastalıklardan sonra oluşmaktadır. Ayrıca sigara, stresli bir yaşam, inflamatuvar ajanların aşırı salınımı, pro-inflamatuvar sitokinlerin üretimi de gastrik ülserin oluşumunda rol oynar. Gastrik mukozada musin, PGE, bikarbonat, endojen antioksidanlar, anti-inflamatuvar bileşikler, NO ve büyüme faktörleri gibi koruyucu faktörler ile agresif faktörler arasındaki iç dengenin bozulması da gastrik lezyonların oluşumunda önemli bir etmendir. Gatrik ülserler gastrik mukozaya kan ve oksijen sağlanmasında geçici kayıp ya da azalma durumundan sonra meydana gelen ve iskemiye neden olan mikrosirkülasyondaki bozulma nedeniyle de oluşabilir. Ülser sonucu meydana gelen erozyonlar subepitelyal miyofibroblastların, düz kas hücrelerinin ve damarların hasar görmesine neden olur (J.-W. Song et al., 2016), (Zeren et al., 2016), (S. H. Song et al., 2016), (Al Asmari et al., 2016), (Sánchez-Fidalgo, Martín-Lacave, Illanes, & Motilva, 2004), (Cho et al., 1992).

Gastrik ülserler tüm dünyaya yayılmış ve özellikle genç insanlar olmak üzere dünya nüfusunun yaklaşık %5-10' unu etkileyen ciddi ve küresel bir sağlık problemidir ve günümüzde de ciddiyetini korumaktadır (Al Asmari et al., 2016), (Boeing et al., 2016), (Almasaudi et al., 2015), (Zheng et al., 2016).

Gastrik ülserin en sık görülen nedenleri arasında midede *Helicobacter pylori* enfeksiyonu, NSAİİ'nin kullanılması, zollinger-ellison sendromu vb. durumlarda aşırı düzeyde gastrik asit salgılanmasının eşlik ettiği durumlar, kronik hastalıklar sırasında ya da ağır akut strese maruz kalınan durumlarda (travma, ağır enfeksiyon ve cerrahi girişim gibi), sigara tiryakiliği ve kronik alkol alınışı, asit salgısını stimüle eden kahve, çay ve kolalı içkiler içinde alınan kafein, GK ilaçlar ile tedavi sayılabilir.

Reflü özofajit, zollinger-ellison sendromu (gastrinoma), kronik akciğer hastalığı, karaciğer sirozu, kronik böbrek yetmezliği, sistemik mastositoz, α -1 antitripsin eksikliği, multipl endokrin neoplazi tip 1, nefrolitiazis (böbrek taşı) gibi hastalıklar gastrik ülser sıklığını arttırmaktadır (Erkin et al., 2005).

Gastrik ülserlerin 4 formu bulunmaktadır. Bunlar;

Tip 1: En sık görülen formdur ve gastrik ülserlerin %60-70'lik bir kısmını oluşturur. Tipik olarak küçük kurvatürde ya da insisura

proksimalinde, oksintik ve antral mukozal bileşkesinin yakınında lokalize olmuş durumdadır.

Tip 2: Gastrik ülserlerin %15'ini oluşturur. Tip 1 ülser ile benzer lokalizasyonlara sahiptirler fakat aktif ya da kronik duodenal ülserle ilişkilidir.

Tip 3: Gastrik ülserlerin %20'sini oluşturur. Tipik olarak pilorun 2 cm' lik kısmında lokalize olmaktadır (pilorik kanal ülseri).

Tip 4: Gastrik ülserlerin %1-5'ini oluşturur. Proksimal mide ya da gastrik kardiyada lokalize olurlar (Taş et al., 2015).

Gastrik ülserler primer ve sekonder olmak üzere iki grupta incelenirler, sekonder gastrik ülserler genellikle akut şekilde ortaya çıkar ve midede görülmektedir.

2.3.5.1. Primer Gastrik Ülser

Primer gastrik ülserin (PGÜ) oluşumuna neden olan herhangi bir sistemik hastalık yoktur. Görülme sıklığı yenidoğan dönemden sonra artar ve genellikle kronik bir seyir gösterir. PGÜ, midede az görülmekle birlikte yüksek oranda duodenumda oluşum göstermektedir. PGÜ'ler *Helicobacter pylori* enfeksiyonu ile birliktelik göstermektedir. Geçmişe oranla endoskopinin daha sık uygulanması sonucu PGÜ sıklığı çocukluk yaş grubunda artmaktadır. Ayrıca PGÜ oluşumunda genetik faktörler de önemlidir. Hastaların %20-30'unun ebeveyninin birisinde ülser mevcuttur. Monozigotik ikizlerde konkordans %50'dir, 0 kan grubu ve HLA-B5 fenotipinde de PGÜ riski artmış durumdadır. PGÜ'li hastalarda duygusal stres oranı %40 civarındadır.

2.3.5.2. Sekonder Gastrik Ülser

Sekonder gastrik ülserlerde (SGÜ) PGÜ'in aksine ülsere neden olan ikincil bir neden veya hastalık mevcuttur. En sık görülen nedenleri arasında stres, özellikle NSAİİ olmak üzere bir takım ilaçlar bulunmaktadır. SGÜ sıklığının kistik fibrozis, siroz, böbrek yetmezliği, kollajen ve vasküler hastalıklar gibi bazı sistemik hastalıklarda arttığı gözlemlenmiştir (Savran & Koltuksuz).

2.3.5.2.1. Stres Ülseri

Stres indüklü gastrik hasarlar yaygın olarak meydana gelen ve her yaştaki hastanın büyük çoğunluğunu, ırkları ve sosyo-ekonomik sınıfları etkileyen dünya çapında bir hastalıktır. Klinik olarak stres indüklü gastritler mukozal hasara ve kanamalı erozyonlara neden olabilir ve gastrointestinal kanamalar önemli oranda morbidite ve mortalite sebebidir (Mao et al., 2016), (Ye et al., 2013). Stres ülserlerinin patofizyolojisi tam olarak bilinmemektedir ancak gastrik mukozal bariyere zarar veren ve

midneyi agresif faktörlere karşı savunmasız hale getiren (özellikle gastrik asit) mukozal iskemi en önemli patofizyolojik faktör olarak bilinmektedir (Ye et al., 2013)

John Hunter ilk defa 1772'de ülser oluşumunda stresin etkili olabileceğine dikkat çekmiştir. Cushing ise 1932'de stres ülserlerinin hipotalamik lezyonlarla bir arada görülmesinin sık rastlanılan bir durum olduğunu bildirmiştir (Cushing ülseri) (Karasu, 2001). Cushing ve arkadaşları beyin ameliyatlarından sonra akut mide ve duodenum ülserlerinin oluştuğunu gözlemlemişler ve nöropsişik etkenlere dikkati çekmişlerdir (Büyükcoşkun, 2002). Bu çalışmaların ardından stres nedeniyle oluşan gastrik mukozal lezyonların tek tip bir sınıflandırmasını yapmak amacıyla stres ülseri ifadesi kullanılmaya başlanmıştır (Karasu, 2001).

Stres ülseri yoğun şekildeki yanık, santral sinir sistemi travması, şok, sepsis, solunum güçlüğü, çoklu organ yetmezliği, hipotansiyon ya da büyük bir cerrahi operasyonu takip eden, çeşitli travmaları kapsayan, çok sayıda stresli durumların bir sonucu olarak çoğunlukla gastrik mukozal lezyonlarda ve duodenumun difüz lezyonlarında oluşan klinik bir olaydır ve bu durumlarla karakterize edilir (Büyükcoşkun, 2002), (Bahadır et al., 2016), (Ye et al., 2013). Stres kaynaklı gastrik lezyonların gelişimi patolojik bakımdan bir çok temele dayanmaktadır. Gastrik nötrofillerin birikimi, inflamatuvar sitokin birikimi, serbest radikal üretimi, antioksidanların azalımı ve mukozal kan akımının azalması stres ülserinin patogeneğinde görülen durumlardır (Bahadır et al., 2016). Stresin ülser oluşumunda mast hücrelerinin degranülasyonu sonucunda histamin açığa çıkması, hipermotilitenin gelişmesi, mukus tabakasının azalması ve gastrik mukozal kan akımının bozulması gibi etkileri vardır. Deneysel çalışmalar doğrultusunda stres ülserlerinin mukozayı koruyucu faktörler ile hasarlayıcı faktörler arasındaki dengenin bozulması sonucu koruyucu faktörlerin azalmasına bağlı olarak geliştiği fikri benimsenmektedir (Büyükcoşkun, 2002).

Stres ülserleri hastanede yatan ve kritik hastalığa sahip çocuk veya yetişkinlerde sık görülen bir durumdur. Yenidoğan ve adolesan çağında oluşan ülserlerin % 80'i stres kaynaklıdır. Yenidoğanlarda stres ülserinin oluşumuna neden olan etmenler sıklıkla şok, perinatal asfiksi, travmatik doğum ve sepsistir. Daha büyük yaşta çocuklarda ise kazalar, cerrahi girişimler, kafa travmaları (Cushing ülseri), yanıklar (Curling ülseri), sepsis, renal yetmezlik ve vaskülitler stres ülseri oluşumunda rol oynayan etmenlerdir. Stres ülserlerinde gastrik mukozal hasar söz konusudur. Midenin korpus ve fundus bölümünde daha çok görülürler ve genellikle yüzeysel ve geniş hemorajik erozyonlar şeklinde görülmektedirler. Bazen de peteşi şeklinde görülebilirler. Makroskopik görünüş olarak ülserli alan mukozadan keskin sınırlar ile ayrılmış haldedir (Savran & Koltuksuz).

Akut stres ülseri yoğun bakım ünitesinde farklı nedenlerle (şok, sepsis, respiratuar yetmezlik, yanık, kafa travması, karaciğer ve böbrek yetmezliği, büyük travma) yatmakta olan hastalarda GİS kanamalarının en büyük nedenini oluşturmaktadır. Bu kanamalar akut gastrik lezyonlar nedeniyle ortaya çıkmaktadır (Uslu, 2002).

Akut gastrik lezyonların patofizyolojik mekanizması inflamatuvar infiltrasyon, endotelial fonksiyon bozukluğu, serbest radikal oksijen kaynaklı hücre zarı hasarını kapsamaktadır. Erozyonlardan sorumlu gastrik asit sekresyonunu azaltmak için çok sayıda tedavi stratejileri olmasına rağmen akut gastrik lezyonların uzun dönem prognozu yetersiz kalmaktadır. Günümüzde kullanılan çok sayıdaki farmakolojik ajan ise aritmi, mide bulantısı, baş dönmesi, üst solunum yolu enfeksiyonu, hipergastrinemi, kabızlık ve metabolik alkaloz gibi yan etkileri beraberinde getirmektedir (Mao et al., 2016).

Akut gastrik mukozal lezyonların patogenezi multipl faktörlüdür ancak gastrik mukozal kan akımındaki değişiklikler etiyolojide önemlidir. Mukozal kan akımında vazodilatatör veya antiagregan etkenler (prostosiklin, vazodilatatör nöropeptidler) kan akımını arttırırken tromboksan ve endotelin-1 gibi maddeler kan akımını azaltarak ve trombosit agregasyonu yaparak etkilerini gösterirler (Arıtış & Bedirli, 1998).

Stres kaynaklı mukozal hasarlar klinik, endoskopik ve histolojik özellikler ile tanımlanmış, yoğun bakım ünitesinde en kritik hastalarda var olan bir durumdur. Stres kaynaklı mukozal hasarlarda meydana gelen kanama profilaksis olmadan stres nedeniyle mukozal hasara sahip yoğun bakım ünitesindeki hastaların %17'sinde erken muayeneler sonucunda görülen bir durumdur. Ancak günümüzde bu oran %1 oranında ya da daha az bir oranda azalmış durumdadır. Yoğun bakım ünitesindeki en kritik hastalarda gastrik mukozal akım bozulmuş durumdadır. Bunun nedenleri arasında sistemik hemodinamik değişiklikler (hipotansiyon ve/veya vazopressör terapi) veya lokal değişiklikler, mekanik olarak hava verilen hastalarda pozitif nefes verme basıncı yüzünden azalan splanknik kan akımı gösterilmektedir. İskemik doku hasarına ek olarak hipoperfüzyon sağlıklı midede bulunan bir çok koruyucu mekanizmanın azalmasına neden olur. Bu koruyucu faktörler arasında mukus, fosfolipidler, bikarbonat, trefoil faktör ailesi peptidleri ve ısı şoku proteinleri (HSP) bulunmaktadır (Buendgens, Koch, & Tacke, 2016).

2.3.5.2.1.1. Stres Ülseri Profilaksisi

Stres ülserlerinin gelişimini önlemek ya da komplikasyonlarını azaltmak amacıyla klinik olarak antiasitler, antikolinergikler, H₂-reseptör antagonistleri, sukralfat ve proton pompa inhibitörleri (PPI) gibi farmakolojik ajanlar kullanılmaktadır. İntravenöz yolla verilen H₂ reseptör antagonistleri gastrik pH'yı arttırmaktadır. Ancak bu etkiye zamanla

tolerans geliştiği görülmüştür. Bununla birlikte bu farmakolojik ajanların bir takım nörolojik yan etkilerinin ortaya çıktığı gözlemlenmiştir.

Sükralfat gastrik pH'yı arttırmadan gastrik mukozayı koruyabilmektedir ancak ağız yoluyla alınan bazı ilaçlarla etkileşim gösterdiği bildirilmiştir. Antiasitlerin gastrointestinal kanama riskini düşürmelerine rağmen diğer ajanlara göre stres ülseri üzerinde daha az etkili oldukları görülmüştür.

Omeprazol, lansoprazol ve pantoprazol gibi PPI ajanların son yıllarda yapılan klinik çalışmalar ile özellikle yoğun bakım ünitelerinde tedavi gören mekanik ventilasyon altındaki hastalarda stres ülseri profilaksisinde önemli derecede yararlı oldukları gösterilmiştir. Bu ajanlar içinde lansoprazolun diğerlerine göre daha etkili olduğu ve pariyetal hücrelerdeki H⁺, K⁺-ATP'zi inhibe ederek etki gösterdiği ve bu etkiye ek olarak antioksidan etkisinin de olduğu bildirilmiştir.

Klinik olarak kullanılan farmakolojik ajanların stres ülseri gelişimini engellemede istenilen düzeyde olmaması üzerine çok sayıda deneysel çalışma yapılmıştır ve günümüzde de yapılmaya devam edilmektedir (Savran & Koltuksuz).

2.3.5.2.1.2. Stres Ülseri Etiyolojisi

Stres nedeniyle meydana gelen gastrik ülser ile HPA aksı arasındaki ilişki ilk kez Selye tarafından açıklandığından beri bu alanda bir çok çalışma yapılmış ve stres ülserlerinin nöroendokrin mekanizmasına hipotalamus-hipofiz-tiroid ve hipotalamus-hipofizgonad eksenlerinin dahil olduğu gösterilmiştir. 1970 yılından beri biyolojik olarak aktif peptidler biyoassay, immünohistokimyasal, kimyasal ve moleküler biyolojik yöntemlerle beyin veya medulla spinaliste karakterize edilmiştir. Bu peptidler ve reseptörleri bazı yapılarda yoğun olarak bulunur ve bu yapılar hipotalamus ve vagusun dorsal motor nükleusu gibi viseral fonksiyonlarını etkilemektedir. Bu beyin bölgeleri otonom regülasyona dahildir ve bu bölgeler ile periferik dokulardaki gastrointestinal kanalın kontraktıl ve sekretör fonksiyonları ile ilgili yerlerdeki peptidler çift dağılımlıdır. Bu peptidler beyin-bağırsak peptidleri veya nöropeptidler adını almaktadır. Beyin ve bağırsak peptidleri gastrik sekresyonu etkileyebilirler ve mukozal dayanıklılığın ve tamirin kontrolünde önemli olabilirler. Bu sebepten dolayı gastrik mukozal hasarlar ile ilişkilerinin olduğu düşünülmektedir (Büyükcoşkun, 2002).

Bir dizi nöroendokrin, metabolik ve inflamatuvar değişiklik vücut içi dengeyi korumak amacıyla cerrahi travmalardan sonra stres yanıtı oluşturur. Cerrahi insizyon, doku hasarı oluşan bölgedeki afferent sinir uçları vasıtası ile sempatik sinir sistemini ve hipotalamus-hipofiz-adrenal korteks aksını uyararak stres yanıtını başlatır. Bu durumda genel olarak katekolaminler ve hipofiz hormonları gibi katabolik hormonların

sekresyonunda artış meydana gelirken insülin ve testesteron gibi anabolik hormonların sekresyonunda azalma meydana gelir. Bu değişiklikler glukoneogenez, glikoliz, proteoliz, lipoliz ve su-tuz tutulması yolu ile enerji substratlarının redistribüsyonunu ve intavasküler volümün arttırılmasını sağlamak amacıyla gerçekleşmektedir. Bu yanıt temelde kan şekeri ve kan basıncını yükselterek organizmayı korur ve eğer aşırı düzeylerde gerçekleşirse organizmaya zarar verebilir. Rezervlerin aşırı mobilizasyonu, metabolizmanın katabolik hale kayması, oksijen tüketiminin artması, negatif nitrojen dengesi, insülin direnci ve su-tuz retansiyonunun neden olduğu tromboembolizm, infarkt ve pulmoner yetersizlik, kalp yetmezliği ve stres ülserleri gibi bazı komplikasyonlar ortaya çıkmaktadır (Sağlık, Yazıcıoğlu, Çiçekler, & Gümüş, 2015).

Beyinde üst merkezler otonomik sinir sistemi ve hormonal sekresyon ile vücutta fizyolojik fonksiyonları etkileyebilir. Mide stresten en çok etkilenen organdır ve biyolojik ve kompleks fizyolojik ajanlar midede ülserlere neden olabilir. Gastrik fistulalı bir hastada duygunun gastrik fonksiyonu önemli derecede etkilenmiştir, korku ve üzüntü asit sekresyonunun inhibisyonuna neden olmuştur ve gastrik motiliteyi ve vasküler konjesyonu arttırmıştır. Duygusal stresin kronik ülser ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Cho et al., 1992).

2.3.5.2.1.2.1. Gastrik Asit: Stres sırasında vagusun hiperaktivitesi gözlemlenmiştir, pilorusu bağlı sıçanlarda direkt elektrik vagal stimülasyon asit sekresyonunu arttırabilir. Stresli hayvanlarda gastrik ülserasyon nedeniyle asit hipersekresyonu gözlemlenmiştir. Sodyum bikarbonatın ya da antasitin intragastrik perfüzyonu ile etkili gastrik asit nötralizasyonu ülseri önlemede başarısız olmuştur. Singh, gastrik sekresyon olmadığı zaman bile stres ülserinin ortaya çıkabildiğini göstermiştir. Johnson tarafından tanımlanan tip-1 gastrik ülser hastalığına sahip hastalarda ya düşük seviyede ya da normal seviyede gastrik sekresyon ispatlanmıştır. Ancak stres indüklü ülserasyonun en büyük nedeni gastrik asit midir sorusu hala tartışmaya açıktır. Görünen şudur ki gastrik asidite stres ülseri formasyonunun patogenezinde tek etkili faktör olmayabilir, daha çok izin verici bir rol oynadığı düşünülmektedir. Ancak endojenik ve ezojenik asit akut gastrik ülserasyonunun formasyonunda farklı şekilde rol oynayabilir (Cho et al., 1992).

2.3.5.2.1.2.2. Mast Hücreleri: Mast hücreleri deride, hava yollarında, gastrointestinal sistemde ve ürogenital sistemde stratejik olarak bulunan hücrelerdir. Mast hücreleri aynı zamanda kan damarları, lenfatik damarlar ve sinirlerle ilgili bağ dokularında bulunurlar (Ribatti & Crivellato, 2015). Mast hücreleri beyin-bağırsak aksının gastrointestinal fizyolojiyi etkileyebilen nörotransmitterlerin ve proinflamatuvar sitokinlerin yüksek oranda salınımında stres sinyallerini etkinleştiren önemli efektörleridir (Konturek et al., 2011).

Duodenumda mast hücreleri villus yapısını platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGF- β), granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör gibi sitokinlerin sekresyonu ile, stromal ve epitelyal hücre fonksiyonlarını, perikriptal ekstraselüler matriksin yeniden yapılanmasını ve angiogenesi etkileyen triptaz ve kimaz salınımı ile, vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), fibroblast büyüme faktörü 2 (FGF-2), histamin, heparin, tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) ve interlökin-8 (IL-8)'den oluşan angiojenik faktörlerin salınımı ile etkileyebilmektedir. Ayrıca mast hücreleri villusları sinir büyüme faktörü (NGF) üzerinden nötrofik ve nörojenik etkilerle etkileyebilmektedir (Ribatti & Crivellato, 2015).

Stres mast hücrelerine etki ederek mast hücre degranülasyonunu başlatır. Vagal lifler direkt olarak parietal hücreleri ve muhtemelen mast hücrelerini sinirlerle donatır. Rash ve Hirvonen elektrik vagal stimülasyonun GİS'de mast hücrelerini degranüle ettiğini ve önemli derecede asit sekresyonunu aktive ettiğini göstermiştir. Sıçanlarda mast hücre degranülasyonu histamin, heparin, 5-hidroksitriptamin, dopamin, lökotrien ve çeşitli enzimleri ve bileşiklerini arttırmaktadır. Diğer araştırmacılar sıçanlarda stres indüklü glandularis ülserasyonda vagal vasıtalı mast hücre degranülasyonunun en büyük etken olabileceğini göstermişlerdir. Guth ve Kozbun ise gastrik duvarda mast hücre degranülasyonu ile gastrik ülserasyon arasında bir bağ olmadığını ileri sürmektedir (Cho et al., 1992).

2.3.5.2.1.2.3. Histamin: Histamin biyolojik dokularda geniş ölçüde yayılmış durumda bulunan otokoidal bir nörotransmitter olan saldırgan faktörlerden birisidir. İnflamasyon sürecinde önemli bir mediatördür. Mast hücreleri histamin salgılayan ana kaynaklardan biridir. Farmakolojik olarak güçlü bir gastrik asit stimülatörüdür. Sıçanların kan damarlarında ve gastrik submukozal atardamarlarında histaminin H₁ ve H₂ reseptörlerinin stimülasyonu prekapiller sfinkterleri genişletir ancak 80 μ m'den büyük çaptaki mikrodamarları daraltır. Bu etkiler postkapiller venüller intravasküler basıncı artırır ve prekapiller sfinkterlerin ve meta-atardamarların vazomozyonunu azaltır. Amin mikrosirkülasyon yatağının venüler sonunu seçici olarak etkilemek için ortaya çıktığı ve midede vazodilatasyona yol açtığı gösterilmiştir. Histamin gastrik mikrovasküler geçirgenliği artırır ve lokal ödem üretir. Bu durum hücrelerin başka bir yere hareket etmesini stimüle eden venüler endotelyal hücrelerde aktomisin fibrillerinin kasılması sonucu veya endotelyal veziküllerin iç hacminde bir artışla meydana gelmiş olabilir. Dolayısıyla histaminin moleküler transportu hem uygun porların sayısını arttırarak hem veziküler taşıma oranını arttırarak stimüle ettiği olası bir ihtimaldir. Mast hücrelerinden salınan histamin vazodilatasyon ve histamin-reseptör aktivasyonu vasıtasıyla vasküler kan dolaşımının zayıflaması nedeniyle lokal gastrik kan akımını engeller. Stres indüklü gastrik ülserasyon genellikle mukozal kan damarlarındaki kanlanma (hiperemi) ile ilişkilidir ve bu büyük ihtimalle histaminin etkisi nedeniyledir. Gastrik hiperemi aynı

zamanda çoğu kez stresli hayvanlarda da görülmüştür. Ancak bu ya gastrik mukozal kan akımının artışı ya da basitçe vasküler hipereminin yansması olabilir (Hung, 2007), (Cho et al., 1992)

2.3.5.2.1.2.4. Heparin: Mast hücrelerinden histaminle birlikte heparin salınımı gastrik epitelyal hücrelerin mitotik aktivitesini inhibe eder ve bu etki muhtemelen DNA polimeraz aktivitesinin inhibisyonu nedeniyle olmaktadır. Ayrıca heparin gastrik hasardan sonra mukozal epitelyal hücre rejenerasyonunu azaltabilir ve bu etki mukozal lezyonların iyileşmesinin gecikmesine katkı yapan önemli bir faktör olabilir.

2.3.5.2.1.2.5. Motilite: Gastrik hipermotilitenin aşırı vagal aktiviteyle stres tarafından başlatıldığı kabul edilmektedir ve ülser oluşumuna katkı yaptığı düşünülebilir. Yano ve arkadaşları hipermotilitenin başlı başına gastrik ülserasyon nedeniyle olduğunu göstermiştir ve bunun hücre hasarına ve mukozal kan akımının yavaşlamasına neden olan mukozal dokuların sıkışması ve aşırı sürtünme nedeniyle olduğu düşünülmektedir. Atropin ve verapamil gastrik motiliteyi ve ülserasyonu azaltırken mide kasılmasını arttıran bethanekol tedavisi de stres indüklü ülser oluşumunu şiddetlendirmez. Gastrik kasılmanın çokluğunun stres periyodu boyunca azaltıldığı keşfedilmiştir. Bu buluşlar ülser oluşumunda rol oynadığı göz ardı edilememesine rağmen gastrik hipermotiletinin stres indüklü ülserasyona büyük ölçüde ihtimal dışında bir katkı sağladığı görüşünü pekiştirmiştir.

2.3.5.2.1.2.6. Mukus: Gastrik mukus glikoproteinlerinin gastrik ülserasyona karşı savunma mekanizmasında rol oynadığına inanılmaktadır. Mukus tabakası asit pepsin sindirime karşı hareketsiz mukus-bikarbonat mukozal bariyeri gibi hareket eder. Stresin gastrik mukozaya bağlı mukus miktarını azalttığı gösterilmiştir. Bu nedenle temelde yatan, epitel hücrelerin luminal gastrik asidin agresif ülserojenik etkisine maruz kalmasıdır. Buna ek olarak N-asetilsistein ile azalan mukus stressiz sıçanlarda gastrik lezyonların oluşumuna eşlik etmektedir. Bu gözlemler mide duvarındaki mukusun stres indüklü glandular lezyonlarda önemli rol oynadığı sonucunu güçlendirmektedir.

2.3.5.2.1.2.7. Lökotrien: Midede lökotrienlerin rolü Goldberg ve Subers tarafından tanımlanmıştır. LTC₄ (lökotrien C₄) ile doza bağlı kasılma tepkisinin spesifik antagonist FPL55712 ile inhibe edildiğini bulmuşlardır. Çünkü duodenum ve ileum LTC₄'e tepki göstermede başarısız olmuştur. Bu araştırmacılar spesifik lökotrien reseptörlerinin midede var olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Bu buluş Piper ve Samhoun, Pendleton, Stavorski, Magous ve arkadaşları tarafından da tasdik edilmiştir. Peck ve arkadaşları lökotrienlerin midenin vasküler yatağında postkapiller venüllerden makromoleküllerin sızıntısını takip eden damar büzülmesine neden olduğunu göstermişlerdir. Whittle, LTC₄'ün sıçanların submukozasında toplardamarlarda ve atardamarlarda damar büzülmesine neden olduğunu rapor etmiştir ve sıçan midesinde bulunan submukozal mikrodamarlardaki güçlü damar büzülmesi doku nekrozuna neden

olmaktadır. Aynı zamanda potansiyel pro-ülserojenik ajan gibi rol oynayabilir (Cho et al., 1992).

2.3.5.2.1.2.8. Platelet Aktive Edici Faktör: Konjesyona neden olarak HCl'in meydana getirdiği hasara duyarlılığı arttırır.

2.3.5.2.1.2.9. Endotelin: Güçlü vazoaaktif özelliklere sahiptirler ve bu özellikleri sayesinde gastrik mukozaya üzerinde zararlı etkiye sahiptir.

2.3.5.2.1.2.10. Serotonin ve Epinefrin: Mukozal hasarda rol oynamaktadırlar.

2.3.5.2.1.2.11. Serbest Oksijen Radikalleri (SOR): Vücudumuzda doğal metabolik yollar aracılığı ile serbest radikaller oluşturulmaktadır ve yaşam için serbest radikallere ihtiyacımız vardır. Elektron transferi, enerji üretimi ve daha bir çok metabolik olayda temel oluştururlar (Oztürk, Güzelhan, Sayar, & Tüzün, 2001), (library.cu.edu.tr/tezler/6760.pdf, 2008).

Çeşitli enfeksiyonlar nedeniyle ortaya çıkan hastalıklar süresince vücudumuzun savunma sistemi tarafından serbest radikaller üretilmektedir. Bakteriyel enfeksiyon sebebiyle serbest radikallerin üretilmesi önemli bir savunma mekanizmasıdır. Sitotoksitede, mikroorganizmalara karşı savunmada ve nörotransmisyon gibi doğal işlevlerde serbest radikallerin önemli bir rolü vardır (Özkan, 2015).

Serbest radikaller kontrolsüz bir davranış gösterdiklerinde hücrede hasara neden olmaktadır. Bilim adamları 1954'lerden beri serbest radikallerin yaşlanmaya ve dejeneratif hastalıklara yol açtığını bilmektedirler (library.cu.edu.tr/tezler/6760.pdf, 2008).

Gastrik epitelyum gastrik lümende hareket eden fiziksel, kimyasal ya da mikrobiyolojik ajanlar tarafından sık sık saldırıya uğramaktadır. Gelişen ve gelişmeye devam eden teknoloji, çevre kirliliği, radyasyon, kontamine sular, tarım ilaçları, ksenobiyotiklerin metabolizması, doğal uyarımla fagositik hücrelerin aktivasyonu, ağır metaller ve canlı hücrelerdeki oksijen metabolizması, yaşlanma, yüksek oksijen basıncı, iskemi-reperfüzyon, inflamasyon gibi bir çok faktör vücudumuzda ister istemez serbest radikallerin oluşmasına neden olmaktadır. SOR ortaklaşmamış elektrona sahip oldukları için oldukça yüksek reaktiviteye sahip moleküllerdir. Bu reaktivite sayesinde çevrelerindeki atom ve moleküllere karşı saldırganlardır. Ömürleri çok kısadır ancak buna rağmen radikal olmayan maddeler ile reaksiyona girerek onları radikal ajan yaparlar ve bir dizi zincir reaksiyonu başlatarak çok sayıda radikal oluştururlar ve bu nedenle oldukça tehlikelidirler. Vücudumuza zarar verici ve tahriş edici luminal ajanlar içerisinde mide, reaktif oksijen konsantrasyonunun ve reaktif oksijenlerin yoğun üretiminin merkezi haline gelmektedir ve SOR gastrik ülserin patofizyolojisinde merkezi bir rol oynamaktadır (Kasnak & Palamutoğlu, 2015), (Özcan, Erdal, Çakırca, &

Yönden, 2015). (Takayama et al., 2016), (Tekkes, 2006), (Oztürk et al., 2001).

Serbest radikaller süper oksit radikali (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali (OH^-), NO (NO^-), peroksin ($ONOO^-$), peroksil radikali (ROO^-) ve alkoksilden (RO^-) oluşmaktadırlar. Serbest radikallerin endojen kaynakları arasında elektron transport zinciri, oksijenaz enzimlerinin reaksiyonları, oksidan enzimler, nötrofil fagositoz sistemi, intimikrobiyal aktivite sırasında meydana gelen solunum patlaması, enzimatik olmayan yollar vardır, eksojen kaynakları arasında ise ilaç metabolitleri, ultrason, ksenobiyotikler, redoks ürünleri, radyasyon, sigara, hava kirliliği bulunmaktadır (Tekkes, 2006), (Dalbaşı, 2015), (Altınışık, 2000), (library.cu.edu.tr/tezler/6760.pdf, 2008).

Serbest radikaller endotel hücre NO üretimini ve makrofaj indüklü NO sentaz inhibisyonunu bozmaktadırlar (Erdem, 2015). Serbest radikallerin hücre dışı etkileri hücreler arası boşluklarda ve sıvılarda ortaya çıkmaktadır. Özellikle eklem ve beyin omurilik sıvılarında antioksidan savunmanın yetersiz olması sebebiyle bu kısımlarda serbest radikallere bağlı yıkım daha fazla gözlenmektedir. Ayrıca serbest radikal üretimi striatumda muhtemelen en fazla bulunan nöron tipi olan GABAerjik (inhibitorik uyarı) nöronlarda hasar oluşturabilir (Oztürk et al., 2001).

2.3.5.2.1.2.11.1. Nitrik Oksit (NO)

NO 1992 yılında yılın molekülü olarak tanımlanan ve biyolojik açıdan çok önemli bir serbest radikaldır. Fizyoloji ve tıp alanında memeli hücreleri tarafından üretildiği ve biyolojik bir arabulucu olduğu keşfedilmiştir. Fizyolojik ve patofizyolojik süreçlerde önemli bir rol oynamaktadır (Çelik & ERASLAN, 2015). NO L-arjininden ve oksijenden, canlıda bir çok hücrede sitokrom p-450 redüktaz enziminin homoloğu olan NO sentaz enzimlerinin katalizlediği bir reaksiyon ile oluşmaktadır. Bu olayda muskarinik ve histamin reseptörleri gibi çeşitli reseptörlerin aktivasyonu bu reaksiyonu sağlamaktadır. NO, bir nitrojen ve bir oksijen atomundan meydana gelir, lipofilik, gaz halinde bulunan, reseptöre bağımlı olmaksızın kolay bir şekilde difüze olabilen, çok kısa yarı ömürlü, eşleşmemiş elektron içeren, renksiz, inorganik bir moleküldür. NO'nun memelilerin endotel hücrelerinde sentezlendiği ilk defa 1987 yılında bulunmuştur ve bu tarihten itibaren çok sayıda çalışma yapılmıştır ve bu çalışmalar NO'nun dolaşım sistemi, sinir sistemi, immün sistem başta olmak üzere bütün sistemlerde önemli bir biyolojik mediatör olduğunu göstermiştir (Toprak, 2015), (Zuluaga, Silveira, Geraldo, Martínez, & José, 2016), (Fadıllıoğlu, Yağmurca, Kuruş, Vardı, & Emre, 2001).

NO enzimatik bir mekanizma ile sentezlenmesine rağmen NO'ü bulunduğu ortamdan uzaklaştıran özel bir enzim sistemi bulunmamaktadır. Yarılanma ömrü 3-5 saniye olduğu için sentez sonunda oluşan NO hızlı ve kararlı bir şekilde okside edilerek esas yıkım ürünü olan nitrite (NO_2)

dönüşmektedir. Plazmada bulunan nitrit eritrositler aracılığı ile hücre içine alınarak methemoglobin tarafından nitrate (NO_3) oksitlenebilir. NO_3 daha sonra tekrar plazmaya geçer. Plazmada bulunan NO'nin bir başka yıkım şekli patolojik şartlarda süperoksit anyonu (O_2^-) ile hızlı bir şekilde reaksiyona girmesidir. Bu yolla güçlü ve sitotoksik bir oksidan olan peroksinitrit (ONOO^-) meydana gelir. Böylece NO'nin fizyolojik etkisi inhibe edilir ve oksidatif etkisi ortaya çıkar. NO toksisitesinin başlıca sorumlusu peroksinitriktir. Vasküler tonüsün düzenlenmesi için süperoksit (O_2) ve NO arasındaki fizyolojik dengenin önemli olduğu düşünülmektedir. Ayrıca NO Fe-S proteinlerinden demirin çıkmasını sağlayarak yerine kendisini bağlar ve fenton reaksiyonunu stimüle ederek karsinogeneziste rol oynar (Altınışik, 2000), (Toprak, 2015).

Makrofajlar, nötrofiller ve mast hücreleri NO'ü en çok üreten hücrelerdir (Ergönül & Aşkar, 2009). NO'nin rol oynadığı çeşitli fizyolojik süreçler hücre proliferasyonu, apoptozis, sinyal dönüşümü ve bağışıklıktır. NOS ve NADPH oksidaz (NOX) memelilerde savunma sisteminde önemli rol oynamaktadır (Li, Wang, Song, & Li, 2016).

NOS enzimi oksijenaz ve redüktaz olmak üzere 2 tane globüler protein içermektedir. Oksijenaz bölgesi protoporfirin IX (hem), L-Arjinin aminoasidi ve tetrahidrobiyopterin (BH_4) için bağlanma bölgelerini içerirken, redüktaz bölgesi flavin mononükleotid (FMN), flavin adenin dinükleoitid (FAD) ve indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleoitid fosfat (NADPH) için bağlanma alanlarını içermektedir. NADPH NO sentezi için ana elektron taşıyıcısı olarak rol oynar (Toprak, 2015), (Zuluaga et al., 2016).

NOS sinir dokusunda, vasküler endotelde, trombositlerde ve diğer dokularda bulunmaktadır. NOS'ün nöronal NOS (tip-1, nNOS), indüklenebilir NOS (tip-2, iNOS) ve endotelial NOS (tip-3, eNOS) olmak üzere farklı lokalizasyona ve düzenlemeye sahip üç ayrı izoenzimi vardır.

Nöronal NOS (tip-1, nNOS): Kalsiyum ve kalmodulin bağımlıdır ve nöral iletide işlev görür.

İndüklenebilir NOS (tip-2, iNOS): İnflamasyon ya da enfeksiyon durumlarında sitokinler, lökositler, makrofajlar veya endotoksinler tarafından indüklenir ve aksi bir durum olmadıkça üretilmezler. Etkisi 2 saat içinde başlar ve 24 saat devam eder ve kalsiyuma bağımlı değildir. iNOS hepatositler, makrofajlar, nötrofiller, düz kas hücreleri ve kondrositler gibi pek çok hücre tipinde aktive edilebilir. iNOS aracılığı ile oluşturulan NO, antimikrobiyal aktiviteye sahiptir ve bu sebeple nonspesifik konak savunma sisteminin önemli bir parçası konumundadır. Sepsis, astım, romatoid artrit, aterosklerotik lezyonlar, tüberküloz, inflamatuvar bağırsak hastalığı, *Helicobacter pylori* nedenli gastrit, allogreft rejeksiyonu, Alzheimer hastalığı ve multipl skleroz gibi hastalık gruplarında iNOS'un arttığı belirlenmiştir. Bu hastalıkların semptomlarının bazılarının NO'nin devamlı ve aşırı üretilmesi nedeniyle ortaya çıktığı düşünülmektedir.

Endoteliyal NOS (tip-3, eNOS): Nöronal NOS gibi kalsiyum ve kalmodulin bağımlıdır ve böbreklerde bulunurlar. eNOS aracılığı ile oluşturulan NO vasküler düz kas hücrelerinin relaksasyonu için en önemli sinyaldir (Altınışık, 2000), (Aritaş & Bedirli, 1998).

2.3.5.2.1.2.11.1.1. Nitrik Oksit'in Negatif ve Pozitif Etkileri

Organ ya da dokulara giden kanın herhangi bir nedene bağlı olarak yoğun bir şekilde azalması ya da tamamen kesilmesi sonucunda perfüzyonunun bozulması durumuna iskemi denir. İskemiye uğrayan dokunun belirli bir süre oksijenden yoksun kalması sonucu doku hasarı veya nekroz meydana gelir. Kan akımının iskemi sonrasında tekrar sağlanması durumuna da reperfüzyon denir ve iskeminin neden olduğu hasarın büyümesine yol açar. Bu duruma iskemi-reperfüzyon hasarı denir ve neden olduğu lokal ve sistemik etkilerin organ transplantasyonu, miyokard infarktüsü, serebrovasküler hastalıklar, önemli cerrahi durumlar, trombolitik tedavi, hemorajik şok ve resüsitasyon gibi pek çok klinik durumda ortaya çıkan morbidite ve mortaliteye katkı sağladığı düşünülmektedir. Kompleks bir etki mekanizmasına sahip olan NO, üretim hızı ve miktarına bağlı olarak iskemi-reperfüzyon hasarında önemli bir rol oynamaktadır. İskemi-reperfüzyon durumunda süperoksit radikallerinin oluşumunda artış meydana gelmektedir. Artan süperoksit ortamda endojen olarak bulunan NO ile reaksiyona girer ve oldukça reaktif ve potansiyel olarak toksik olan peroksinitrit (ONOO-) ve nitrojen trioksit (N₂O₃) oluşumuna neden olmaktadır (Ozcan, Erdal, & Yonden, 2015).

Mikroglia tarafından salgılanan proinflamatuvar mediatörler arasında bulunan NO'nun serebral iskemiyi ağırlaştırdığı iyi bilinmektedir. Normalde NO dinlenme halindeki kan akımını düzenleyerek nöroprotektif ve patofizyolojik süreçlerde rol oynar ancak aşırı NO salınımı kan-beyin bariyer yıkımının hızlanmasını sağlar (H.-J. Kim et al., 2016).

NO'nun sepsis ve septik şokla ilişkili vasküler değişikliklerde ve organ disfonksiyonunda önemli bir mediatör olduğu bilinmektedir. NO kapiller perfüzyonda ve oksijen ulaşımında bozulma meydana gelmesinde ve doku hipoksisi ile karakterize olan sepsisin erken döneminde kan akımının düzenlenmesinde etkili olmaktadır ve aşırı bir şekilde NO üretimi sepsis sırasında mikrodolaşımsal bozukluklarda önemli rol oynamaktadır (Kolgazi et al., 2015). Ayrıca NO mukozal damarlarda vasküler konjesyona da neden olmaktadır (Uslu, 2002).

NO aşırı miktarda sentezlenirse çok sayıda enzim inhibe olur. NO'nun etkileri genelde lokal olmasına rağmen hedef hücrenin komşu hücrelerine de hızlı bir şekilde ulaşabilir. NO sentezinin engellenmesi aterosklerozis, pulmoner hipertansiyon, pilorik stenoz ve renal yetmezlik ile beraber olan hipertansiyon gibi pek çok patofizyolojik durumlar için temel oluşturur. İltihap durumlarında aktif hale gelen lökositler aynı anda hem oksijen radikallerini hem de NO'yu yüksek konsantrasyonlarda sentezlerler. Hücresel şartlarda meydana gelen radikalın çok erken safhada indirgenmesi

biyomoleküllerin korunması açısından hayati bir önem taşımaktadır (Aritaş & Bedirli, 1998), (library.cu.edu.tr/tezler/6760.pdf, 2008).

NO guanilat siklaz enzimini aktive etmektedir ve bu enzim de hücrel siklik guanozin mono fosfat (cGMP) konsantrasyonunu arttırmaktadır. NO tarafından aktive edilen bu enzim vasküler sistemde vazorelaksasyon ve santral sinir sisteminde nörotransmisyon ile sonuçlanmaktadır (Aritaş & Bedirli, 1998).

NO sentezi insanda vasküler tonüsün düzenlenmesinde önemli bir rol üstlenmektedir ve ayrıca kan basıncı ve böbrek fonksiyonunun kontrolünde kesin bir role sahip olduğu bilinmektedir. NO korpus kavernosumun kan ile doldurulmasında da nörotransmitter olarak görev yapmaktadır (Altınışik, 2000).

Damar duvarlarındaki düz kaslarda oluşan gevşeme ile kan basıncının düzenlenmesinde NO'nin etkisi büyüktür. NO'nin sindirim sistemindeki düz kaslarda gevşeme yaptığı belirtilmiştir. Bu etki NO'nin sindirim sistemindeki düz kaslara gelen otonom nitrerjik sinirlerden nörotransmitter olarak salgılanmasıyla oluşur. Ayrıca bu bölgedeki kan damarlarında vazodilatasyon meydana getirerek kan akımını düzenler. Midede mukozal bütünüğünün korunmasında NO'nin önemli bir aracı olduğu bildirilmiştir. Bu etki mukozal kan akımının düzenlenmesi; mukus, asit ve alkali sekresyonunun kontrol edilmesi ile gerçekleşir (Fadıllıoğlu et al., 2001).

NO vasküler reaktiviteye, fagositoza ve serbest radikallerin tutulması olaylarına katılır, trombosit agregasyonunu ve lökosit adezyonunu inhibe eder (Zuluaga et al., 2016).

NOS tarafından üretilen NO konağın spesifik olmayan savunma mekanizmasıdır ve antimikrobiyal bir etkiye sahiptir. Bu etkinin sepsis, astım, romatoid artrit, tüberküloz, doku reddi, multiple skleroz gibi çok sayıdaki hastalıkta arttığı gösterilmiştir. Yapılan deneysel çalışmalarda tümör nekroz faktör, IL-1, IL-2 gibi sitokinler ile lipopolisakkaritlerin iNOS enzimini stimüle etme yoluyla NO sentezini arttırdıkları gösterilmiştir (Ergönül & Aşkar, 2009).

NO ekspresyonunun konakta infekyöz ajanlarla savaşmada konak savunma kapasitesini geliştirdiği ve mikrobiyal proliferasyonu immün cevabı arttırarak inhibe ettiği çok sayıda hayvan modelinde gösterilmiştir. İn vitro çalışmalarda NO sentezinin inhibisyonunun sitokin aracılığı ile olan fagositik hücre aktivasyonuna, bakterisidal ve bakteriyostatik aktivitede azalmaya zarar verdiği kanıtlanmıştır. Patojenik mikrobiyal in vitro kültürlerine direkt olarak NO verici bileşikler uygulandığında bu bileşiklerin stazise ve bakteri ölümüne neden olduğu gösterilmiştir. NO'nin geniş spektrumlu antimikrobiyal etkileri virüsler, parazitler, mantarlar ve bakteriler için tanımlanmış olup antiviral etki hücre kültürü deneyleri kullanılarak Kawanishi ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır.

Bu deneylerde NO vericileri peroksinitrit oluşumuna yol açmıştır ve Epstein-Barr virüsü geç protein sentezini ve viral replikasyonu önleyen viral DNA amplifikasyonunu inhibe etmiştir. Makrofajlar tarafından üretilen NO ve süperoksit radikallerinin leishmaniasis (şark çibani) hastalığına sahip fare modellerinde peroksinitrit ilişkili anti-parazitik etkiye yol açtığı gösterilmiştir ve topikal NO verici gliseril trinitrat kutanöz leishmaniasis tedavisinde başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Aynı zamanda son gözlemler fare makrofajlarının *Candida*'ya karşı antifungal aktiviteyi peroksinitrit sentezi aracılığı ile gerçekleştirdiğini göstermiştir. NO'nin antibakteriyal etkisi *Bacillus cereus*'ta sporların aşırı büyümesini ve *Salmonella typhimurium*'da nitrojen reaktif türlerinin bir çok hedef proteinini S-nitrozo tiyol aracılığı ile inhibe ettiğini belirtilmiştir (Jones, Ganopolsky, Labbé, & Prakash, 2010).

2.3.5.2.1.2.11.1.2. Nitrik Oksit'in Gastrointestinal Sistemdeki Rolü

NO mukozal bütünlüğün korunmasında önemli bir etkiye sahiptir ve çok yönlü bir görev üstlenmektedir. NOS'lardan doku koruyucu formunun konstitif NOS (eNOS + nNOS) olduğu ve iNOS aktivitesinin artmış lökosit-endotel ilişkisi, trombosit göçü ve mukozal mikrosirkülasyonun artmasıyla ilişki olduğu belirtilmektedir. NO sentezinin tek başına inhibisyonu ülser oluşumuna neden olmaz ancak indometazin gibi ajanların ülser yapmayan dozlarının bile NO inhibisyonu ile birlikte kombine edilmesi gastrik hasara neden olabilmektedir. NO serbest radikallerin süpürülmesinde görev yapar ancak yüksek miktarlarda üretilmesi hemorajik olaylara neden olabilir (<https://www.eajm.org/eng/benzermakaleler/2382>, 2006), (Büyükcoşkun, 2002).

Gastrointestinal sistemde myenterik pleksustaki nöronlardan salınan NO intestinal düz kaslarda relaksasyonu sağlamaktadır. Bu etki özellikle pilorda, gastroözefageal sfinkterde ve Oddi gibi sfinkterinde daha belirgin bir şekilde gözlemlenmektedir. Bir in vitro deney modelinde mide fundusunun ve köpek ileoçekal bileşkesinin nonadrenerjik ve nonkolinerjik (NANC) yolla uyarılması vasküler düz kasların gevşemesini sağlayan bir maddenin salınımına neden olmuştur ve bu yolun hemoglobin ve bir NO sentez inhibitörü ile inaktive edilmesi bu maddenin NO olabileceğini akla getirmiş ve immünohistokimyasal boyama ile NOS, sıçan duodenumunda bulunan myenterik pleksusta ortaya çıkarılmıştır.

Ekzojen NO, aşağı özefageal bileşke, ince bağırsak ve internal anal sfinkterdeki longitudinal ve sirküler kas tabakalarında bulunan NANC sinirler vasıtasıyla gevşeme başlatır. NO sentezinin baskılanması ve NO'nin in vitro koşullarda hemoglobin ile inaktive edilmesi durumunda kobay kolonu, köpek ileumu, insan jejunum ve kolonunda NANC sinirlerle ilişkili gevşemeyi zayıflatmaktadır. Klinik bir raporda immünohistokimyasal boyama ile hipertrofik pilor stenozu nedeni ile tedavi edilen yenidoğanların enterik sinir liflerinde NOS enziminin olmadığı belirlenirken kontrol grubu yenidoğanlarda NOS enzimi için koyu boyanma gösterilmiştir. Bu durum

pilorda olduğu varsayılan ve yokluğunda hipertrofik pilorik kaslara ve mide çıkışı obstrüksiyonuna neden olan bir inhibitör transmitteri desteklemektedir. NO'ın köpeklerde inhibitör nöral yollar vasıtası ile Oddi sifnkterinde bazal myojenik fonksiyonu düzenlediği gösterilmiştir. NO üreten sinirlerin yoğunluğundaki değişmelerin ya da düz kasların NO'e karşı duyarlılığındaki değişmelerin bir takım nöromusküler bozukluklarda rol almış olabileceği düşünülmektedir. Buna benzer bir durum Hirshsprung's hastalığındaki ve akalazyadaki ganglionik segmentlerde kaydedilen nonperistaltik kontraksiyonlarda görülmüştür. Gastroözefageal reflü ile birlikte görülen gevşemiş aşağı özofagus sfinkteri artmış NO sentezinin veya son organın artmış NO sensitivitesinin göstergesi olabilir. Uyarıcı ve baskılayıcı nöronal aktivite arasındaki dengesizlik kronik intestinal psödo-obstrüksiyona sebebiyet verebilir.

Sonuç olarak NO'ın endojen bir vazodilatatör olarak gastrik mukozal kan akımını düzenlediği, mukozal bütünlüğü koruduğu ve mukozal savunmayı devam ettirdiği, bu yüzden prostasiklin ve vazodilatatör peptidler ile etkileştiği deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (Aritaş & Bedirli, 1998).

2.3.5.2.1.2.11.2. Serbest Radikallerin Biyolojik Hedefleri ve Dokular Üzerindeki Etkileri

Serbest radakiller vücut hücrelerinin zarlarına, hücre yapısındaki lipidlere, proteinlere, nükleik asitlere ve DNA'ya zarar vermektedir ve çok sayıda hastalığa neden olmaktadır (Kasnak & Palamutoğlu, 2015).

2.3.5.2.1.2.11.2.1. Serbest Radikallerin Zar Lipidleri Üzerine Etkileri ve Lipid Peroksidasyonu

Biyomoleküllerin bütün büyük sınıfları serbest radikaller tarafından etkilenmektedirler. Serbest radikallere karşı en hassas olan moleküller lipid molekülleridir. Serbest radikaller lipid peroksidasyonuna neden olarak bir çok hastalığın komplikasyonlarının ortaya çıkmasında ve progresyonunda rol oynar.

Bütün biyolojik zarlar poliansature yağ asitleri ile amfipatik lipidler ve zar proteinlerinin birleşmesi sonucu oluşmaktadır. Lipid peroksidasyonu çoklu doymamış yağ asitlerinin radikaller ile oksidasyonu sonucu başlayan ve otokatalitik zincir reaksiyonları şeklinde devam eden, lipid peroksitlerinin aldehit türevleri, hidrokarbon radikalleri ve uçucu bazı türevlere dönüştürülmesiyle sonlanan bir süreçtir.

Yağ asitlerinde bulunan çift bağ kendisine bitişik halde bulunan karbon ile hidrojen arasındaki bağı zayıflatır ve bu nedenle hidrojenin koparılması kolaylaşmış olur. Bu sebeple özellikle hücresel zar lipidlerinin poliansature yağ asiti zincirleri peroksidasyona daha fazla duyarlı olmaktadır. Lipid peroksidasyonu sonucu zarlarda yapısal ve fonksiyonel

hücre hasarı meydana gelir, zarda meydana gelen hasar geri dönüşümsüzdür. Mide mukozası hasarında lipid peroksidasyonu önemli rol oynamaktadır. Lipid peroksidasyonu zarlara yakın bölgelerde ortaya çıkan OH⁻ radikalının zar fosfolipidlerinin yağ asidi yan zincirlerine saldırmasıyla meydana gelir. Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan lipid peroksitleri (lipid peroksit, lipid hidroperoksit, siklik peroksit, siklik endoperoksit) sonuçta sekonder veya son ürünler olan malondialdehit (MDA), 4-hidroksinonenal ve hegzanal adlı aldehitlere dönüşür (Tekkes, 2006), (Özcan et al., 2015), (Özer et al., 2012).

Lipid peroksitleri hücre zarlarının önemli bir bileşenidir ve Fe, Cu gibi geçiş metallerinin varlığında alkoksi ve peroksi radikallerini oluşturmaktadırlar. Sonuç olarak hücre zarının akışkanlığı ve geçirgenliği bozulur ve buna bağlı olarak da membran bütünlüğü bozulur. Lizozomal membranlarda meydana gelen hasar hidrolitik enzimlerin salınmasına ve hücre içi sindirime neden olur. Biriken hidroperoksitler direkt olarak toksik etki gösterirler ve ayrıca duyarlı aminoasit kalıntılarını (sistein, histin, methionin, lizin) okside edebilir ya da zincir polimerizasyon reaksiyonları ile enzimleri inaktive edebilirler. Ayrıca lipid peroksitler proteinlere karşı kapiller permeabiliteyi de değiştirerek ödem ve proteinuriye neden olabilirler (Kayabaşı, 2015), (Erdem, 2015).

Lipid peroksidasyonu hücre zarlarında zar transport sistemini etkiler ve hücre içi ve dışı iyon dengelerinin bozulmasına yol açar. Bunun sonucunda hücre içi kalsiyum konsantrasyonu artar ve kalsiyum bağımlı proteazlar aktive olur. Bu olaylar hücre hasarında önemli bir etkiye sahiptir. Hücrede aşırı bir şekilde kalsiyum birikimi sitotoksik etkiye sahiptir ve ayrıca lipid peroksidasyonun son ürünü olan aldehitler de sitotoksik etkiye sahiptirler (kutup.dicle.edu.tr/ekitap/0054974.pdf, 2012).

MDA lipid peroksidasyonunun en çok çalışılan biyobelirtecidir ve oksidatif stresin indikatörüdür. GİS'in ülseratif ve inflamatuvar şartlarında oksidatif stresin göstergesi olarak ölçülmektedir. Oksidatif stres durumlarında doku MDA seviyesinde bir artış meydana gelmektedir. MDA genotoksik, karsinojenik ve mutajenik olarak bilinmektedir ve protein sentezini inhibe eder, DNA bazları ile reaksiyona girer. Ayrıca lipoproteinlere ve kollajenlere karşı önemli bir biyolojik etkisi vardır. MDA proteinlerin amino gruplarına, fosfoliplere ve nükleik asitlere bağlanarak toksik etki gösterirler. MDA ölçümü letal ve patolojik etkiler oluşmadan oksidatif stresin belirlenmesine imkan sağlayabilir (L'ubomíra Tóthová, Červenka, & Celec, 2015), (Zuluaga et al., 2016), (Aksoy et al., 2015), (Pirinççioğlu, 2015), (Çavuşoğlu, 2009), (Oztürk et al., 2001), (Dalbaşı, 2015), (Xia, Chen, Dahms, Ying, & Peng, 2016).

2.3.5.2.1.2.11.2.2. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri

Proteinler lipidlere oranla serbest radikallere karşı daha az hassastırlar. Etkilenme dereceleri sahip oldukları aminoasit kompozisyonuna bağlı durumdadır. Serbest radikallerden kolaylıkla etkilenen proteinler doymamış bağ ve sülfür içeren aminoasitlerden (fenil alanin, histidin, metiyonin, sistein, sistin triptofan, tirozin gibi) meydana gelmiştir. Etkilenme sonucunda karbon merkezli radikaller ve sülfür radikalleri oluşur. Bu karbon merkezli radikallerden karbonillerin ölçülmesiyle proteinlerde meydana gelen oksidatif hasar ölçülebilmektedir. Serbest radikallerin neden olduğu hasar sonucu proteinlerde fragmantasyon, aminoasitlerde modifikasyon, proteinlerde çapraz bağlanmalar ve proteinlerin agregasyonu gibi durumlar meydana gelir. Proteinler yapılarının bozulması neticesinde normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Enzimler de protein yapısında olduklarından dolayı enzim aktivitelerinde değişiklikler meydana gelir. Ayrıca hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görmekteyler. Özellikle oksihemoglobin O₂ ya da H₂O₂ ile reaksiyona girmesi sonucu methemoglobinin oluşmaktadır. İmmünoglobulin ve albümin gibi çok sayıda disülfid bağı bulunduran proteinler de üç boyutlu yapılarının zarar görmesi nedeniyle işlevlerini yerine getiremezler (Tekkes, 2006), (Kayabaşı, 2015).

Proteinin temel yapısında meydana gelen değişme, antijenitesinde değişikliğe ve proteolize duyarlı hale gelmesine neden olabilmektedir. Radikaller zar proteinleri ile reaksiyona girebilirler ve enzimi nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarında bozulmaya neden olabilmektedir (Kayabaşı, 2015).

SOR hücre içi proteinler üzerinde geri dönüşümlü ya da geri dönüşümsüz oksidatif modifikasyona ve bunun sonucunda oksidatif hasara yol açmaktadır. Hücre içi protein yapıları okside olduklarında yan zincirleri (prolin, arginin, lizin, treonin) üzerinde karbonil gruplar meydana gelir. Protein karbonil yapılar α-amidasyon yolağı ve glutamil yan zincirlerin oksidasyonu sonucunda proteinlerin parçalanması ile de oluşabilir. Bunun haricinde protein yan zincirleri üzerindeki sistein, histidin, lizin rezidülerinin lipid peroksidasyonu sonucu oluşan MDA, HNE (4-Hidroksinonenal) gibi aldehitler, indirgeyici şekerler tarafından oluşturulan ketoaminler, ketoaldehitler ve proteinlerin lizin rezidülerinin glikasyon, glikoksidasyon gibi oksidasyon ürünleri ile sekonder reaksiyona uğramaları sonucunda proteinler üzerinde karbonil grupları meydana gelebilmektedir.

Oksidatif stres sonucunda protein yapılarında meydana gelen modifikasyonlar, hücre iskeletini oluşturan proteinlerde ve enzimlerde yapısal ve fonksiyonel değişikliklere neden olur. Protein karbonilasyonu ve tirozin nitrasyonu geri dönüşümsüz oksidatif modifikasyonlar olarak kabul edilmektedir, sistein modifikasyonlarının ise geri dönüşümlü olduğu kabul

edilmektedir. Bu modifikasyonlar pek çok hastalığın patogenezinin sorumlular (Özcan et al., 2015).

2.3.5.2.1.2.11.2.3. Serbest Radikallerin Karbonhidratlar Üzerine Etkileri

Glukoz, mannoz ve deoksi şekerler fizyolojik koşullarda otooksidasyona uğrarlar ve okzoaldehitler, süperoksit ve hidrojen peroksiti oluştururlar. Bunlar diyabet ve sigara içimi ile ilişkili olan kronik hastalıklar gibi patolojik süreçlerde rol oynarlar. Monosakkaritlerin otooksidasyonu proteinlerin çapraz bağlanmalarına neden olarak agrega olmalarına yol açar ve ayrıca bazal membran kalınlaşmasına ve bu sayede katarakt, mikroanjyopati gelişimine neden oldukları iddia edilmektedir. Katarakt oluşumuna gözün vitröz sıvısındaki hyalüronik asidin oksidatif hasara uğraması neden olmaktadır (Tekkes, 2006), (Kayabaşı, 2015).

2.3.5.2.1.2.11.2.4. Serbest Radikallerin Nükleik Asitler ve DNA Üzerine Etkileri

Nükleik asitlerin SOR ile reaksiyona girmeleri iyonize edici radyasyona bağlı hücre ölümünün en önemli nedenidir. SOR DNA çift sarmalının ayrılmasına ya da nükleik asit baz değişimlerine sebep olabilir. Bunun sonucunda da kromozomal mutasyonlar ve sitotoksikite ortaya çıkar.

Hidroksil radikali deoksiriboz ve bazlarla kolay bir şekilde reaksiyona girerek değişikliklere neden olur. Eğer hidroksil radikali DNA'nın yanında oluşursa pürin ve pirimidin bazlarını zayıflatabilir ve mutasyonlara sebebiyet verebilir. Süperoksit anyonu güçlü bir oksitleyicidir ve guanin gibi yüksek elektron yoğunluklu bölgeler içeren moleküller ile daha kolay tepkimeye girmektedir. Aktif nötrofil kaynaklı hidrojen peroksit zarlardan kolayca geçer ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hücre ölümüne neden olabilir. SOR, DNA'nın oksidatif hasara uğraması sonucu karsinogenesis, hastalıklar ve yaşlanmada önemli rol oynamaktadır (Tekkes, 2006).

Serbest radikaller nükleer ve mitokondrial DNA'da timin ile reaksiyona girerek tek zincir kırılmaları meydana getirir. Bu durumda DNA onarım mekanizmasının uyarılması sonucu poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP) enzimi aktifleşir. PARP çekirdekte bulunan, protein modifikasyonu ve nükleotid polimerizasyonu ile görevli bir enzimdir. PARP'nin aktivasyonu ile birlikte bu enzimin substratı olan nikotinamid dinükleotid (NAD) seviyesi düşer. NAD glikoliz ve trikarboksilik asit sikluslarında kofaktör olduğundan bu sikluslar durur ve sonuçta ATP oluşumu azalır. Böylelikle hücrelerin enerji kaybetmesi sonucu nekrotik tip hücre ölümü gerçekleşir (kutup.dicle.edu.tr/ekitap/0054974.pdf, 2012).

Oksidatif stres sonucu baz radikalleri proteinlerin aromatik aminoasitleri ile kombine olarak DNA-protein çapraz bağları oluşturur. Bununla birlikte hidroksil radikalleri DNA üzerindeki şeker rezidülerinden H

atomu kopararak şeker modifikasyonlarına ve zincir kırılmalarına neden olur. Sonuç olarak hücrelerin H₂O₂'e ya da diğer oksidan maddelere maruz kalması replikasyon ve transkripsiyon üzerinde etkili olur ve ayrıca DNA tamir mekanizmalarını baskılayarak DNA hasarını da arttırır. DNA hasarı ile ilişkili en önemli patolojik süreç karsinogenezistir ve oksidatif hasarın karsinogenezisin başlangıç, ilerleme ve malign dönüşüm evreleri üzerinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Oksidatif hasarın DNA üzerindeki etkisini ölçmek için doku, plazma ve idrarda biyokimyasal belirteç olarak yükselmiş 8-OH-dG (8-hidroksiguanin) düzeyleri kullanılmaktadır (Özcan et al., 2015).

Oksidasyon, metilasyon, depürinasyon ve deaminasyon reaksiyonları DNA hasarlarının meydana gelmesinde yer alan endojen reaksiyonlardır. NO veya nitrojen dioksit (NO₂), peroksinitrit (ONOO-), dinitrojen trioksit (N₂O₃) ve nitrik asit (HNO₃) gibi reaktif ürünler nitrozasyon ve deaminasyon reaksiyonları ile mutajenik aktiviteye neden olabilirler (Kayabaşı, 2015).

Serbest radikaller organizmada özetle; lipid peroksidasyonu zar yapısı ve fonksiyonunun değişmesinde, lipidlerle ve proteinlerle kovalent bağlar yapılmasında, lipid metabolizmasında ve enzim aktivitesinde değişiklikler meydana gelmesinde, mukopolisakkaritlerin yıkımında, hücre membran lipidlerinin ve hücre organellerinin yıkımında, lipofussin pigmentlerinin yıkımında, yaşlılık pigmenti denilen bazı maddelerin birikmesinde, tiollere bağımlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulmasında ve hücre ortamının tiol/disülfid oranının değişmesinde, proteinlerin tahrip olmasında, yıkımında ve protein "turnover" durumunda artışın meydana gelmesinde, zar proteinlerinin tahribinde ve taşıma sistemlerinin bozulmasında, kollajen ve elastin gibi uzun ömürlü proteinlerdeki oksido-redüksiyon olaylarının bozularak kapillerlerde atrofik değişikliklerin meydana gelmesinde, nükleotit yapılı koenzimlerin yıkımında, DNA'nın tahrip olmasında ve yıkımında etkilidirler (Öztop, Demir, Saydam, Öztop, & Çelikten, 2002), (<https://www.eajm.org/eng/benzermakaleler/2382>, 2006).

2.3.5.2.1.2.11.3. Serbest Oksijen Radikallerinin Neden Olduğu Makromoleküler Değişiklikler

Bu toksik moleküller vücutta birkez üretildiğinde DNA, lipidler ve proteinlerle etkileşime geçerek onlara hasar verirler ve hücre fonksiyonunda değişikliğe neden olurlar. Karbonilasyon, S-nitrozilasyon ve nitratlama gibi posttranslasyonel modifikasyonlar aşırı bir bozulmada ya da protein hasarında hücre sağlığı korumada hayati bir rol oynamaktadır. Hücre döngüsünde ve yaşlanma sürecinde anahtar bir bileşik olduğu kabul edilen H₂O₂ farklı konsantrasyonlarda hücre gelişmesine ya da hücre döngüsünün durdurulmasına etki etmektedir. Oksidatif hasar ise başlangıçta yararlıdır ancak daha sonra hücreye zararlı hale gelir. SOR'nin zararını belirlemek için konsantrasyon, yarı ömür ve

dağılılabirlik analiz edilmelidir (Fraunberger, Scola, Laliberté, Duong, & Andrezza, 2015).

2.3.5.2.1.2.11.4. Oksidatif Stres ve Serbest Oksijen Radikallerinin Hastalıklarda Rolü

SOR eğer vücudumuzun bu molekülleri etkisiz hale getirebilecek kapasitesini aşacak şekilde üretilirse oksidatif stres meydana gelir (Xia et al., 2016). Biyolojik sistemlerdeki SOR ve diğer serbest radikaller oksidatif stresin en önemli nedenlerindedir (Orhan, 2015). Oksidatif stres kanser, diyabet, kardiyovasküler ve nörolojik hastalıklar, ateroskleroz ve inflamatuvar bozukluklar gibi çok sayıda hastalığın patogenezinin sorumludur (Özcan et al., 2015). Dokularda oksidatif hasarın oluşmasına bağlı olarak serbest radikal metabolitlerinin artması ve bu metabolitlerin ürettiği lipid peroksidasyonu ile protein ve DNA oksidasyonunun sonucunda hücre zarında kontrol kaybolur, geçirgenlik artar ve hücreölüm meydana gelir (Kabakcı, Kurutaş, Bakariş, & Güngör, 2015).

Serbest radikallerin artması ve buna bağlı olarak oksidatif stresin artması mutasyon ve onkojenik dönüşüm hızını arttırarak DNA hasarına yol açar ve tümör gelişiminde rol oynayabilir. Aynı zamanda hücre proliferasyonu, hücre yenilenme, apoptozis ve yaşlanma gibi hücre fonksiyonlarına etki ederek kanser ve metastaz gelişimine neden olabilirler. Bu etkinin ortaya çıkmasında antioksidan aktivitenin azalması da rol oynamaktadır. Çünkü antioksidan moleküller oksidatif strese karşı gastrik mukozayı korumaktadırlar (Orhan, 2015), (Tekkes, 2006).

SOR'nin aşırı miktarda üretimi hücre harabiyetine neden olabilir. Bu metabolitlerden olan H₂O₂ hızla komşu hücrelere geçerek hem glikolitik hem oksidatif fosforilasyon yollarını etkilerken aynı zamanda adenosin trifosfat (ATP) sentezini de inhibe etmektedir. H₂O₂ glikolitik yolda gliserlaldehit-3-fosfat-dehidrogenaz (GADPH) üzerine etkisi ile ve indirekt olarak ta GADPH'nin kofaktörü olan nikotinamid adenin dinükleotid (NAD) konsantrasyonunda azalma oluşturması ile ATP sentezinde bozulma meydana gelmektedir. Bu etkinin DNA onarımında rol oynayan poliadenozin difosfat riboz polimeraz enziminin aktivasyonu sonucu meydana geldiği bildirilmiştir. Aktif haldeki ADP-riboz polimeraz enzimi substratı olan NAD'i fazla miktarda kullanarak konsantrasyonunun azalmasına neden olur. Bu azalma pH azalması ile birleştiginde glikolitik yolun inhibisyonuna neden olmaktadır.

H₂O₂ düşük konsantrasyonlarda bile birçok hücrede DNA hasarına neden olmaktadır ve bunun sonucunda bir geçiş metalinin varlığı ile hidroksil radikali açığa çıkmaktadır. DNA'da bu şekilde oluşan hasar malign transformasyonlara neden olabilmektedir. DNA hasarına aynı zamanda süperoksit radikali ve hidroksil radikali de neden olabilmektedir. Oksidantlara maruz kalan hücrelerde çok kısa bir zaman içerisinde DNA

hasarı gelişebildiği iddia edilmektedir. SOR'nin hücre hasarına neden olan etkileri DNA hasarı ile yakın bir ilişki içindedir. Bu metabolitlerin hücre zarında başlattıkları lipid peroksidasyonunun ürünleri DNA hasarına neden olmaktadır.

Şimdiye kadar çalışılan bütün hücre tiplerinde oksidana maruz kalıdıktan sonra saniyeler içerisinde DNA hasarı oluştuğu görülmüştür. DNA sarmalındaki dört bazda dahidroksilasyon oluşmaktadır. Bu şekilde oksidanlara maruz kalma sonucunda DNA malign transformasyona uğrayarak kazandığı potansiyeli mutasyonlar ile birlikte kolon, pankreas ve akciğer kanserleri gibi ağır klinik sonuçlara dönüştürmektedir.

Petkau ve arkadaşlarının ve Breimer'in yaptığı çalışmalar neticesinde radyasyonla indüklenen karsinogenezisin SOR'nin neden olduğu hasar ile başlatıldığını düşündürmektedir. Selenyum ya da vitamin E'nin diyetle kronik eksikliği sonucu ortaya çıkan belirtilerin de SOR tarafından meydana getirildiğı iddia edilmektedir. Prematüre yenidoğanda vaskularizasyonu tamamlanmamış retinanın yüksek konsantrasyonlarda oksijene maruz bırakılması prematurite retinopatisine neden olabilmektedir ve ciddi olgular görme kaybı ile sonuçlanabilmektedir. Bu olgularda lipid peroksidasyonun önemli bir etkisi olduğuna dair yayınlar vardır.

Makrofajlar tarafından üretilen toksik oksijen radikalleri düşük dansiteli lipoprotein (LDL) oksidasyonuna neden olur ve okside olmuş LDL'nin lezyon formasyonunda çok sayıda potansiyel rolü vardır. Okside LDL aterogenezis gelişimine, monosit kemotaksisi, makrofaj hareketinin inhibisyonu, endotel zedelenmesi, düz kas zedelenmesi ve köpük hücre formasyonunda rol oynamaktadır (Kavas, 1994).

Strese bağılı oluşan topikal hasar ajanları (özellikle SOR) gastrik epitel hücrelerinden PGE'lerin salınmasına neden olur ve sonuç olarak nötrofil aktivasyonu gerçekleşir. Aktif haldeki nötrofillerde, eozinofillerde ve makrofajlarda fagositik solunumsal patlama esnasında çeşitli serbest radikaller meydana gelir. Lenfosit, eozinofil, nötrofil gibi inflamatuvar hücrelerden salınan SOR inflamasyon alanındaki doku hasarında önemli rol oynarlar. Fagositik lökositler opsonize mikroorganizmalar, C5a kompleman fragmanı, lökotrien B₄, bakteriyel orjinli N-formil oligopeptitler gibi partiküller ile veya çözünebilir bir uyarıcı ile uyarıldıkları zaman lizozomal komponentleri dışarıya vermeye başlarlar ve ROT'nin oluşumu ile beraber mitokondri dışında oksijen tüketiminde bir patlama (solunumsal patlama) göstermektedirler. Fagositoza uğrayan bir bakteri solunumsal patlama ürünlerinin etkisi ile öldürülür. Eğer bu oksidan ürünler hücrelerin antioksidan savunma güçlerini aşarsa normal konak hücrelere zarar verirler ve çeşitli hastalıkların patogenezinde rol oynarlar (Uslu, 2002), (Öztop et al., 2002), (Altınışik, 2000).

SOR'nin neden olduğu hücre hasarının kalp damar hastalıkları, nörodejeneratif bozukluklar, aterogenez, ateroskleroz, katarakt, romatoid artrit, amfizem/bronşit, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, Epilepsi, Duchenne tipi musküler distrofi, gebelik preeklampsis (gebelik zehirlenmesi), serviks kanseri ve diğerkanser çeşitleri, karaciğertahribatı, alkolik karaciğerk Hastalığı, hemodiyaliz hastaları, diabetes mellitus, akut renal yetmezlik, Down sendromu, yaşlanma, serebrovasküler bozukluklar, iskemi/reperfüzyon hasarı, santral sinir sistemi hastalıkları, gastrik ülser ve kolit gibi GİS hastalıkları, otoimmün hastalıklar gibi kronik hastalıkların komplikasyonlarına katkıda bulunabileceğı yapılan çalışmalarla gösterilmektedir (Okumuş, 2015), (Kasnak & Palamutoğlu, 2015), (<https://www.eajm.org/eng/benzermakaleler/2382>, 2006), (Gür, Halifeoğlu, Telo, & Tolun).

Sonuç olarak artış gösteren SOR birçok hastalığın patogeneğinde rol oynamaktadır. SOR'nin formasyonundaki artışın bir epifenomenon olduğu ve hastalığın ilerlemesinde önemli katkısı olduğu halde bunun açık bir şekilde belirgin olmadığı bir diğerkönemli noktadır. Bunun için herbir hastalığın değerlendirilmesi çok iyi bir şekilde yapılmalıdır çünkü gelecekte hastalıkların tedavisinde antioksidanların kullanılacağına ve tedavide önemli bir yeri olacağına inanılmaktadır. Bu tedavinin başarılı olabilmesi için SOR'nin herbir hastalıktaki kesin rolü çok iyi bir şekilde belirlenmelidir (Kavas, 1994).

2.3.5.2.2. İlaç İlişkili Ülserler

Bir çok ilaç mukozal inflamasyona ve ülserene neden olabilir. Non-steroidal ilaçlar ilaca bağılı olarak ortaya çıkan ülserlerden yüksek oranda sorumludur. Bu ilaçlar mukus glikoproteinlerinin yapısını bozarak PGE sentezini azaltır ve mukus-bikarbonat engelini zayıflatırlar. Sonuç olarak asit-peptik aktivite mukozaya daha kolay ulaşır ve mukozal hasara neden olur (Savran & Koltuksuz).

NSAİİ ağrı, ateş, inflamasyon için dünya genelinde en yaygın kullanılan ilaçlardır ancak GİS üzerinde ciddi yan etkileri de beraberinde getirmektedir. Bu etkiler arasında erozyonlar, duodenal ve gastrik kanamalar, kanamalı gastrit ve gastrik ülserler bulunmaktadır. NSAİİ, siklooksigenaz enzim sistemini inhibe ederek ve dolayısıyla PGE seviyelerinde azalmaya neden olarak mideye zarar vermektedirler. Ayrıca NSAİİ gastrik mukozal savunma mekanizmasını direkt olarak bozmaktadır. Gastrik mukozanın NSAİİ'a maruz kalması patolojik değişimlere ve ROT'nin üretimiyle ve inflamatuvar sitokinlerin sekresyonuyla inflamasyon, kanamalı erozyonlar ve gastrik ülserlerin gelişimine yol açar. NSAİİ'lar aynı zamanda ülser lezyonlarının iyileşmesini lokal ve sistemik mekanizmaların değişimi vasıtasıyla geciktirir (Demirbilek, Gürses, Sezgin, Karaman, & Gürbüz, 2004), (Atalay et al., 2015), (El-Ashmawy, Khedr, El-Bahrawy, & Selim, 2016), (Khushtar et al., 2016), (Fornai, Antonioli, Colucci, Tuccori, & Blandizzi, 2014).

2.3.5.2.3. Sekonder Gastrik Ülserin Diğer Nedenleri

Zollinger-Ellison sendromu, Chron hastalığı, kistik fibrozis ve orak hücreli anemi diğer nedenler arasında sayılabilir (Savran & Koltuksuz).

2.3.6. Duodenal Ülser

İnce bağırsağın üst tarafında onikiparmak bağırsağında ortaya çıkmaktadır. Duodenal ülser, ülser kanaması veya delinme gibi çok ciddi komplikasyonlara neden olabilmektedir. Delinme olması durumunda çok şiddetli ağrılar meydana gelebilmektedir. Duodenal ülserin en olağan belirtisi göğüs kemiğinin hemen altında meydana gelen mide ağrısıdır ve duodenal ülser yemeklerden önce açlığın fazla olduğu durumlarda yoğun bir şekilde hissedilir ve bazen kişiyi uykudan uyandırabilir. Ayrıca öğürme, şişme ve hastalık hissi gibi belirtiler de görülebilir. Genellikle *Helicobacter pylori* enfeksiyonu nedeniyle ortaya çıkmaktadır.

(<http://patient.info/health/duodenal-ulcer>),

(<http://www.ulser.gen.tr/duodenal-ulser.html>).

2.4. Ülser Marjinde Hücresel Ve Moleküler Olaylar

Ülser marjininin mukozası karakteristik bir iyileşme bölgesi oluşturur. Bu bölgedeki gastrik bezler genişlemiştir, bu bezlerin hücre katmanı farklılaşır, epidermal büyüme faktör reseptörü (EGF-R) eksprese olur ve aktif bir şekilde hücreler hızla çoğalır. Hücre çoğalması ülser oluşumundan sonra 3 gün içerisinde başlatılır ve ülserin iyileşmesi için temel etkidir. Çünkü bu, mukozal yüzeyin yeniden epitelizasyonu ve gastrik bezlerin yeniden oluşumu için hayati önem taşıyan epitel hücrelerini sağlar. Bu hücreler ülser marjinden granülasyon dokusu üzerine ülser merkezini tekrar epitelize etmek için göç ederler. Hücre çoğalması, bölünmesi, göçü ve mukozal yüzeyin yeniden epitelizasyonu için majör uyarıcı büyüme faktörleridir. Başlangıçta trombositlerden, makrofajlardan ve hasarlı dokudadan üretilen büyüme faktörlerine ek olarak ülserasyon, büyüme faktörlerini (EBF, BFGF, HGF, VEGF ve trefoil peptidler) ve sınırları belli bir bölgede geçici olarak iyi bir şekilde senkronize olan COX-2'yi (siklooksigenaz-2) kodlayan genlerin bulunduğu ülser marjininin mukozal tabakasında başlar (Tarnawski, 2005).

2.5. Gastrik Ülserin İyileşme Mekanizması

Gastrik ülser öncelikle besin taşınımının durması ve SOR'nin formasyonu sonucu mukozal doku nekrozu sonucu oluşur. Doku nekrozu ve sonrasında hasarlı hücrelerden lökotrien B gibi arşidonik asit metabolitlerinin salınımı lökosit ve makrofajları hasarlı bölgeye çeker. Bunun sonucunda lökositler ve makrofajlar nekrotik dokuları fagosite ederler ve proinflamatuvar sitokinleri salgırlar. Daha sonra sırasıyla lokal

fibroblastlar, endotelyal hücreler ve epitelyal hücreler doku onarımını başlatmak için aktive edilirler.

Morfolojik olarak gastrik mukoza iki kısımdan oluşur: bitişik nekrotik olmayan mukoza ile çevrili sınır kısmı ve makrofajlar, fibroblastlar ve çoğalan mikrodamarlardan zengin olan bağ dokudan oluşan granülasyon dokusundan oluşan merkezi kısımdır.

Ülserin iyileşmesi hasardan sonra dokunun kendini tamir etmesi, dokunun bütünlüğü yönünde bir yenilenmeyi kapsayan kompleks bir süreçtir. Bu süreç kısmen örtüşen ve sırasıyla hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve yenilenmeyi içeren fazlara ayrılmış olabilir. Fazlar ve ülserin süresi; doku nekrozu ile karakterize olan ülser gelişim fazı (hasardan 3 gün sonra), inflamatuvar infiltrasyon, ülser sınırının oluşumu ve granülasyon dokusunun gelişimi; hızlı iyileşmeyi kapsayan (epitelyal hücrelerin hızlı migrasyonu ve ülser sınırının küçülmesi) ve iyileşme fazı (hasardan 3-10 gün sonra), geç iyileşme ile takip edilir (ülser bölgesinde angiogenez, granülasyon dokusunun yenilenmesi ve ülser çukurunun tekrar epitelizeasyonunun tamamlanması); bezlerin, muskularis mukozanın ve muskularis propria'nın rekonstrüksiyonu, rekonstrüksiyon aşaması (ülserasyondan 20-40 gün sonra); özelleşmiş hücrelerin matürasyonu ve farklılaşması ile karakterize olan matürasyon fazıdır (ülserasyondan 40-150 gün sonra).

Genelde, ülseratif hasarı takiben, ülser sınırından hücresel göçü ve bu hücrelerin ülser merkezine tutunmalarını desteklemek için hücresel proliferasyonu ve epitelyal tabakanın yenilenmesini takip eden kompleks biyokimyasal olaylar meydana gelir. Ülser iyileşmesi büyüyen bezler, hücrelerin primitif duruma dönmesi, EGF-R'nün eksprese olması ve aktif bir şekilde proliferasyonun başlamasını içeren iyileşme zonunun meydana gelmesi ile başlatılır. Bu durumda inflamatuvar infiltrasyon nekrotik dokuya ve ülser çukuruna yakın bir şekilde meydana gelir. Büyüme faktörlerine yanıtta ülser sınırı oluşturulur, hücreler sınırda özelliklerini kaybederek yan yana gelir ve ülser merkezinde granülasyon dokusu gelişir. İyileşme esnasında granülasyon dokusu yenilenmeye, büzülmeye devam eder ve hücresel hücresel bileşimi değiştirir, bu şekilde iyileşme fazının ilk başlarında ortaya çıkan inflamatuvar hücreler son iyileşme fazında fibroblastlar ve mikrodamarlar ile yerlerine taşınırlar.

Wong ve arkadaşları ülser iyileşmesi sırasında seri oluşturan ve sırayla takip edilebilen farklı genlerin ekspresyonunun analizini yaptılar: İlk cevapta yer alan genler ülser oluşumundan 30 dakika – 2 saat arasında bir zamanda aktifleşirler ve bu genler EGF-R, c-fos, c-jun, egr-1, sp-1, trefoil factor-2/spasmolitik peptid [TFF-2/SP]'den oluşur. Ara cevap genleri 6 saat ile 2 gün içerisinde aktifleşirler ve bu genler EBF, temel fibroblast büyüme faktörü (tFGF), PDGF ve VEGF. Geç cevap genleri 14 gün içinde aktifleşir ve bu genler hepatosit büyüme faktörü (HGF), intestinal trefoil faktörü (İTF), c-met/hepatosit büyüme faktörü reseptörüdür (HGF-R).

Sıralı proliferasyon basamağı ülserasyondan 3 gün sonra başlatılır ve bu iyileşme süreci için gereklidir. Çünkü bu süreç epitel hücrelerinin tekrardan epitelizasyonu için gerekli olan mukozal yüzeyi ve bez yapılanmasını sağlar. Mukozal ülserasyonun canlı kriptlerden kökenlenen ve ülser ilişkili hücre soyu olarak adlandırılan yeni hücre soyunun gelişimine yol açtığına dair kanıt vardır. EGF-R'nü eksprese eden ve EBF, HGF, trefoil peptitleri ve diğer büyüme faktörlerinin sentezini başlatır, epitelyal tüp oluşumunu, göçü ve granülasyon dokusunun invazyonunu sağlar ve sonunda ülserli alanda bez yapılanmasını sağlar.

Zamana bağlı sekans analizi ile trefoil peptidlerin doku ülserasyonunu takiben EBF'den çok daha erken eksprese olduğu gösterilmiştir. Buna ek olarak, reseptör analizi, radyoligand bağlayıcı deneyler ve immünohistokimya kullanılarak ülser sınırında EGF-R ekspresyonunda hızlı bir artış ve somatostatin reseptör yoğunluğunda hızlı bir azalma meydana geldiği gösterilmiştir.

Hücre göçü ve ülserli bölgenin yeniden epitelizasyonu için majör uyarılar platelet, hasarlı doku ve makrofajlardan üretilen büyüme faktörleri ile aracı olur. Güncel bilgi ışığında ülserli mukozanın epitelyumu kemik iliği kökenli yetişkin kök hücreler tarafından yenilediği bildirilmiştir çünkü kemik iliği transplantasyonu olmuş kadın hastalardan alınan gastrik mukoza biyopsi örneklerinde Y kromozomuna sahip hücreler bulunmuştur. Ülser sınırından epitel duvarın devamlılığını tamir için epitelyal hücrelerin göçü ülserin iyileşmesi için temel etkidir ve bu durum iyi bir regülasyona bağlıdır çünkü epitel bariyer mekanik ya da kimyasal hasardan granülasyon dokusunu korur. Özellikle hücre göçü kompleks hücre iskeletinin yenilenmesine ihtiyaç duyar.

G-aktinden oluşan sitoplazmik mikrofilamentlerin F-aktin içinde polimerize olduğu ve daha sonra miyozin-2 ile beraber hücre hareketini gerçekleştirmek üzere kontraktıl demetleri oluşturduğu anlaşılmıştır.

2.5.1. Erken Cevap Genleri: Protoonkogenler

Ülser iyileşmesi replikasyonda olduğu gibi yeni mRNA ve protein sentezine ihtiyaç duyan uzun bir sürece bağlıdır. Gen regülasyonundaki değişiklikler, yaralanmaya veya ülserasyona yanıtta kayıp hücrelerin yerine hücre proliferasyonunda bir artışla sonuçlanır. Bu görevi yerine getirmek için hasarlı doku protoonkogen ailesinden olan, spesifik sekanslı DNA bağlayıcı nükleer proteinler, transkripsiyonel seviyede spesifik genlerin ekspresyonunu direkt olarak etkileyici potansiyele sahip erken birincil cevap genlerini indükler. C-fos, c-jun ve c-myc gibi nükleer protoonkogenlerin ekspresyonu düşük seviyede olmasına rağmen genellikle bir çok hücrede gözlemlenmiştir. Bu genlerin ekspresyonu reseptörlerin artışını takiben yaralı dokuda hızlı ve geçici olarak gerçekleşebilir. Sıçanlarda stres ülseri modelinde stres sonucu c-fos ve c-myc mRNA

seviyelerinde bazal değerin 3-4 katı kadar fazla olan hızlı bir artış olduğu gösterilmiştir. Bu protoonkogenlerin ekspresyonundaki değişimin artan DNA sentezinden önce olduğu keşfedilmiştir. İn situ hibridizasyon temelli bir diğer çalışmada stres nedeniyle hasar sonrası gastrik rejenerasyon sırasında protoonkogenlerin ekspresyonunda değişim incelenmiştir ve bu çerçevede c-myc mRNA eksprese eden hücreler müköz boyun, pariyetal, ana ve enterokromaffin benzeri hücreler olarak belirlenmiştir ve S evresinde hücrelerin dağılımı protoonkogen eksprese eden hücreler ile karşılaştırılır. Doku hasarını takiben protoonkogenlerin yüksek oranda regülasyonuna neden olan sinyal transdüksiyon yolları hala tam aydınlatılamamıştır. Ancak bu durumun poliaminler, spermin, spermidin ve putreskin tarafından gen transkripsiyonunun modülasyonundan meydana geldiği düşünülmektedir. Bu düşük molekül ağırlıklı organik katyonlar ökaryotik hücrelerde her yerde bulunurlar ve DNA, RNA ve proteinler gibi negatif yüklü makromoleküllere bağlanabilirler. Böylece regülasyonda ve başlangıç regülasyonunda, gen transkripsiyonunun uzaması ve sonuçlanmasında peşpeşe değişiklikler ile kromatin yapısı ve sekansa özgü DNA-protein etkileşimleri etkilenir.

2.5.2. Anjiogenez ve Anjiogenik Büyüme Faktörü

Gastrik ülseratif travma takibinde mikrodamarları içeren tüm mukozal bileşikler nekrotik bölgede yıkıma uğrar. Böyle derin mukozal lezyonların iyileşmesi yüzeysel epitelin yenilenmesine ve glandular epitel yapılar, lamina propria'nın restorasyonu ve iyileşme bölgesine besin ve oksijen taşımının ana yolu olan mukozal mikrovasküler ağın yeniden yapılanmasına bağlıdır. Sonraki hedef anjiogenezin başarılmasıdır. Yaralı bölgede korunan mikrodamarlardan mikrovasküler endotelial hücre göçüyle bu süreç iyi bir şekilde düzenlenir, bu hücreler hızla çoğalırlar ve mikrovasküler ağın yeniden yapılanması için damar oluşumunu başlatırlar. Anjiogenez bir dizi adımdan meydana gelir, bu adımlar: matriks metalloproteinazların (MMPs) aktivasyonu ile kapiller taban zarlarının bozulması, perivasküler boşlukta endotelial hücre göçü ve proliferasyon, anastomoz ile takip edilen mikrovasküler oluşum, lamina propria'nın, taban zarlarının yeniden yapılanması ve son olarak yeni kapiller ağın oluşumudur.

Anjiogenez süresince granülasyon dokusunun gelişmesi ve yeni mikrodamarların meydana gelmesi bFGF, VEGF, PDGF, anjiopietinler, diğer büyüme faktörleri ve IL-1 ve TNF- α 'yı içeren sitokinler tarafından stimüle edilir. Gastrik mukoza anjiogenez, prostasilin ve insan rekombinant bFGF ile güçlü bir şekilde stimüle edilir. Mukozal hasarın indüksiyonu bFGF ve reseptörlerinin aktivasyonunu başlatır ve mukoza sınırındaki nekroz bölgesinde bFGF protein ekspresyonunu artırır.

VEGF anjiogenezin en önemli regülatörüdür. En az iki tane farklı reseptöre bağlanır ve bu reseptörler esas olarak endotelial hücrelerde eksprese olan ve endotelial hücre proliferasyonunu, göçünü ve

mikrovasküler oluşumunu teşvik eden sinyal transdüksiyonunu da içeren sitozolik proteinlerin fosforilasyonunu başlatan VEGF-R1 veya flt-1 ve VEGFR-2 veya flk/KDR'dir.

VEGF üretimi PDGF, TNF- α , sitokinler, NO ve PGE E2 tarafından stimüle edilir. Hipoksi VEGF ekspresyonunun indüksiyonu için hipoksi indüklenebilir faktör-1 (HIF-1) aracılığı ile VEGF gen promoter bölgesinin yan tarafına bağlanarak gerçekleştiren ve en iyi karakterize olan uyarılardan birisidir. Mapkinaz (MAPK) aktivasyonu (Erk-1 ve Erk-2) sinyal transdüksiyon yolağı ülser iyileşmesinde anjiogenezin VEGF indüklü stimülasyonu için çok önemlidir ve NSAİİ'nin MAPK/Erk yolağını inhibe ederek anjiogenik süreci engellediği bulunmuştur.

Normal gastrik mikrovasküler hücrelerde PGE'lerin VEGF mRNA'yı Erk-2 vastitası ile JNK'nın transaktivasyonu boyunca indükleyebildiği kanıtlanmıştır. PGE'lerin uyarıcı etkisi muhtemelen pozitif geribildirim yolu ile büyür çünkü VEGF bir kez uyarıldığında otokrin ve parakrin etkiyle COX-2 ekspresyonunu aktive etmektedir.

2.5.3. Trombositler

Trombosit fonksiyonların düzenlenmesinde ve kanamayı durdurmada bir potansiyele sahiptir. Doku tamiri trombositlerin agregasyonu, fibrin pıhtısının oluşumu ve trombositlerden, hasarlı hücrelerden, ekstraselüler matriksten büyüme faktörlerinin salınması ile başlatılır. Trombositler vücudumuzda büyüme faktörlerinin en büyük kaynağını oluştururlar ve bu sayede büyüme faktörlerini açığa çıkarırlar ve doku iyileşmesinde önemli derecede yetenekli hücrelerdir. Çok sayıda güçlü anjiogenik uyarınları trombositler içindedir ve bu faktörler VEGF, platelet kaynaklı endotelial büyüme faktörü (PDEGF), EGF ve PDGF'den oluşur. Bu faktörler trombositlerin endotelial hücre proliferasyonunu ve kılcal benzeri oluşumları stimüle etmesi için gereklidir. Ayrıca bu faktörler anjiogenez ve ülser iyileşmesinde önemli bir potansiyele sahiptir. Antrombosit ilacı olan ticlopidine ile tedavi sonucu trombositlerde ve serumda endostatin seviyesi yükselmiş ve trombositlerdeki VEGF seviyesi etkilenmemiş ve bu tedavi sonucu ülser iyileşmesi önemli derecede gecikmiştir. Trombosit ve serumda pro ve antianjiogenik faktörlerin seviyeleri arasındaki denge gastrik ülserin iyileşme sürecini etkileyebilir (Fornai et al., 2014).

2.5.4. Isı Şok Proteinleri (HSP) ve HSP70

Organizmanın strese uygun bir yolla cevap vermesi homeostazisin korunması ve hücrenin canlılığını sürdürebilmesi için hayati bir önem taşımaktadır. HSP veya stres proteinleri bu cevapta en önemli rolü oynamaktadırlar. HSP ilk defa *Drosophila melanogaster*'in tükürük salgısında yüksek ısıya bağlı bir protein sentezlediği Ferruccio Ritossa tarafından 1962 yılında gözlemlenmiş ve bu olayı deneysel ortamda tekrarlamıştır. Elde ettiği proteinlere de HSP adını vermiştir. Çevresel ve

fiziksel strese cevap olarak ökaryotik hücreler HSP veya stres proteinleri adı altında intraselüler proteinlerin sentezini başlatırlar. Sıcaklıklar (hücre için düşük veya yüksek olması), serbest radikaller, oksidatif stres, oksidasyon, hipoksi, hiperoksia, enerji boşalımı, iskemi, reperfüzyon, enfeksiyon, toksik bileşenlerin parçalanması, protein denatürasyonu ve agregasyonu, hücre içi asiditenin artması, proteoliz, patojenler ve sitokinler (interlökin-1 ve interlökin-2) stres nedenleri arasında gösterilebilir. HSP otoimmün hastalıklar, enfeksiyöz hastalıklar ve kalp hastalıkları gibi pek çok patolojik durumda rol oynar, ekspresyonunda artış meydana gelir. HSP biyolojik aktiviteleri ve moleküler ağırlıklarına göre sınıflara ayrılırlar, bunlar; HSP100, HSP90, HSP70, HSP60, HSP40 ve HSP27 ve HSP10 gibi küçük HSP'ni içeren küçük HSP'dir. HSP büyüme, farklılaşma, bölünme ve hücre ölümü ve daha bir çok hücreyel olaylarda hayati önem taşımaktadır ve özellikle HSP70 güçlü sitoprotektif özelliklere sahiptir. HSP70 hücre büyümesinde, proliferasyonunda, eritrositlerin oluşması sırasında eritrosit farklılaşmasında rol oynar. HSP70 sinir büyüme faktörü ve PDGF ile birlikte hareket ederek hücrelerin PI3K sinyal yolağının aktivasyonu boyunca canlı kalmasını destekler. Ayrıca HSP70 immün sistemin aktivitesini de sağlar. HSP70 ekspresyonu ateroskleroz, iskelet kasında, kalpte, karaciğerde oksidatif stres, serebral kortikal iskemi, nörodejeneratif hastalıklar, alkolik karaciğer hastalığı, viral enfeksiyon gibi durumlarda artışı gösterir. HSP mitokondriye prekürsör proteinlerin taşınımında, kısmen hasara uğramış fonksiyonel proteinlerin katlanmasında, nasent proteinlerin birleştirilmesinde ve katlanmasında moleküler şaperonlar olarak işlev görürler. Stresli şartlar en düşük seviyede olsa bile HSP hassas olmalarından dolayı hücreyel hasarın erken bir biyobelirtici olarak değerlendirilebilir. Tsukimi ve Okabe normal mukozada HSP70 seviyesinin düşük olduğunu ve ülserli alanda ise önemli derecede daha yüksek seviyede olduğunu keşfetmiştir. HSP70 epitelizeasyonun tekrar oluşumu esnasında çoğalan hücrelerde eksprese olur. Ülserli alanda HSP70'in indüklenmesi moleküler şaperon aktivitesi aracılığı ile ülser iyileşmesine katkıda bulunan anahtar enzimlerin aktivitesinin düzenlenmesinde ya da proteinlerin yeniden sentezinde etkili olabilir (Öncel, 2012), (Suljevic, 2015), (Özdemir, 2008), (Wenhao et al., 2015), (Ağuş, 2014)(h21-2016), (Fornai et al., 2014), (Ergönül & Aşkar, 2009), (Shichijo et al., 2003).

Patofizyolojik şartlar altında HSP70'in yüksek seviyede ekspresyonu hücrelerin ölümcül hasarlara rağmen hayatta kalmasını sağlar. HSP70 miktarındaki artış apoptozu inhibe eder. Kanseri hücrelerinde ise yüksek seviyedeki HSP70 tümör oluşumundan ve kemoterapiye karşı direnç gösterilmesinden sorumlu olabilirken düşük seviyedeki HSP70 ise tümör çapında azalmaya neden olabilmektedir. İnsanda meme kanseri MCF-7 hücrelerinde aşırı miktarda üretilen HSP70 G0/G1 fazını kısaltarak hücre büyümesini hızlandırır ve bu durumun HSP70'in siklin-D1'i stabilize etmesiyle ilgili olabileceği görüşü kabul görmektedir (Fornai et al., 2014), (Kumar et al., 2016), (Gül et al.).

2.5.5. Anneksin-1

Anneksin-1, 37-kDa'luk anneksin protein ailesine üye bir proteindir ve formil peptid reseptörlerine (FPR) bağlanarak onları aktive eder ve ayrıca bağışıklık yanıtında ve antiinflamatuvar yanıtta aracı olduğu bilinmektedir. Bu reseptörler subepitelyal miyofibroblastlar, düz kas hücreleri, lökositler, mast hücreleri ve T hücreleri gibi bir çok hücre yüzeyinde eksprese olurlar. Aynı zamanda lipokortin olarak ta tanımlanan anneksin-1 ekspresyonu GK'ler tarafından indüklenebilir ve bu durumun anneksinlerin antiinflamatuvar etkileriyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Farelerde anneksin-1'in sağlıklı gastrik mukozada eksprese olduğu ve asetik asit indüklü ülserde ekspresyonunun önemli derecede arttığı gözlemlenmiştir ve anneksin-1 mimetik peptid ile tedavi sonrası gastrik ülser iyileşmesinde gelişme kaydedilmiştir.

2.5.6. Ekstraselüler Matriks ve Doku Yenilenmesi

Mukozal yapının tekrar inşasında olduğu gibi bağ doku ile granülasyon dokusunun yer değiştirmesi doku yenilenmesini ve ekstraselüler matriks (ECM) bileşiminde değişiklikleri kapsamaktadır. ECM kollajenler ve elastinler gibi iplikli proteinlerden, fibronektin ve laminin gibi yapıştırıcı glikoproteinlerden ve proteoglikan ve hyaluronandan oluşan amorf jelden meydana gelir. ECM epitelyal, endotelyal ve düz kas hücreleri için destekleyici bir yapı sağlar ve bağ dokunun temel bileşenidir.

ECM'nin önemli bir diğer bileşeni olan kollajenler ülser iyileşmesi sırasında belirli bir bölgede geçici olarak regüle olurlar. Bir ülser deneyinde asetik asit ile indüklenecek şekilde oluşturulan gastrik ülser modelinde ülser oluşumundan 3 gün sonra prokollajen-1 seviyesinde önemli oranda artış meydana geldiği tespit edilmiştir (Fornai et al., 2014).

2.6. Gastrik Mukozanın Savunma Mekanizması

Gastrik mukozal savunma mekanizması hasar verici etmenlere sık sık maruz kalma durumuna karşı mukozaya dayanıklılık veren çok sayıda lokal ve nörohormonal koruyucu faktörleri içerir.

2.6.1. Gastrik Mukozal Savunmanın Lokal Mekanizmaları

2.6.1.1. Mukus-Bikarbonat-FosfolipidBariyeri

Mukus-bikarbonat-fosfolipidbariyeri mukozal savunmanın ilk basamağını oluşturur. Gastrik mukozanın yüzeyi mukus jeli, bikarbonat anyonları ve sürfaktant fosfolipidlerden oluşan bir tabaka ile kaplanmıştır. Bu hareketsiz tabaka yüzey epitel hücreleri tarafından salgılanan bikarbonat iyonlarını tutma yeteneğine sahiptir ve mukus-mukoza ara yüzeyini, 7'ye yakın bir pH derecesiyle de mikroçevreyi korur.

Mukus tabakası aynı zamanda pepsin girişini de önleyebilmektedir. Böylece epitelyumun proteolitik sindirimi de engellenmiş olur. Buna ek olarak mukus jelinin luminal yüzeyi mukus tabakasına hidrofobik özellikler katan sürfaktant fosfolipidlerden oluşan bir film ile kaplıdır. Mukus jeli üzey epitelyum hücreleri tarafından salgılanır ve çoğunluğunu sudan ve çeşitli musin glikoproteinlerinden (MUC2, MUC5AC, MUC5B ve MUC6) oluşur. Mukus üretimi gastrik mukozanın farklı bölümlerinde olabilmektedir.

2.6.1.2. Epitelyal Hücreler

Yüzey epitelyum hücrelerinin devamlı (aralıksız) tabakası mukozal savunmanın ikinci hattını oluşturur. Bu epitelyal doku mukus, bikarbonat ve gastrik mukozal bariyerinin diğer bileşenlerinin üretiminden sorumludur. Bu hücrelerin doğası hidrofobiktir, yüzeylerinde sahip oldukları fosfolipidler ile asidi ve suda çözünebilen hasarlayıcı faktörleri uzaklaştırabilmektedir. Yüzey epitelyum hücreleri aynı zamanda sıkı bağlantı bölgeleriyle çok yakın bir şekilde ilişki halindedir ve bu asit ve pepsinin geri difüzyonunu önleyen devamlı bariyer ile sağlanır. Epitelyal hücrelerdeki bir diğer koruyucu faktör de HSP'dir. Kathelisidin ve betadefensin mukozal yüzeyde doğal savunma sisteminde HSP'ne benzer bir rol oynamaktadır ve bakteriyal kolonizasyonu önlemektedir. Epitel hücreler tarafından salgılanan trefoil faktörler epitelizasyonun yeniden oluşmasında düzenleyicidir ve mukoza koruyucu fonksiyonları yerine getirirler.

2.6.1.3. Mukozal Hücre Yenilenmesi

Gastrik epitelyumun yoğunluğu mukozal progenitör hücreler tarafından gerçekleştirilen devamlı hücre yenilenmesi işlemi ile korunmaktadır. Mukozal hücrelerin varlığı bir devamlılığa, iyi bir koordineye ve epitelyal yüzeyde hasarlı hücreleri ya da yaşlanmış hücreleri yenileyen kontrollü hücre çoğalmasına bağlıdır. Glandular hücre yenilenmesi aylar sürerken bu hücreler 3-7 gün içerisinde yenilenmektedir. Ancak yüzey epitelyumunun hasardan sonra yenilenmesi çok hızlı bir şekilde (birkaç dakika içinde) gerçekleşir. Bu durum gastrik bezlerin boyun bölgesinde yerleşmiş olan korunmuş yapıdaki hücrelerin göçü ile neticelenir. Bu hücre hareketi büyüme faktörleri tarafından düzenlenir. Özellikle işaretlenmiş EGF-R ekspresyonu gastrik progenitör hücrelerde belirlenmiştir. Böyle bir reseptör dönüştürücü büyüme faktörü-alfa (TGF- α) ve insülin-benzeri büyüme faktörü-1 (I-LIKE GF-1) gibi mitojenik büyüme faktörleri tarafından aktive edilebilir. Ayrıca PGE-2 ve gastrin EGF-R'nü transaktif yapabilir ve hücre çoğalmasının uyarılması sonucu mitojen-aktif protein kinaz (MAPK) yolağının aktivasyonunu destekler. EBF gastrik sıvıda tükrük bezleri ve özofagal bezlerin bir üretimi olarak bulunmasına rağmen dikkat çekici bir durum olarak normal mukozada bulunmamaktadır.

2.6.1.4. Mukozal Kan Akımı

Mukozal kan akımı oksijenin ve besinlerin taşınımı ve toksik metabolitlerin gastrik mukozadan uzaklaştırılmasını sağlayan temel etmendir. Mikrodamarların çevresindeki endotelial hücreler NO ve prostasiklin (PGI-2) üretir ve bunlar vazodilatör olarak hareket ederler. Böylece gastrik mukoza hasara karşı korunur ve lökotrien C4, tromboksan A2 ve endotelin gibi çeşitli vazokonstriktörlerin zararlı etkilerine karşı koruyucu bir durum ortaya çıkar. NO ve PGI-2 endotelial hücrelerin hayatta kalmasını sağlar ve mikrodolaşıma trombosit ve lökosit adezyonunu önler, böylece mikroiskemik olguların meydana gelmesi engellenir.

Gastrik mukoza irritantlara ya da geri asit difüzyonuna maruz kaldığında mukozal kan akımında yoğunluk ve hızlı bir artış meydana gelir. Bu süreç asit geri difüzyonunu veya tehlikeli (öldürücü) ajanları azaltır ve bu durumu ortadan kaldırır. Kan akımındaki artış gastrik mukozal hücre hasarını önlemek için çok önemli bir mekanizma olarak kabul edilir ve böylece doku nekrozunun gelişimi azaltılmış olur. Mukozal kan akımındaki artış NO salınımı ile gerçekleşir ve bunu kanıtlayan çalışmalar vardır; NO sentezinin inhibisyonu mukozal hasarı arttırırken, NO'ın gastrik mukozayı etanol veya endotelin-1 indüklü hasara karşı koruduğu gösterilmiştir.

2.6.1.5. Duyusal Sinirlerin Oluşumu

Gastrik mukozanın ve submukozanın damar sistemi mukozal katmanın zeminindeki pleksusta düzenlenmiş olan ekstrinsik ana aferent duysal nöronlar tarafından sinirlerle donatılmıştır. Bu pleksustan kökenlenen sinir içcikleri kılcal damarlar boyunca uzanır ve epitelyal hücre yüzeyinin bazal membranına ulaşırlar. Bu sinirler luminal asiditeyi veya geri asit difüzyonunu aside duyarlı kanallar aracılığı ile belirleyebilir. Böyle duysal sinirlerin aktivasyonu submukozal arterlerin kontraktıl tonunu hafifletir ve böylece mukozal kan akımı düzenlenir. Özellikle duysal nöronların uyarılması kalsitonin gen-ilişkili peptid'in (CGRP) ve büyük submukozal damarlarla çevrili sinir terminallerinden P maddesinin salınmasına yol açar. CGRP, NO salınımı sonucu submukozal damarların vazodilatasyonu aracılığı ile mukozal bütünlüğün korunmasına katkı sağlar. Duyusal sinirlerin oluşumu gastrik mukozanın hasardan korunmasında öncül bir rol oynar.

2.6.1.6. Prostaglandinler

Gastrik mukoza mukozal bütünlüğün korunmasında ve hasarlayıcı faktörlere karşı korumada çok önemli etmenler olarak kabul edilen PGE-2 ve PGI-2 gibi devamlı PGE üretim kaynağı sunar. PGE'lerin neredeyse tüm mukozal savunma mekanizmasını uyarmada bir potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir. Özellikle PGE'ler asit üretimini azaltarak, mukus, bikarbonat ve fosfolipid üretimini uyararak, mukozal kan akımını arttırarak ve

epitelyal yenilenmeyi ve mukozal iyileşmeyi hızlandırır. PGE'lerin vasküler endotelyuma lökosit ve trombosit adezyonunu engellediği gibi mast hücrelerinin aktivasyonunu da engellediği bilinmektedir.

2.6.2. Nörohormonal Mekanizmalar

Gastrik mukozal savunma merkezi sinir sistemi ve hormonal faktörler gibi mekanizmaların aktifleşmesi ile desteklenmektedir. Merkezi vagal aktivasyonunun mukus sekresyonunu uyardığı ve midenin epitelyal yüzeyinde hücre içi pH seviyesini arttırdığı keşfedilmiştir. Ayrıca kortikotropin salıcı faktör (CRF) strese karşı endokrin cevaplarda rol oynar. Periferik CRF önemli oranda gastrik savunma mekanizmalarının düzenlenmesine katkı sağlar. CRF-2 reseptörünün gastrik boşalımı ve motiliteyi önlediği gibi gastrik epitelyal hücrelerde antiapoptotik etkilere aracılık yaptığı bilinmektedir. Gastrin-17, kolesistokinin, tirotropin salıcı hormon, bombesin, EBF, peptid YY ve nörokinin A aferent sinir ablasyonu, kalsitonin gen ilişkili peptid (CGRP) reseptörünün bloke olması ve NO sentezinin inhibe olması ile azalabilen (kesintiye uğrayabilen) gastrik koruyucu mekanizmaların düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Ghrelin P/D1 hücrelerinde üretilen bir peptid ve hormondur ve büyüme hormonunun salgılanmasının düzenlenmesinde ve stimülasyonunda görev alır ve gastrik düzeyde önemli koruyucu etkileri vardır. Bu etki, NO stimülasyonu ve duyuşal aferent sinirlerden CGRP salınımı yoluyla mukozal kan akımının geliştirilmesidir.

2.6.2.1. Glukokortikoidler

Kortikosteroidler ilk defa 1920'lerde keşfedildi ve 1940'larda romatizmal artritli hastalara uygulanarak yararlı etkileri ortaya çıkarıldı. Endojen kortikosteroidler adrenal kortekste kolesterolden sentezlenir ve 3 tane fonksiyonel gruba ayrılabilirler: mineralkortikoidler (aldosteron) zona glomerulosa (en dış katman)'ta üretilir ve vücutta tuz ve su dengesine etki eder, GK'ler (kortizol) zona fasciculata (orta katman)'da üretilir ve intermediyer metabolizmalar üzerinde etkiye sahiptirler, androjenik steroidler (dehidroepiandrosteron, androsteron) zona reticularis (en derin katman)'te üretilir ve seks hormonlarını ihtiva eder (Cuming, Groover, Wooldridge, & Caldwell, 2016).

Adrenokortikal steroidler adrenal kortekste kolesterolden sentezlenen hormonlardır ve vücudun normal fonksiyonlarının devamı için fizyolojik dozlarda salınmaları gereklidir. Kortikosteroidler karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmasının düzenlenmesi, sıvı ve elektrolit dengesinin sağlanması, kardiovasküler, immün sistem, böbrek, iskelet kası, endokrin ve sinir sisteminin normal fonksiyonlarının devamı için önemli bir etkiye sahiptirler. Kortikosteroidler optimum dozdan fazla salınırsa veya dışarıdan steroid analoglarının alınması ile birçok sistem üzerinde yan etkiler oluştururlar (Topaloğlu & Gündüz). Bir çalışmaya göre hamileliğin son haftasında doğum öncesi stres sonucu bebek plazmasında kortikosteron

miktarında %64 oranında bir artış meydana geldiği gösterilmiştir (Sahu, Madhyastha, & Rao, 2011).

Kortikosteroidlerin en iyi bilinen etkisi immün cevabı azaltmasıdır. Dolaşımdaki lökositlerin miktarını azaltırlar, inflamatuvar mediatörlerin oluşumunda ve salınımında değişiklik yaparlar. Vazoaktif ve kemotraktif faktörlerin salınımını önlerler, lipolitik ve proteolitik enzimlerin sekresyonunun azalmasına neden olurlar. İnterferon, granülosit/monosit koloni stimule edici faktör, interlökinler ve tümör nekrozis faktör- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımını için inhibitör etki gösterirler. Bu etkiler mekanik, hipoksik, iskemik, enfeksiyöz veya otoimmün nedenlerle oluşan inflamatuvar kaynaklı hasarlarda azalmaya neden olur (Aykal, 2015).

Adrenal bez vücudumuzda iç dengenin korunması için çok önemli işlevleri olan bir organdır ve sentezlediği katekolaminler ve GK'ler sindirim sisteminde özellikle de mide dokusunda gerçekleşen fizyolojik fonksiyonların devamı için gereklidir. (<https://www.eajm.org/eng/benzermakaleler/2382>, 2006).

Stresin indüklenmesi sırasında GK'lerin salınımı HPA aksının aktivasyonu ile gerçekleşir ve gastroprotektif hormonlar olarak hareket ederler (Filaretova, Bagaeva, Amagase, & Takeuchi, 2008). HPA aksında meydana gelen anormallikler depresif bozukluklarda en fazla ve en güvenilir olarak gösterilen biyolojik belirleyicilerdendir (Eşel & Sofuoğlu, 2001). Çeşitli stresli uyarılar HPA aksını aktive eder ve bu yüzden son hormonların, GK'lerin ve şiddetli stres uyarılarının üretimi stres ülseri olarak bilinen gastrik erozyonları indükleyebilir ancak yapılan çalışmalar bu hipotezi desteklememektedir. Bir çalışmada GK salınımının midede koruyucu faktörleri oluşturduğu, bir diğer çalışmada ise stresli durumun artması durumunda kortikosteronun (GK) akut artışı stresin oluşturacağı hasara karşı mideye dayanıklılık kazandırdığı kanıtlanmıştır (Filaretova, Bagaeva, & Morozova, 2012), (Filaretova, 2006). Bir diğer çalışmada stres sırasında GK üretimindeki bir eksiklik stres indüklü gastrik erozyonların oluşumunu ilerlettiği kanıtlanmıştır (Filaretova, Filaretov, & Makara, 1998). GK'lerin gastrik seviyede koruyucu mekanizmaları desteklediği gösterilmiştir (Fornai et al., 2014). Bu hormonlar strese karşı bir cevap olarak salınır ve hasara karşı önemli koruyucu faktörler sunar. GK'ler koruyucu etkilerini glukoz homeostasisini koruyarak, mukozal kan akışını ve mukus sekresyonunu arttırarak ve gastrik motilite ve mikrovasküler geçirgenlikte artışı zayıflatarak gösterirler.

1950'lerden beri GK'lerin kronik kullanımı advers etki limitlerine rağmen akut ve kronik inflamatuvar hastalıklarda ana tedavi yöntemi olmuştur (De Bosscher, Beck, Ratman, Berghe, & Libert, 2016). Yarım yüzyıldan beridir sentetik GK'ler yaygın olarak romatoid artrit, astım ve inflamatuvar bağırsak hastalıkları gibi kronik inflamatuvar hastalıklarının

tedavisinde kullanılmaktadır. GK'ler GK reseptörü aracılığı ile gen ekspresyonunu düzenlemektedir (Joanny et al., 2012).

GK'ler birçok seviyede merkezi ve periferik sinir sistemi fizyolojisinde değişiklik yapar. Nöroinflamatuvar cevabın düzenlenmesinde, nörodejenerasyon ve nörogenesiste, nöronal yaşayabilirlik ve gelişim sürecinde, nöronal ve nöroglia populasyonlarının hücre metabolik dengesinde moleküler süreçlere etki ederler. GK bağımlı sinyal bir takım nörolojik (felç, travmatik beyin hasarı, nörodejeneratif rahatsızlıklar) ve psikiyatrik rahatsızlıklar (depresyon, ruh hastalığı, post-travmatik stres hastalıkları, antisosyal davranışlar, anksiyete bozuklukları ve bağımlılık) ile ilişkilidir (Kalafatakis et al., 2016).

2.7. Deneysel Ülser Modelleri

1. İndometazin ülser modeli
2. Etanol ülser modeli
3. Pilon bağılanması
4. Asetik asitle indüklenen ülser modelleri
5. İskemi-reperfüzyon ile oluşturulan ülser modelleri
6. NSAİİ ile oluşturulan ülser modelleri
7. Stres ülser modeli

a. Yüzdürme

b. Soğukta hareketsiz bırakma: Deney hayvanları hareketsiz bir şekilde 24 saat süre ile +4°C' de bekletilir. Bu süre içinde aç bırakılırlar ancak 23 saat süre ile su vermeye devam edilir. Son 1 saat su verilmez. Bu yöntem ile sıçanlarda stres ülseri oluşturulur.

(www.tfd.org.tr/eski/Aydin2009_kitapcik.pdf, 2009), (Erkin et al., 2005), (Demirbilek et al., 2004).

2.8. Antioksidanlar

Antioksidanların ilk tanımı 1989 yılında Halliwell ve arkadaşları tarafından "oksidlenebilir substratlar (karbonhidratlar, lipidler, proteinler, nükleik asitler) ile kıyaslandığında düşük konsantrasyonlarda var olan, önemli derecede bu substratların oksidasyonunu geciktiren veya inhibe eden herhangi bir madde" şeklinde tanımlanmıştır. Daha sonra "hedef bir molekülde oksidatif hasarı önleyen, geciktiren ya da elimine eden herhangi bir madde" veya "ROT'ni direkt ya da indirekt olarak elimine edebilen, antioksidan savunma sisteminin bir düzenleyicisi olarak hareket eden veya ROT'nin üretimini inhibe eden herhangi bir madde" şeklinde tanımlanmıştır (Mut-Salud et al., 2015).

Her bir antioksidanın işlevi bulunduğu yere, kimyasal yapısına ve vücuttaki biyoyararlılığına bağlıdır. Antioksidanlar hücre metabolik fonksiyonların korunmasında önemli bir rol oynarlar (Fraunberger et al., 2015).

Serbest radikallerin zararlarının engellenmesinde ve vücudun dengesinin korunmasında antioksidanlar görevlidir. Oksijeni ortamdaki uzaklaştırarak konsantrasyonunu düşürürler. ROT'ni ve katalitik metal iyonlarını zayıflatırlar ve aynı zamanda ortamdaki uzaklaştırırlar. Radikal zincir reaksiyonlarının başlamasını da önlerler (Keser, 2016).

Antioksidanlar intraselüler ve ekstraselüler alanda bulunurlar ancak vücut sıvılarında hiçbir çeşit antioksidan bulunmaz. İntraselüler alanda SOD, KAT, GSH-Px ve sitokrom oksidaz bulunur. Hücresel membranda etkili olanlar ise E vitamini, koenzim Q ve karotendir. Ekstraselüler alanda bulunan antioksidanlar ise askorbik asit, transferrin, bilirubin, ürat, albumin, seruloplazmin ve laktoferrindir (Dalbaşı, 2015).

Doğal antioksidan savunma enzimatik ve enzimatik olmayan ve vücudumuz tarafından üretilen endojen antioksidanlar ile besinlerle vücudumuza adığımız eksojen antioksidanlardan oluşmaktadır. Ayrıca besin endüstrisinde kullanılan bütil hidroksianisol (BHA), butil hidroksi tolüen (BHT), propil galat (PG) ve tert-bütil hidrokinon (TBHQ) gibi sentetik antioksidanlar da vardır. Enzimatik endojen antioksidanlar arasında SOD, KAT, GSH-Px, fosfolipidhidroperoksit glutatyon peroksidaz (PLGSH-Px), glutatyon s-transferaz (GST), glutatyon redüktaz (GSSG-R), hidroperoksitaz, mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi bulunur (Mut-Salud et al., 2015), (Çavuşoğlu, 2009), (Altınışık, 2000).

Enzimatik olmayan endojen antioksidanlar arasında laktoferrin, albumin, seruloplazmin, transferrin, ferritin, melatonin, sistein, miyoglobin, hemoglobin, bilirubin, ürat, flavonoidler, askorbat (vitamin C), α -tokoferol (vitamin E), β -karoten, glutatyon (GSH) bulunur (Çavuşoğlu, 2009), (Altınışık, 2000).

Eksojen antioksidanlar ise vitamin eksojen antioksidanlar (1. α -tokoferol (vitamin E), 2. β -karoten, 3.Askorbik asit (vitamin C), 4.Folik asit (folat)), ilaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar (1.Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten), 2.NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezipler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflatuar ilaçlar, diphenyline idonium), 3.Rekombinant süperoksit dismutaz, 4.Trolox-C (vitamin E analogu), 5.Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GSH-Px aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein), 6.Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin), 7.Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin), 8.Nötrofil adezyon inhibitörleri, 9.Sitokinler (TNF ve IL-1), 10.Barbitüratlar, 11.Demir şelatörleri) ve gıdalarda kullanılan eksojen antioksidanlardan oluşur (Altınışık, 2000).

2.8.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz, metalloenzimdir ve suda erime özelliğine sahiptir. KAT ve GSH-Px ile beraber insanda hücre içinde ROT'nin değişime uğramasına neden olarak hücre dışına atar, bir diğer anlamda antioksidan

savunmanın ilk basamağını oluşturur (Broxton & Culotta, 2016), (Kavas, 1994), (Dalbaşı, 2015). SOD, mitokondire H₂O₂ ve oksijen oluşturarak süperoksit radikallerinin dönüşümünü hızlandırır. (Kasnak & Palamutoğlu, 2015) SOD, fagosite edilen bakterilerin etkisiz hale getirilmesinde de rol oynar. Bu yüzden SOD granülosit fonksiyonu için çok önemlidir (library.cu.edu.tr/tezler/6760.pdf, 2008).

2.8.2. Katalaz (KAT)

Katalaz, tüm hücrelerde farklı konsantrasyonlarda bulunan, suda erime özelliği bulunan ve 4 tane hem grubuna sahip bir hemoproteindir. Kanda, kemik iliğinde, mukoz membranlarda, karaciğerde ve böbreklerde yüksek miktarda bulunmaktadır (Tekkes, 2006), (Dalbaşı, 2015). KAT enzimi H₂O₂'i suya ve oksijene dönüştüren ve bu yolla vücudu temizleyen ve çoğunlukla peroksidazlarda ve sitoplazmada bulunan bir enzimdir (Scaglione, Xu, & Ramanujan, 2016), (Kasnak & Palamutoğlu, 2015)

2.8.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

Glutasyon peroksidaz, normal hücrelerde H₂O₂'in dönüşümünü katalizler ve H₂O₂'in detoksifikasyonundan sorumludur ve bu yolla lipid peroksidasyonun kontrolünde önemli bir role sahiptir. Suda erime özelliğine sahiptir (Çavuşoğlu, 2009), (Kasnak & Palamutoğlu, 2015), (Dalbaşı, 2015). GSH-Px varlığı ilk defa eritrositlerde 1957 yılında Mills tarafından bulunmuştur ve eritrositlerde oksidatif strese karşı en önemli antioksidandır. Ayrıca fagositik hücrelerde çok önemli işlevleri vardır (Tekkes, 2006), (Benzer & Ozan, 2003).

2.8.4. Antioksidanların Etki Mekanizmaları

- 1) Süperoksit ya da H₂O₂ gibi ROT'ni ortamdan uzaklaştırırlar veya daha zayıf moleküllere dönüştürürler.
- 2) Katalitik metal iyonlarının ortamdan uzaklaştırılmasında rol oynarlar.
- 3) Oksijeni ortamdan uzaklaştırırlar veya lokal olarak bulunduğu yerde konsantrasyonunu azaltırlar.
- 4) Serbest radikal hasarına neden olan zincirleme reaksiyonların başlamasını önlerler.
- 5) Serbest radikallerin neden olduğu hasara karşı onarıcı etki gösterirler (Özcan et al., 2015).

2.8.5. Antioksidan Etki Şekli

Antioksidanlar dört farklı şekilde etki ederler.

- 1) ROT'ni etkileme yoluyla onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme **toplayıcı etkidir**.
- 2) SORile etkileşme yoluyla onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme **bastırıcı etkidir**.

- 3) ROT'ni bağlayarak zincirlerini kırma yoluyla fonksiyonlarını engelleyici etki **zincir kırıcı etkidir**.
- 4) ROT'nin yol açtığı hasarın onarılması **onarıcı etkidir** (Altınışik, 2000).

2.8.6. İnsan Sağlığı Üzerinde Antioksidanların Rolü

Antioksidanlar oksidatif hasarlara karşı dokuları ve hücreleri koruyucu özelliklere sahiptirler ve bu özellikleri ile yaşlanmaya, doku hasarlarına ve toksik ajanlar ile zehirlenmeye karşı koruyucu ajanlar olarak gösterilmektedirler (Tekkes, 2006).

Genel olarak plazma seviyesinde antioksidanların azalmasının nedenleri sigara kullanımı ve kronik alkolizmdir. Deride, örneğin, UV radyasyonuna karşı bir antioksidan savunma vardır. Bu savunma mekanizması melanin ve antioksidan enzimler ile ve ayrıca besin olarak mevcut olan antioksidanlar ile oluşturulur. Bu savunma sistemi şişlik, kırıksıklık ve cilt kanserini önler. Antioksidanların belirli şartlarda diyabet, astım, hemodiyaliz, talasemi, romatoid artrit, sistemik atak, postmenopoz, şizofreni, kanser, ateroskleroz, inme, nörodejeneratif hastalıklar ve depresyon gibi hastalıklarda yararlı ve koruyucu etkileri kanıtlanmıştır.

Kateşinler, izoflavonlar, lignanlar, flavonoidler, resveratrol, ellagik asit, kuersetin ve kurkumin gibi bazı poliaminlerin antümör etkisi çok çalışılan konulardandır ve bu bileşiklerin çeşitli etki mekanizmaları aracılığı ile ağız, mide, karaciğer, akciğer, duodenum, kolon, deri ve meme bezinde tümör büyümesini azaltabildiği bulunmuştur (Mut-Salud et al., 2015).

2.9. Probiyotikler

İnsan vücudu dinamik bir ekosistemdir ve trilyonlarca mikroorganizmaya ev sahipliği yapmaktadır. Bu mikroorganizmalar faydalı ve zararlı olmak üzere temelde 2 gruba ayrılırlar ve bu mikroorganizmalar denge halinde bulunup faydalı olanlar baskın durumdadır (Bozkurt & ASLIM, 2004).

GİS'in normal florası doğumda sterildir ve yeni doğan dönemle birlikte değişikliğe uğrayarak normal florasına sahip olur. Doğumun 2. ve 5. günlerinden itibaren anne sütü alımına bağlı olarak bir haftanın sonunda Bifidobakteriler gaitanın florasında bol miktarda (10^{10} - 10^{11} /g) bulunurlar. Bifidobakteriler immün sistemin aktivasyonunu sağlayan probiyotik bakterilerdir (Sezen, 2013).

Besin ve flora dengesini düzenleyerek mukozal immüniteyi ve sistemik immüniteyi kontrol eden, yeterli miktarda alındığında konağının sağlığını ve fizyolojisini olumlu yönde etkileyen, bağırsaklarda mikrobiyal dengeyi düzenleyen mikroorganizmalara probiyotik denir. Probiyotik kelimesi Yunanca "pros" ve "bios" kelimelerinden türemiştir ve "yaşaiçin" anlamına gelir (Yılmaz, 2015), (Usta & Urgancı, 2014), (Sezen, 2013).

Dünya Sağlık Örgütü/Gıda ve İlaç İdaresi (WHO/FAO) raporundaki açıklamaya göre probiyotiklerin tanımı "yeterli miktarda tüketildiği zaman konağın sağlığı üzerinde olumlu etkilere sahip olan mikroorganizmalar" şeklindedir. Uluslararası Yaşam Bilimleri Enstitüsü (ILSI)'ne göre de "yeterli miktarda alındıkları zaman tüketici sağlığı üzerinde olumlu etkileri olan canlı mikrobiyal gıda bileşenleri" şeklinde tanımlanmıştır. Her iki tanımlamada ortak nokta probiyotiklerin insan sağlığı üzerinde olumlu etkileri olduğudur (Kıran & Osmanağaoğlu, 2016). Avrupa'da ise Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi probiyotiklerin sağlık üzerindeki etkilerini yetersiz insan çalışmaları nedeniyle kabul etmemektedir (Gallego & Salminen, 2016).

Probiyotik bakterilerin varlığını ilk defa 1907 yılında öne süren bilim adamı, Nobel ödüllü rus Elie Metchnikof (1845-1916)'tur. Sovyetler Birliği sınırları içerisinde yaşamlarını sürdüren Bulgar köylülerin daha uzun yaşadıklarını gözlemlemiştir ve bu köylülerin besinleri içinde önemli bir yere sahip olan yoğurt ve fermente süt ürünlerinde bulunan basil şekilli bakterileri keşfetmiştir. 1965 yılında ise Lily ve Stilwell de probiyotiklerin tanımını yapmışlar, bu bakterilerin bağırsak ortamını kontrol ettiğini söylemişler ve probiyotik içerikli besinlerin kullanımı ile sağlıklı ve uzun bir yaşama sahip olunabileceğini öne sürmüşlerdir (Yılmaz, 2015).

Günümüzde probiyotikler "kullanımlarına bağlı olarak ağızda, GIS, üst solunum yolu ve ürogenital kanalda yararlı etkiye neden olarak konağın sağlığında pozitif yönde bir gelişmeye yol açan mikroorganizmalar" şeklinde tanımlanmaktadır ve bugünkü anlamı ilk kez 1974 yılında Parker tarafından kullanılmıştır (Özbek, 2010), (Doğan, 2012). Probiyotiklerin bağırsak sistemine canlı ulaşabilmesi için 10^6 cfu/g ve daha fazla miktarda olmalı ve içinde bulunduğu gıdanın da üretimi ve raf ömrü süresince canlı kalmaları gerektiği bildirilmiştir (Sezen, 2013).

Probiyotikler, sağlık üzerine çok sayıda yararlı etkilerinden dolayı tamamlayıcı tıpta güçlü bir potansiyele sahiptir. Bakteri hücre yüzey yapıtaşları probiyotikler ve konak arasında sıkı etkileşimler kurmak için anahtar bir rol oynar. Probiyotiklerin patojen bakterilerle rekabete girerek, bağırsak epitelyal bariyerini güçlendirerek ve özellikle ince bağırsakta konağın immün sistemini düzenleyerek insan sağlığı üzerinde etkili olduklarına inanılmaktadır. Bu bakımdan probiyotikler tıpta, gastrointestinal enfeksiyonların önlenmesinde ve tedavisinde, inflamasyonda ve alerjik reaksiyonlarda veya aşılama bir taşıyıcı ve destekleyici olarak büyük bir potansiyele sahiptir (Tripathi et al., 2012).

Bir çalışmaya göre probiyotikler mide duvarındaki hücrelerde protein ekspresyonunu yeni kan hücrelerinin oluşumunda bir artışa yol açarak etkilemektedir ve ülser iyileşmesini arttırmaktadır. Ayrıca probiyotikler kısa zincirli yağ asitleri oluştururlar ve mukozal hücreler için önemli bir besin oluştururlar ve aynı zamanda bağırsak duvarında kan miktarının artmasına yardımcı olurlar (Singh, Deol, & Kaur, 2012). Probiyotikler

büyük çapta beyin-bağırsak etkileşimlerini (mikrobiyom-bağırsak-beyin aksı) etkilerler ve ayrıca alt ve üst GİS'de stres indüklü hasarların gelişmesini zayıflatırlar (Konturek et al., 2011).

Probiyotikler diğer birçok bakteri gibi çok sayıda çeşitli polisakkaritler üretebilmektedir ve bu polisakkaritler ilgili hücrenin bulunduğu yere göre sınıflandırılırlar. Bakteriyal ekzopolisakkaritler (EPS) üretici canlı tarafından enerji kaynağı olarak kullanılmazlar. Bunlar muhtemelen doğal yaşamda kurumaya, fagositeye ve protozoaya, bakteriyofaj tarafından bir saldırıya karşı ve ayrıca antibiyotiklere veya toksik bileşenlere ve osmotik strese karşı koruyucu bir etkiye sahiptirler. EPS'ler aynı zamanda hücre tanınmasında, yüzeylere adezyonda ve çeşitli ekosistemlerde kolonileşmeyi kolaylaştıran biyofilmlerin oluşumunda bir role sahiptirler. Ayrıca EPS'teki fosfat grupları makrofajların ve lenfositlerin aktivasyonundan büyük ölçüde sorumludur (Nasrabadi, Ebrahimi, Banadaki, & Kajousangi, 2011).

Patojen mikroorganizmalarla savaşmak ve hastalıkların önüne geçmek amacıyla en çok tercih edilen yöntem antibiyotik kullanımıdır ancak bazı önemli patojenler antibiyotiğe karşı direnç geliştirmesi sebebiyle antibiyotikler de işe yaramaz hale gelmiştir ve ayrıca antibiyotiklerin kullanımı sonucu yararlı mikroorganizmalarda olumsuz yönde etkilenebilmektedir ve bu durumda vücutta mikrobiyal denge bozulmakta ve yeni hastalıkların oluşumu ile karşı karşıya kalınmaktadır. Bu bakımdan antibiyotik kullanımını en aza indirmek amacıyla antibiyotik temelli olmayan yeni tedavi yöntemlerinin arayışına gidilmiştir ve bakteriyel ekolojinin değiştirilmesinin bu konuda etkili olabileceği düşünülmüştür ve böylece probiyotiklerin tüketimi en çok dikkat çeken yaklaşım olmuştur (Gülsünoğlu, 2013).

Probiyotiklerin klinikte kullanımları veya tamamlayıcı tedavide kullanımları limitlidir, çünkü:

- 1.** Çok sayıda probiyotik için uygun yaşam ortamı azdır, nonkompetitiftirler ve çevrelerine duyarlıdırlar. Bu yüzden fizyolojik bir etki ortaya çıkarmak için yüksek dozlarda probiyotik alımına ihtiyaç vardır. Ayrıca fizyolojik etkiler probiyotiklerin alındığı anda gözlemlenebilmektedir.
- 2.** Probiyotiklerin oral olarak alınması sonucu asidik pH'ya, mekanik strese, sindirim enzimlerine ve safra asitlerine maruz kalmaları sonucu bağırsak mukozasına yerleşmeleri sınırlanmaktadır.
- 3.** Stabilite probiyotiklerin üretimindeki ve saklanmasıdaki bir diğer problemdir (Singh et al., 2012).

2.9.1. Probiyotiklerin Etki Mekanizmaları

1. Patojen ve zararlı bakterilerin sayılarının azaltılmasında etkili olmak
2. Doğal bağışıklığın uyarılmasında ve bağışıklık sisteminin iyileştirilmesinde etkili olmak
3. Besin ve prebiyotik ürünler için patojen bakterilerle yarışmak
4. Antibakteriyel maddeleri üretmek
5. Bağırsak bariyer bütünlüğünün korunmasını sağlamak ve bağırsak yüzeyine yapışmak
6. Anti-inflamatuar sitokinlerin regülasyonunu sağlamak ve pro-inflamatuar sitokinlerin üretimini engellemek
7. Mikrobiyal metabolizmada değişiklik yapmak
8. Toksinlere ve toksin reseptörlerine etki etmek
9. Enzim aktivitesini etkilemek ve enzim taşınımını sağlamak
10. Antimutajenik ve antijenotoksik etki göstermek (Sezen, 2013) (Usta & Urgancı, 2014), (Yangılar, 2015), (Velmani, 2010).

2.9.2. İdeal Bir Probiyotiğin Sahip Olması Gereken Özellikler

1. İnsanın doğal florasında bulunmalıdır
2. Mukozal ve sistemik bir immün cevap oluşturabilmeli ve bağışıklık sistemini iyileştirmelidir
3. Patojenik ve toksik olmamalıdır
4. Konakta yararlı etkiler göstermelidir
5. Kolonizasyon sağlayabilmesi için mide asidinden, duodenum ve safra salgılarından etkilenmemelidir
6. Bağırsaklarda geçici olarak kolonize olmalıdır ve böylece doğal bağırsak florasının yerine geçmemelidir
7. Bağırsak hücrelerine tutunabilmeli, çoğalabilmelidir
8. Proteolitik aktivite göstermelidir
9. Hızlı metabolize olmalıdır ve hızlı gelişebilmelidir
10. Antimikrobiyal maddeleri üretebilmelidir
11. Antibiyotiklere karşı dirençli olmalıdır
12. Endüstriyel özellikte olmalıdır
13. Saklama sırasında ve kullanım esnasında canlı kalabilmelidir
14. Güvenli olmalıdır (Yangılar, 2015), (Usta & Urgancı, 2014), (Özbek, 2010), (Velmani, 2010), (Sağdıç, Küçüköner, & Özçelik, 2004).

2.9.3. Probiyotikler İle Yapılan Klinik Çalışmalar

Etanol indüklü akut gastrik hasarda ön tedavi olarak *Lactobacillus rhamnosus GG* (LGG) suşunun intragastrik yolla uygulanması sonucu PGE-2 seviyesinin bazal gastrik mukozada arttığı gösterilmiştir (Senol et al., 2011).

Nefrektomi yapılan sıçanlarda *Sporosarcina pasteurii* türü probiyotik kullanımı kanda üre konsantrasyonunu düşürmüştür ve yaşam süresini uzatmıştır (Briskey, Tucker, Johnson, & Coombes, 2016).

Streptococcus, *Lactobocillus* ve *Bifidobacterium* içerikli probiyotik ürünlerinin tüketimi sonucu diş çürükleri, ağız kokusu ve *Candida albicans* enfeksiyonlarında olumlu yönde etkili oldukları gösterilmiştir. Periodontal sağlık çalışmalarında periodontopatojen mikroorganizmaların baskılandığı ve inflamasyon sonucu artış gösteren proinflamatuvar sitokinlerin azaldığı belirtilmiştir (Özener & Kuru, 2015).

Clostridium butyricum önemli oranda gastrik mukozal hasarı azaltmıştır ve gastrik mukozada patolojik şartları iyileştirmiştir (Wang, Liu, Luo, Liu, & Jiang, 2015).

Bifidobacter ve *Lactobacillus acidophilus*'un mide asidine karşı dayanıklı oldukları ve *Helicobacter pylori*'nin çoğalmasını engelledikleri ve *Helicobacter pylori* etkenli hastalık vakalarında bu bakterilerin miktarlarının az oldukları bildirilmiştir (Nasrabi et al., 2011).

LGG'nin kronik alkol kullanımına bağlı olarak ortaya çıkan hepatik steatoz hastalığını ve hasarı bağırsak bariyer fonksiyonlarını geliştirerek ve T hücre düzenleyicilerinin ve TH17 hücrelerinin dengesini normalleştirerek önlediği kanıtlanmıştır (Chen et al., 2016).

Lactobacillus rhamnosus LPR ve *Bifidobacterium longum* BL999 veya *Lactobacillus paracasei* ST11 ve *Bifidobacterium longum* BL999 kombinasyonunun hamileliğin son iki ayında kullanılması ve emzirme süresinde ilk iki ay kullanılması sonucu bebek egzaması riskinin önemli derecede istatistiksel ve kliniksel olarak azalabileceği gösterilmiştir (Rautava, Kainonen, Salminen, & Isolauri, 2012).

Pediococcus pentosaceus GS4'ün konjuge linoleik asit üreterek kolon kanseri hücrelerinin çoğalmasını etkili bir şekilde engellediği gösterilmiştir (Dubey, Ghosh, Bishayee, & Khuda-Bukhsh, 2016).

Sıçan modelinde sensitizasyondan önce oral yolla *Lactobacillus casei rhamnosus* Lcr35 verilmesi sonucunda astım hastası sıçanlarda havayolu ile ortaya çıkan inflamasyonun ve aşırı duyarlılığın azaldığı ve ayrıca *Lactobacillus casei rhamnosus* Lcr35'in astımı önlemede bir potansiyele sahip olabileceği bildirilmiştir (Yu et al., 2010).

LGG'nin yoğun şekilde yağa sahip besinler ile beslenerek obez olan sıçanlarda dislipitemiyi ve alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığını önlediği gösterilmiştir (B. Kim et al., 2016).

Lactobacillus rhamnosus GG (LGG)'nin 7 çocuğa verilerek nazokomiyal rotavirüs gastroenteriti gelişimi gözlenmiş ve bir çocuğun korunduğu tespit edilmiştir. American Academy of Pediatrics (AAP) rotavirüs aşısının olması nedeniyle probiyotiklerin rotavirüs ishalini önlemede kullanılmasını çok fazla desteklememektedir ve sadece bazı durumlarda rol oynayabileceklerini onaylamaktadır.

LGG, *Bifidobacterium lactis*, *Streptococcus thermophilus* türlerinin antibiyotiklerin neden oldukları ishali önlemede olumlu etkilerinin olduğu bildirilmiştir.

Probiyotiklerin alerjik hastalıkları önlemede koruyucu oldukları, prenatal dönemden itibaren probiyotik alımının postnatal dönemde alınmasından daha etkili olduğu görülmüştür. Çalışmalarda *LGG*, *Bifidobacterium breve*, *Saccharomyces* türleri, *Bacteroides bifidus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium infantis* türleri kullanılmış ve enteral probiyotik kullanımının nekrotizan enterokoliti ve mortaliteyi azalttığı gösterilmiştir.

Fonksiyonel kabızlığı olan çocuklarda *Lactobacillus casei rhamnosus* (*Lcr35*) yararlı etki göstermiştir.

İtalya'da yapılan bir çalışmada anne sütü ile beslenen 90 adet infantil kolikli bebeğin bir grubu probiyotikle (*Lactobacillus reuteri*, 10^8 cfu/gün) diğer grup simetikon (60 mg/gün) ile tedavi edilmiştir. Ortalama ağlama sürelerine göre tedaviye yanıt probiyotik verilen grupta %95 gibi yüksek bir oranda görülürken simetikon verilen gruptaki oran %7 bulunmuştur (Usta & Urgancı, 2014).

2.9.4. Vücudumuzda Bulunan Laktobasillus Türleri

İnsanlarda sindirim sistemi yaklaşık olarak dört yüz adet farklı bakteri türü içermektedir ve bu bakterilerin miktarı kişiden kişiye farklılık gösterir. Bu bakteriler arasında Laktobasillus probiyotik bakteri türleri bulunmaktadır. Bunlardan bazıları *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus rhamnosus*'tur ve bu bakteriler özellikle ekstraselüler proteinleri, EPS'leri, bakteriyosinleri ve lipoteikoik asitleri üretirler ve bunlar epitel hücreler ile etkileşime geçerek ve konağın immün sistemini güçlendirerek konağın fizyolojisini ve sağlığını etkilerler. Laktobasillus türlerinin tüketimi gıdalarda bulunmaları ve bağırsakta savunma mekanizmasındaki rolleri nedeniyle güvenli olarak kabul edilmektedir (Arasu, Al-Dhabi, Ilavenil, Choi, & Srigopalram, 2016). Laktobasillus türleri özellikle gastrik ülser tedavisinde yararlıdır. Ülser marjinde hücre apoptozunu azaltarak yeni epitelyal hücrelerinin oluşumuna yardımcıdırlar (Singh & Kaur, 2012). Ayrıca Laktobasillus türleri vücut savunma mekanizmasını güçlendiren bazı immün sistem hücrelerini uyarırlar (Singh et al., 2012).

2.9.4.1. Lactobacillus rhamnosus GG

Lactobacillus rhamnosus GG bağırsak sisteminin ve vajinal sistemin mikroflorasından birisidir ve gastrik asiditeye karşı dirençlidir ve aynı zamanda safra varlığında da iyi bir gelişim gösterir. Ulaşacağı sisteme

nispeten hızlı bir şekilde ulaşır. Bağışıklık yanıtını arttırır ve besinlerin alerjik etkilerini azaltır. Fagositozu uyarır. Çeşitli hastalıklarda olumlu yönde bir etkiye sahiptir (Velmani, 2010).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada sağlıklı, 8-9 aylık ve ortalama 420 gr ağırlığında *Wistar albino* erkek sıçanlar arasından rastgele seçimle her birinde n=7'şer sıçan olmak üzere toplam 6 grupta toplam 42 adet sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi'nden alınmıştır. Deney Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır. Sıçanların uyum sağlaması açısından 1 hafta beklenmiştir. Uygulamalar süresince tüm deney hayvanları 12/12 aydınlık/karanlık ışıklandırması olan, sıcaklığı (22±2 °C) ve nemi (%45-50) optimize edilmiş odalarda, polikarbonat şeffaf kafeslerde standart pellet yem ile beslenip çeşme suyu verilerek yaşatılmıştır.

3.1.2. Probiyotik Bakteri: *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103)

Lactobacillus rhamnosus GG (ATCC 53103) probiyotik bakterisi Kayseri Erciyes Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nden alınmıştır.

3.1.3. Kimyasal Maddeler ve Malzemeler

- MRS Broth (Merck)
- Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103)
- Serum fizyolojik
- Panto 40 mg IV (SANDOZ)
- Wistar albino* erkek sıçan
- Fosforik asit
- Tiyobarbitürik asit (TBA)
- Butanol
- 1.1.3.3. Tetraetoksipropan
- Sıvı nitrojen
- Fosfat tamponlu salin (PBS)
- Lizis buffer (5mM.Tris-HCl, 20 Mm edta, %0,5 Triton X-100, pH:8)

- Perklorik asit
- Distile su
- Difenilamin
- Glasiyel asetik asit
- Sülfürük asit
- Asetaldehit
- Sodyum asetat
- Sükroz
- HCl
- Alcian blue
- Magnezyum klorür
- Dietil eter
- Çeşme suyu
- Enjeksiyonluk su
- Alkol (%70-80-90-96'lık seriler)
- Ksilol
- Parafin
- Hematoksilen
- Entellan
- RIPA sc-24948
- DMSO (dimetil sülfoksit)
- PMSF (phenylmethylsulfonyl fluoride)
- Sodyum ortovanadat
- Bradford Reagent
- Western blotting luminol reagent solution A
- Western blotting luminol reagent solution B
- BSA (bovine serum albumin)
- Amonyum persülfat (APS) (%10 luk)

- Resolver A
 - Resolver B
 - Stacker A
 - Stacker B
 - Running buffer
 - Transfer buffer
 - Yıkama (Washing) solüsyonu
 - Metanol
 - Ripa buffer
 - Western blocker
 - Sekonder antibody
 - HSP70 antibody-rabbit polyclonal
 - Peroxidase-conjugated affinipure goat anti-rabbit IgG (H+L)
 - Beta actin antibody rabbit polyclonal
 - Immün blot pvdf membran
 - Clarity western ecl substrate
 - 10x tris glycine sds
 - Blotting grade blocker nonfat dry milk
 - Toluidin mavisi
 - Formaldehit (%37)
 - Jelli biyokimya tüpü
 - EDTA'lı tüp
 - 96 kuyucuklu mikroplaka
 - Tween 20
 - Temed
- 3.1.4.Cihazlar**
- Buz makinesi
 - Buzdolabı (+4)
 - Çeker ocak

- Derin dondurucu(-20)
- Derin dondurucu(-80)
- Distile su cihazı
- Enjektör (1 ml - 5 ml - 10ml – 50 ml)
- Etüv
- Falkon
- Bunsen beki
- Öze
- Çakmak
- Otoklav
- SM-N9000Q Galaxy Note 3 cep telefonu
- Hassas terazi
- Hayvan kafesi
- Homojenizatör
- Laboratuar Saati
- Manyetik karıştırıcı
- Mikrotom
- Makas
- Bistüri
- Penset
- Dişli penset
- Klemp
- Otomatik pipetler
- Otomatik pipet uçları
- Parafilm
- pH metre
- Pipet (10ml)
- Santrifüj tüpleri

- Soğutmalı santrifüj
- Spektrofotometre
- Spektrofotometre tüpleri
- Olympus BH22 mikroskop
- Olympus DP-70 dijital kamera
- Cetvel
- Stres kafesi
- Alüminyum kafes 20x20x20
- Plate
- Plate membran
- Sıcak ve soğuk su banyosu
- Histoloji kaseti
- Vorteks
- McFarland 1-5-10 standart tüpleri
- Beher
- Balon joje
- Cam kalemi
- Cam fanus
- Eldiven
- Elisa Reader
- Işık mikroskobu
- Poly lysinli lam
- Lamel
- Mezür
- Pamuk
- Plastik doku takip kaseti
- Soğutmalı santrifüj
- Tüp

- Tüplük
- Vial (2ml)
- Yatay ve dikey şale
- Bio-Rad Mini-PROTEAN Tetra System
- YHB0476Ra sıçan GK elisa kiti
- YHB0207Ra sıçan KAT elisa kiti
- YHB1021Ra sıçan SOD elisa kiti
- YHB1184Ra sıçan GSH-Px elisa kiti
- YHB0785Ra sıçan NO elisa kiti

3.2. Yöntem

3.2.1. Bakteri İçeriğinin Hazırlanması

MRS Broth sıvı besiyeri (Merck) 52,2 g/L olarak hazırlandı, deney tüplerine konuldu, 121°C'de 15 dk otoklavlanarak sterilizasyon sağlandı. Daha sonra soğumaya bırakıldı. Soğuduktan sonra *Lactobacillus rhamnosus* GG MRS Broth sıvı besiyerine ekildi. 24 saat süre ile 37°C'de inkübasyona bırakıldı. 24 saatin sonunda içerisinde bakteri bulunan deney tüpleri 2500 rpm de 3 dk santrifüjlenerek bakterilerin çökmesi sağlandı. Sıvı kısım olan besiyeri atıldı. Böylece deney tüplerinde sadece bakterilerin kalması sağlandı. Deney tüplerine steril serum fizyolojik eklendi ve McFarland-1, McFarland-5, McFarland-10 standartlarına göre bakteri içeriği hazırlandı.

3.2.2. Pantoprazol İçeriğinin Hazırlanması

Liyofilize toz halinde pantoprazol etken maddeli Panto 40 mg IV (SANDOZ) 10 ml serum fizyolojik içerisinde çözdürüldü. 4mg/ml pantoprazol içeriği elde edildi.

3.2.3. Deney Grupları ve Doz Miktarları

Bu çalışmada sağlıklı, 8-9 aylık ve ortalama 420 gr ağırlığında *Wistar albino* erkek sıçanlar arasından rastgele seçimle her birinde n=7'ser sıçan olmak üzere toplam 6 grupta toplam 42 adet sıçan kullanılmıştır.

Kontrol Grubu: Deney hayvanları deney süresince sadece sıçan yemi ile beslendi. Oral yolla 1 hafta boyunca serum fizyolojik (1 ml/gün) verildi. 8. gün sıçanlar etik kurallar dahilinde eter anestezisi altında bayıltıldı, intrakardiyak yolla kalpten kan alındı ve bu yolla kurban edildi ve diseksiyon gerçekleştirildi.

Stres Grubu: Deney hayvanları deney süresince sadece sıçan yemi ile beslendi. Oral yolla 1 hafta boyunca serum fizyolojik (1 ml/gün) verildi.

8. gün deney hayvanları 20x20x20 ebatında alüminyum kafeslere konularak 24 saat aç bırakıldı. Deneye alınmadan 1 saat öncesine kadar su alımı serbest bırakıldı. 9. gün sıçanlar tel kafesler içinde hareket etmeyecek şekilde (soğuk + immobilizasyon) + 4 °C'de 4 saat tutularak stres ülseri yapıldı ve sonra sıçanlar etik kurallar dahilinde eter anestezisi altında bayıltıldı, intrakardiyak yolla kalpten kan alındı ve bu yolla sakrifiye edildi ve disseksiyon gerçekleştirildi.

Pantoprazol Grubu: Deney hayvanları deney süresince sıçan yemi ile beslendi. 1 hafta boyunca oral yolla 4mg/ml/gün pantoprazol verildi. 8. gün deney hayvanları 20x20x20 ebatında alüminyum kafeslere konularak 24 saat aç bırakıldı. Deneye alınmadan 1 saat öncesine kadar su alımı serbest bırakıldı. 9. gün sıçanlar tel kafesler içinde hareket etmeyecek şekilde (soğuk + immobilizasyon) + 4 °C'de 4 saat tutularak stres ülseri yapıldı ve sonra sıçanlar etik kurallar dahilinde eter anestezisi altında bayıltıldı, intrakardiyak yolla kalpten kan alındı ve bu yolla sakrifiye edildi ve disseksiyon gerçekleştirildi.

***Lactobacillus rhamnosus* GG M-1 Grubu:** Deney hayvanları deney süresince sıçan yemi ile beslendi. *L. rhamnosus* probiyotik bakterisi 1 hafta boyunca McFarland-1 (=M-1 grubu) standardına göre (3×10^8 cfu/ml) günde 1 defa verildi. 8. Gün deney hayvanları 20x20x20 ebatında alüminyum kafeslere konularak 24 saat aç bırakıldı. Deneye alınmadan 1 saat öncesine kadar su alımı serbest bırakıldı. 9. gün sıçanlar tel kafesler içinde hareket etmeyecek şekilde (soğuk + immobilizasyon) + 4 °C'de 4 saat tutularak stres ülseri yapıldı ve sonra sıçanlar etik kurallar dahilinde eter anestezisi altında bayıltıldı, intrakardiyak yolla kalpten kan alındı ve bu yolla sakrifiye edildi ve disseksiyon gerçekleştirildi.

***Lactobacillus rhamnosus* GG M-5 Grubu:** Deney hayvanları deney süresince sıçan yemi ile beslendi. *L. rhamnosus* probiyotik bakterisi 1 hafta boyunca McFarland-5 (=M-5 grubu) standardına göre (15×10^8 cfu/ml) günde 1 defa verildi. 8. gün deney hayvanları 20x20x20 ebatında alüminyum kafeslere konularak 24 saat aç bırakıldı. Deneye alınmadan 1 saat öncesine kadar su alımı serbest bırakıldı. 9. gün sıçanlar tel kafesler içinde hareket etmeyecek şekilde (soğuk + immobilizasyon) + 4 °C'de 4 saat tutularak stres ülseri yapıldı ve sonra sıçanlar etik kurallar dahilinde eter anestezisi altında bayıltıldı, intrakardiyak yolla kalpten kan alındı ve bu yolla sakrifiye edildi ve disseksiyon gerçekleştirildi.

***Lactobacillus rhamnosus* GG M-10 Grubu:** Deney hayvanları deney süresince sıçan yemi ile beslendi. *L. rhamnosus* probiyotik bakterisi 1 hafta boyunca McFarland-10 (=M-10 grubu) standardına göre (30×10^8 cfu/ml) günde 1 defa verildi. 8. Gün deney hayvanları 20x20x20 ebatında alüminyum kafeslere konularak 24 saat aç bırakıldı. Deneye alınmadan 1 saat öncesine kadar su alımı serbest bırakıldı. 9. gün sıçanlar tel kafesler içinde hareket etmeyecek şekilde (soğuk + immobilizasyon) + 4 °C'de 4 saat tutularak stres ülseri yapıldı ve sonra sıçanlar etik kurallar dahilinde

eter anestezi altında bayıldı, intrakardiyak yolla kalpten kan alındı ve bu yolla sakrifiye edildi ve diseksiyon gerçekleştirildi.



Şekil 3.1: Tel kafesler içinde immobilizasyon

3.2.4. Deney Hayvanlarından Çalışılacak Örneklerin Alınması

Tüm deney gruplarındaki sıçanlardan intrakardiyak yolla kalpten kan alındı ve daha sonra mideleri alındı. Mideler alınmadan önce kardiyak ve pilor bölümlerinden klemple tutuldu. Mide içerisine 2 ml serum fizyolojik konuldu. Daha sonra mide alımı gerçekleştirildi ve mide içeriğindeki sıvı pH ölçümü için klempler alınarak deney tüpüne döküldü. Mide kurvatürden ikiye ayrıldı ve ülserli alanların ölçümü için cetvel önünde Samsung N9000Q Galaxy Note 3 cep telefonu ile fotoğraf çekimi yapıldı. Sonra mide 4 eşit parçaya ayrıldı ve bir parçası histolojik inceleme için histoloji kasetlerine alındı ve %10'luk formaldehit içerisine konuldu, diğer 3 parça ise sıvı nitrojenle dondurularak diğer incelemeler için -80 °C'de saklandı.

3.2.5. Mide Dokusunda Ülserli Alanların Belirlenmesi

-Image J programı kullanılarak ülserli alanlar hesaplandı.



Şekil 3.2: Ülser hesaplanmasında kullanılacak fotoğraf tipi

-Program açıldıktan sonra file seçeneğine tıklanarak açılan pencereden open seçeneği tıklandı.

-Ülser alanı hesaplanacak resim seçildi.

-Daha sonra straight seçeneğine tıklanarak cetvel üzerinde 1 mm'lik aralık seçildi.

-Analyze seçeneğine tıklanarak known distance kutucuğuna ve pixel aspect ratio kutucuğuna 1 yazıldı.

-Unit of length kutucuğuna mm yazıldı.

-Freehand selections seçeneğine tıklanarak resmin tüm alanı çizildi.

-Ctrl+M' ye tıklandı ve alan büyüklüğü mm cinsinden kaydedildi.

-Daha sonra ne kadar ülserli bölge varsa bu bölgelerin alanı çizildi, Ctrl+M'ye tıklanarak sonuçlar kaydedildi.

-Ülserli bölgelerin alanları toplandı. İlk olarak hesaplanan tüm alana bütün ülserli bölgelerin toplamı bölünerek ülserli alan hesabı yapıldı.

3.2.6. pH Ölçümü: Deney tüplerine dökülen 2 ml'lik sıvıda pH metre kullanılarak pH ölçümü yapıldı ve midedeki asidite oranı belirlendi.

3.2.7. Serum Eldesi: İntrakardiyak yolla kalpten alınan kanlar sarı kapaklı jelli biyokimya tüplerine konuldu. +4 °C'de 10 dk 2500 rpm devirde santrifüjlenerek serum elde edildi. Serumlar GK seviyesinin belirlenmesi için viallere aktarılarak -80 °C'de saklandı.

3.2.8. Mide Dokusunda GK, KAT, SOD, GSH-Px, NO, MDA Seviyesinin Belirlenmesi İçin Homojenat Hazırlanması

- Mide dokusu tartıldı

- 1 ml PBS (1X) içerisine konuldu

- Homojenizatörde homojenize edildi

- Homojenat 20 dk 2500 rpm de santrifüjlendi

- Süpernatant viallere alınarak -80 °C'de saklandı

3.2.9. Mide Dokusunda ve Serumda GK Seviyesinin Belirlenmesi:

Mide dokusunda ve serumda GK seviyesi YHB0476Ra (Shanghai Yhchem Technology Co., Ltd.,ÇİN) sıçan GK elisa kiti kullanılarak ölçüldü.

Mide dokusunda ölçüm:

Standart solüsyonu aşağıdaki tabloya göre hazırlandı.

320 ng/L	Standart No:5	120 µl stok standart + 120 µl standart çözücü
160 ng/L	Standart No:4	120 µl Standart No:5 + 120 µl standart
80 ng/L	Standart No:3	120 µl Standart No:4 + 120 µl standart
40 ng/L	Standart No:2	120 µl Standart No:3 + 120 µl standart
20 ng/L	Standart No:1	120 µl Standart No:2 + 120 µl standart

Örneği yükleme işlemi:

1)Kör kuyucuğu: homojenat biotin ve streptavidin-HRP etiketli anti-GK antikoru eklenmez. Kromojen A ve B, sonlandırma (stop) solüsyonu eklendi

2)Standart solüsyon kuyucuğu: 50 µl standart (1-2-3-4-5) ve 50 µl streptomycin-HRP eklendi

3)Homojenat: Her kuyucuğa 40 µl homojenat eklendi ve üzerine 10 µl GK antikoru ve 50 µl streptavidin-HRP eklendi

Plate, plate membran ile kaplandı

Dikkatlice ve yavaşça çalkalandı

37°C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı

Yıkama solüsyonu distile su ile 30X kez seyreltildi

1 saatin sonunda membran dikkatlice çıkartıldı, kuyucuk içindeki sıvılar tamamen atıldı

Tüm kuyucuklara yıkama solüsyonu eklendi ve 30 sn beklendi, daha sonra yıkama solüsyonu atıldı, bu işlem 5 kez tekrarlandı

Her kuyucuğa 50 µl kromojen A eklenir ve sonra 50 µl kromojen B eklendi

Dikkatlice ve yavaşça çalkalandı

10 dk 37°C'de karanlık ortamda renk değişimi için inkübasyona bırakıldı

Durdurma: 10 dk sonunda her kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve maviden sarıya dönen bir renk değişimi oluştu

Kör kuyucuğundaki solüsyonun absorbansı kör olarak kullanıldı

Homojenatların absorbansları 450 nm'de elisa cihazında ölçüldü, ölçüm durdurma solüsyonu eklendikten sonra 10 dk içinde olmalıdır

Standart konsantrasyonlarına göre standart eğrisi çizildi. Eğri çizgisine en yakın değer alındı ve homojenatların GK seviyesi ng/L olarak hesaplandı

Serumda ölçüm:

Standart solüsyonu aşağıdaki tabloya göre hazırlandı.

320 ng/L	Standart No:5	120 µl stok standart + 120 µl standart çözücü
160 ng/L	Standart No:4	120 µl Standart No:5 + 120 µl standart çözücü
80 ng/L	Standart No:3	120 µl Standart No:4 + 120 µl standart çözücü
40 ng/L	Standart No:2	120 µl Standart No:3 + 120 µl standart çözücü
20 ng/L	Standart No:1	120 µl Standart No:2 + 120 µl standart çözücü

Örneği yükleme işlemi:

1)Kör kuyucuğu: Serum, biotin ve streptavidin-HRP etiketli anti- GK antikoru eklenmez. Kromojen A ve B, sonlandırma (stop) solüsyonu eklendi

2)Standart solüsyon kuyucuğu: 50 µl standart (1-2-3-4-5) ve 50 µl streptomycin-HRP eklendi

3)Serum: Her kuyucuğa 40 µl serum eklendi ve üzerine 10 µl GK antikoru ve 50 µl streptavidin-HRP eklendi

Plate, plate membran ile kaplandı

Dikkatlice ve yavaşca çalkalandı

37°C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı

Yıkama solüsyonu distile su ile 30X kez seyreltildi

1 saatin sonunda membran dikkatlice çıkartıldı, kuyucuk içindeki sıvılar tamamen atıldı

Tüm kuyucuklara yıkama solüsyonu eklendi ve 30 sn beklendi, daha sonra yıkama solüsyonu atıldı, bu işlem 5 kez tekrarlandı

Her kuyucuğa 50 µl kromojen A eklendi ve sonra 50 µl kromojen B eklendi

Dikkatlice ve yavaşça çalkalandı

10 dk 37°C'de karanlık ortamda renk değişimi için inkübasyona bırakıldı

Durdurma: 10 dk sonunda her kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve maviden sarıya dönen bir renk değişimi oluştu

Kör kuyucuğundaki solüsyonun absorbansı kör olarak kullanıldı

Örneklerin absorbansları 450 nm'de elisa cihazında ölçüldü, ölçüm durdurma solüsyonu eklendikten sonra 10 dk içinde olmalıdır

Standart konsantrasyonlarına göre standart eğrisi çizildi. Eğri çizgisine en yakın değer alındı ve örneklerin GK seviyesi ng/L olarak hesaplandı

3.2.10. Mide Dokusunda KAT Seviyesinin Belirlenmesi

Mide dokusunda KAT seviyesi YHB0207Ra (Shanghai Yhchem Technology Co., Ltd.,ÇİN) sıçan KAT elisa kiti kullanılarak ölçüldü.

Standart solüsyonu aşağıdaki tabloya göre hazırlandı.

160 ng/ml	Standart No:5	120 µl stok standart + 120 µl standart çözücü
80 ng/ ml	Standart No:4	120 µl Standart No:5 + 120 µl standart çözücü
40 ng/ ml	Standart No:3	120 µl Standart No:4 + 120 µl standart çözücü
20 ng/ ml	Standart No:2	120 µl Standart No:3 + 120 µl standart çözücü
10 ng/ ml	Standart No:1	120 µl Standart No:2 + 120 µl standart çözücü

Örneği yükleme işlemi:

1)Kör kuyucuğu: homojenat biotin ve streptavidin-HRP etiketli anti-KAT antikoru eklenmez. Kromojen A ve B, sonlandırma (stop) solüsyonu eklendi

2)Standart solüsyon kuyucuğu: 50 µl standart (1-2-3-4-5) ve 50 µl streptomycin-HRP eklendi

3)Homojenat: Her kuyucuğa 40 µl homojenat eklendi ve üzerine 10 µl KAT antikoru ve 50 µl streptavidin-HRP eklendi

Plate, plate membran ile kaplandı

Dikkatlice ve yavaşca çalkalandı

37°C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı

Yıkama solüsyonu distile su ile 30X kez seyreltildi

1 saatin sonunda membran dikkatlice çıkartıldı, kuyucuk içindeki sıvılar tamamen atıldı

Tüm kuyucuklara yıkama solüsyonu eklendi ve 30 sn beklendi, daha sonra yıkama solüsyonu atıldı, bu işlem 5 kez tekrarlandı

Her kuyucuğa 50 µl kromojen A eklendi ve sonra 50 µl kromojen B eklendi

Dikkatlice ve yavaşca çalkalandı

10 dk 37°C'de karanlık ortamda renk değişimi için inkübasyona bırakıldı

Durdurma: 10 dk sonunda her kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve maviden sarıya dönen bir renk değişimi oluştu

Kör kuyucuğundaki solüsyonun absorbanısı kör olarak kullanıldı

Homojenatların absorbanları 450 nm'de elisa cihazında ölçüldü, ölçüm durdurma solüsyonu eklendikten sonra 10 dk içinde olmalıdır

Standart konsantrasyonlarına göre standart eğrisi çizildi. Eğri çizgisine en yakın değer alındı ve homojenatların KAT seviyesi ng/ml olarak hesaplandı

3.2.11. Mide Dokusunda SOD Seviyesinin Belirlenmesi

Mide dokusunda SOD seviyesi YHB1021Ra (Shanghai Yhchem Technology Co., Ltd.,ÇİN) sıçan SOD elisa kiti kullanılarak ölçüldü.

Standart solüsyonu aşağıdaki tabloya göre hazırlandı.

12 ng/ml	Standart No:5	120 µl stok standart + 120 µl standart
6 ng/ml	Standart No:4	120 µl Standart No:5 + 120 µl standart
3 ng/ml	Standart No:3	120 µl Standart No:4 + 120 µl standart
1.5 ng/ml	Standart No:2	120 µl Standart No:3 + 120 µl standart
0.75 ng/ml	Standart No:1	120 µl Standart No:2 + 120 µl standart

Örneği yükleme işlemi:

1)Kör kuyucuğu: homojenat biotin ve streptavidin –HRP etiketli anti-SOD antikoru eklenmez. Kromojen A ve B, sonlandırma (stop) solüsyonu eklendi

2)Standart solüsyon kuyucuğu: 50 µl standart (1-2-3-4-5) ve 50 µl streptomycin-HRP eklendi

3)Homojenat: Her kuyucuğa 40 µl homojenat eklendi ve üzerine 10 µl SOD antikoru ve 50 µl streptavidin-HRP eklendi

Plate, plate membran ile kaplandı

Dikkatlice ve yavaşça çalkalandı

37°C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı

Yıkama solüsyonu distile su ile 30X kez seyreltildi

1 saatin sonunda membran dikkatlice çıkartıldı, kuyucuk içindeki sıvılar tamamen atıldı

Tüm kuyucuklara yıkama solüsyonu eklendi ve 30 sn beklendi, daha sonra yıkama solüsyonu atıldı, bu işlem 5 kez tekrarlandı

Her kuyucuğa 50 µl kromojen A eklendi ve sonra 50 µl kromojen B eklendi

Dikkatlice ve yavaşça çalkalandı

10 dk 37°C'de karanlık ortamda renk değişimi için inkübasyona bırakıldı

Durdurma: 10 dk sonunda her kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve maviden sarıya dönen bir renk değişimi oluştu

Kör kuyucuğundaki solüsyonun absorbansı kör olarak kullanıldı

Homojenatların absorbansları 450 nm'de elisa cihazında ölçüldü, ölçüm durdurma solüsyonu eklendikten sonra 10 dk içinde olmalıdır

Standart konsantrasyonlarına göre standart eğrisi çizildi. Eğri çizgisine en yakın değer alındı ve homojenatların SOD seviyesi ng/ml olarak hesaplandı

3.2.12. Mide Dokusunda GSH-PxSeviyesinin Belirlenmesi

Mide dokusunda GSH-Pxseviyesi YHB1184Ra (Shanghai Yhchem Technology Co., Ltd.,ÇİN) sıçan GSH-Pxelisa kiti kullanılarak ölçüldü.

Standart solüsyonu aşağıdaki tabloya göre hazırlandı.

640 U/ml	Standart No:5	120 µl stok standart + 120 µl standart
320 U/ml	Standart No:4	120 µl Standart No:5 + 120 µl standart
160 U/ml	Standart No:3	120 µl Standart No:4 + 120 µl standart
80 U/ml	Standart No:2	120 µl Standart No:3 + 120 µl standart
40 U/ml	Standart No:1	120 µl Standart No:2 + 120 µl standart

Örneği yükleme işlemi:

1)Kör kuyucuğu: homojenat biotin ve streptavidin -HRP etiketli anti-GSH-Px antikoru eklenmez. Kromojen A ve B, sonlandırma (stop) solüsyonu eklendi

2)Standart solüsyon kuyucuğu: 50 µl standart (1-2-3-4-5) ve 50 µl streptomycin-HRP eklendi

3)Homojenat: Her kuyucuğa 40 µl homojenat eklendi ve üzerine 10 µl GSH-Px antikoru ve 50 µl streptavidin-HRP eklendi

Plate, plate membran ile kaplandı

Dikkatlice ve yavaşca çalkalandı

37°C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı

Yıkama solüsyonu distile su ile 30X kez seyreltildi

1 saatin sonunda membran dikkatlice çıkartıldı, kuyucuk içindeki sıvılar tamamen atıldı

Tüm kuyucuklara yıkama solüsyonu eklendi ve 30 sn beklendi, daha sonra yıkama solüsyonu atıldı, bu işlem 5 kez tekrarlandı

Her kuyucuğa 50 µl kromojen A eklendi ve sonra 50 µl kromojen B eklendi

Dikkatlice ve yavaşca çalkalandı

10 dk 37°C'de karanlık ortamda renk değişimi için inkübasyona bırakıldı

Durdurma: 10 dk sonunda her kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve maviden sarıya dönen bir renk değişimi oluştu

Kör kuyucuğundaki solüsyonun absorbansı kör olarak kullanıldı

Homojenatların absorbansları 450 nm'de elisa cihazında ölçüldü, ölçüm durdurma solüsyonu eklendikten sonra 10 dk içinde olmalıdır

Standart konsantrasyonlarına göre standart eğrisi çizildi. Eğri çizgisine en yakın değer alındı ve homojenatların GSH-Px seviyesi U/ml olarak hesaplandı

3.2.13. Mide Dokusunda NO Seviyesinin Belirlenmesi

Mide dokusunda NO seviyesi YHB0785Ra (Shanghai Yhchem Technology Co., Ltd.,ÇİN) sıçan NO Elisa kiti kullanılarak ölçüldü.

Standart solüsyonu aşağıdaki tabloya göre hazırlandı.

320 µmol/L	Standart No:5	120 µl stok standart + 120 µl standart
160 µmol/L	Standart No:4	120 µl Standart No:5 + 120 µl standart
80 µmol/L	Standart No:3	120 µl Standart No:4 + 120 µl standart
40 µmol/L	Standart No:2	120 µl Standart No:3 + 120 µl standart
20 µmol/L	Standart No:1	120 µl Standart No:2 + 120 µl standart

Örneği yükleme işlemi:

1)Kör kuyucuğu: homojenat biotin ve streptavidin –HRP etiketli anti-NO antikoru eklenmez. Kromojen A ve B, sonlandırma (stop) solüsyonu eklendi

2)Standart solüsyon kuyucuğu: 50 µl standart (1-2-3-4-5) ve 50 µl streptomycin-HRP eklendi

3)Homojenat: Her kuyucuğa 40 µl homojenat eklendi ve üzerine 10 µl NO antikoru ve 50 µl streptavidin-HRP eklendi

Plate, plate membran ile kaplandı

Dikkatlice ve yavaşca çalkalandı

37°C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı

Yıkama solüsyonu distile su ile 30X kez seyreltildi

1 saatin sonunda membran dikkatlice çıkartıldı, kuyucuk içindeki sıvılar tamamen atıldı

Tüm kuyucuklara yıkama solüsyonu eklendi ve 30 sn beklendi, daha sonra yıkama solüsyonu atıldı, bu işlem 5 kez tekrarlandı

Her kuyucuğa 50 µl kromojen A eklendi ve sonra 50 µl kromojen B eklendi

Dikkatlice ve yavaşca çalkalandı

10 dk 37 °C'de karanlık ortamda renk değişimi için inkübasyona bırakıldı

Durdurma: 10 dk sonunda her kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve maviden sarıya dönen bir renk değişimi oluştu

Kör kuyucuğundaki solüsyonun absorbansı kör olarak kullanıldı

Homojenatların absorbansları 450 nm'de elisa cihazında ölçüldü, ölçüm durdurma solüsyonu eklendikten sonra 10 dk içinde olmalıdır

Standart konsantrasyonlarına göre standart eğrisi çizildi. Eğri çizgisine en yakın değer alındı ve homojenatların NO seviyesi µmol/L olarak hesaplandı

3.2.14. Mide Dokusunda MDA Seviyesinin Belirlenmesi

Yöntemin amacı; lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden olan MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile verdiği renk reaksiyonuna dayanmaktadır (Özbayer et al., 2011).

a.Çözeltiler

1.%1'lik fosforik asit çözeltisi: 1 ml fosforik asit, distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

2.%0,6 TBA çözeltisi: 6 gr TBA 1000 ml distile suda çözdürüldü.

b.Spektrofotometrede okuma

Her ölçümde bir kör tüpü ve örnek tüpleri hazırlandı.

Kör tüpüne 0.25 ml distile su, 1.5 ml fosforik asit çözeltisi, 1 ml TBA çözeltisi; örnek tüpüne 0,25 ml örnek, 1.5 ml fosforik asit çözeltisi, 1 ml TBA çözeltisi ilave edildi.

Kör ve örnek tüpleri kaynar su içinde 45 dk bekletildi.

Tüpler soğuduktan sonra içlerine 2 ml butanol ilave edildi.

Tüpler eşit süre ile vortekslendi.

3500 rpm'de 10 dk santrifüj edildi.

Ölçüm için süpernatant alındı.

Spektrofotometre 532 nm'de distile su ile sıfırlandıktan sonra kör ve örnek tüplerinin absorbanları okundu.

c.Sonucun hesaplanması

1.Konsantrasyonların belirlenebilmesi için lipid peroksit standart (1.1.3.3. tetraetoksipropan) 1,2,4,6,8,10 nmol/ml de hazırlandı.

2.Standart eğrisinin hazırlanması

Kör tüpüne 0.25 ml distile su, 1.5 ml fosforik asit çözeltisi, 1 ml TBA çözeltisi konuldu.

Standart tüplerine 0,25 ml farklı konsantrasyonlarda standart, 1.5 ml fosforik asit çözeltisi, 1 ml TBA çözeltisi ilave edildi ve absorbanlar okundu. Okunan absorbanlara göre standart eğrisi çizildi.

Standart eğrisinde spektrofotometreden okunan absorban değerine karşılık gelen konsantrasyon değerleri okundu. Örneklerdeki MDA değeri μM olarak hesaplandı.

3.2.15. Mide Dokusunda DNA Fragmantasyon Seviyesinin Belirlenmesi

DNA fragmantasyonu ölçümünde spektrofotometrik bir ölçüm metoduna dayanan difenilamin reaksiyonu kullanılmıştır (Entok et al., 2014), (Su et al., 2003).

Ölçüm Prensipleri:

Temel olarak DNA'nın hidrolizi esasına dayanmaktadır. Açığa çıkan 2-deoksiriboz'lar dehidrasyon ile aldehite dönüştüğünde ortama eklenen difenilamin ile mavi renkli bileşikler oluşur. DNA konsantrasyonu arttıkça mavi renk koyulaşır.

Örnek Hazırlanması

a. Doku homojenatının hazırlanması

-Dokular -80 °C'de saklandığı dondurucudan çıkarıldı ve her biri 0,1 gr olarak tartıldı.

-Üzerlerine 0,9 ml Lizis buffer (5mM.Tris-HCl, 20 Mm edta, %0,5 Triton X-100, pH:8) eklenerek homojenize edildi.

-Homojenat + 4 °C'de 20000 xg'de 30 dk santrifüj edildi.

-Fragmente DNA içeren kısım olan süpernatant dikkatlice alındı ve başka bir tüpe aktarıldı. Pellet ise intakt DNA içeren kısımdır.

-Süpernatantın ve pelletin DNA içerikleri difenilamin reaksiyonu kullanılarak ölçüldü.

b. Çözeltiler

-0,5 N Perklorik asit: 8,6 ml perklorik asit alındı ve distile su ile 200 ml'ye tamamlandı.

-Solüsyon A: 1,5 gr difenilamin, 100 ml glasiyel asetik asitte çözüldü ve üzerine 1,5 ml sülfürik asit eklendi. Bu solüsyon karanlıkta saklandı.

-Solüsyon B: 50 ml deiyonize su ile 1 ml asetaldehit karıştırılarak hazırlandı ve taze olarak kullanıldı.

c. Spektrofotometrik ölçüm

1. Süpernatantların DNA içeriğinin ölçümü

-Numaralandırılan örnek tüplerine 639 µl süpernatant alındı.

-Üzerlerine 28.6 µl konsantre perklorik asit eklendi.

-Kör olarak 0,5 N perklorik asit kullanıldı.

-Kör ve örnek tüpleri 90 °C'de 15 dk inkübasyona bırakıldı.

-İnkübasyon sonrası 1500 rpm'de 10 dk santrifüj edildi.

-Süpernatanttan 0,25 ml alındı, 0,75 ml solüsyon A ve 1,25 µl solüsyon B eklendi.

-Oda ısısında 18 saat inkübasyona bırakıldı.

-İnkübasyon sonrası örneklerin absorbanları 600 nm'de köre karşı okundu

2. Pelletlerin DNA içeriğinin ölçümü

-Numaralandırılan pelletlerin üzerine 2 ml 0,5 N perklorik asit eklendi

-Kör olarak 0,5 N perklorik asit kullanıldı

-Kör ve pellet tüpleri 90 °C'de 15 dk inkübasyona bırakıldı.

-İnkübasyon sonrası 1500 rpm'de 10 dk santrifüj edildi.

-Süpernatanttan 0,25 ml alındı, 0,75 ml solüsyon A ve 1,25 µl solüsyon B eklendi.

-Oda ısısında 18 saat inkübasyona bırakıldı.

-İnkübasyon sonrası örneklerin absorbanları 600 nm'de köre karşı okundu

d. Sonucun hesaplanması

Örneklerin absorbanları 600 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldükten sonra DNA fragmentasyon sonuçları % olarak aşağıdaki formülle hesaplandı:

DNA fragmentasyonu (%) = (Süpernatant asorbansı / Süpernatant asorbansı + Pellet absorbanı) X 100

3.2.16. Mide Dokusunda Mukus Seviyesinin Belirlenmesi

Corne ve arkadaşlarının yöntemine göre ölçüldü (Kiliç, Sirmagül, Batu, & Erol, 2006).

Gerekli reaktifler:

1- 0.05 M sodyum asetat

0.16 M sükroz içeren solüsyon hazırlandı

Bu solüsyonun pH'sı 5.8 olacak şekilde HCl ile ayarlandı. Bu solüsyon içine %0.1'lik olacak şekilde Alcian blue konuldu

2- 0.25 M sükroz

3- 0.5 M MgCl₂

4- Dietil eter

Deneyin Yapılışı:

Deneye başlamadan önce küçük beherler içine 10 ml Alcian blue içeren tampon çözelti konuldu ve 37°C'deki su banyosuna yerleştirildi

Mide tartıldıktan sonra ters çevrilerek Alcian blue çözeltisi içine konuldu

2 saat süre ile 37°C'de sıcak su banyosunda inkübe edildi

İnkübasyon 15. ve 45. dakikalarında mide Alcian blue çözeltisinden çıkartılıp 0.25 M sükröz ile yıkanıp tekrar inkübasyon devam edildi (aynı Alcian blue çözeltisi içinde)

2 saatlik inkübasyonun sonunda 0.25 M sükröz ile mide yıkanarak 10 ml 0.5 M MgCl₂ çözeltisi içine konuldu

37°C'de tekrar 2 saat inkübe edildi

Sürenin sonunda MgCl₂'e geçen mavi rengi tespit edebilmek için, 5 ml MgCl₂ (içinde midenin inkübe edildiği) 5 ml dietil eter ile karıştırıldı

Su fazı (alttaki mavi renkli faz) alınıp, spektrofotometrede 605 nm'de MgCl₂ çözeltisine karşı absorbansı ölçüldü

1 mg/ml Alcian blue solüsyonu standart olarak, MgCl₂ çözeltisi kör olarak kullanıldı

Hesaplama:

Deney öncesinde tartılan midenin ağırlığını Y gr olarak kabul edersek;

(Mukus miktarı) $h = \text{Numunenin optik dansitesi} \times 100 / \text{Standardın optik dansitesi (100 mg/ml'lik std)}$

Y gr midede A gr mukus varsa

1 gr midede X gr

$X = A/Y$

Sonuç mg/gr olarak bulundu

3.2.17. Mide Dokusunda Histolojik Çalışma

Histolojik teknikler

Kontrol, stres, pantoprazol, M-1, M-5 ve M-10 gruplarını oluşturan tüm sıçanlardan mide örnekleri alındı

Alınan mide örneklerinin % 10'luk formalin fiksatifinde 48 saat süre ile fiksasyonları sağlandı

Fiksasyonları sağlanan örnekler fiksatifin çökmesini engellemek amacıyla 3-4 saat çeşme suyunda yıkandı

Çeşme suyuyla yıkanan doku parçaları daha sonra sırasıyla kademeli olarak %70'lik, %80'lik, %90'lık ve %96'lık alkol serilerinde 45'er dakika bekletilerek dehidratasyonları sağlandı

Dehidratasyonlarının ardından örnekler şeffaflandırılmak üzere 2 kez 20'er dakika ksilolde bekletildi

Mide örnekleri şeffaflanmalarının ardından etüv içinde 65°C'de eritilmiş parafinlere alınarak 60 dakika süreyle üç ayrı parafinde bekletildi

Parafinize edilen dokular ayrı ayrı parafin içeren kasetlere gömülerek bloklandı ve kesit alınmaya hazır duruma getirildi

Parafin bloklardan kesitlerin alınmasında kullanılacak mikrotom bıçağı buzdolabında soğutulmuş, mikrotom aracılığı ile her bir örnekten 5'er mikrometre kalınlığında doku kesitleri alındı

Kesitlerin 45°C'de su banyosunda açılmaları sağlanarak temiz lamalar üzerine alınmasından sonra etüv içinde 1 saat süre ile bekletilmeleri sağlandı

Preparatlar 1'er saat süre ile iki ayrı ksilolde tutulup deparafinizasyonları sağlandıktan sonra boyama aşamasına geçildi

Kesitlerin boyanmasında Hematoksilin-Eozin ikili boyası kullanıldı

Ayrıca mast hücrelerinin saptanması amacıyla toluidin boyasıyla örnekler boyandı

Hematoksilin-Eozin ikili boyası ile boyanan ve deparafinizasyonu yapılmış olan doku kesitleri 5'er dakika süreyle %96, %90, %80, %70'lik alkollerde ve distile suda bekletildi

Kesitler Hematoksilin ile 2 dakika ve Eozin ile 10 dakika boyandı

Çeşme suyu ile fazla boyası alınan kesitler hızla alkol serilerinden geçirilip dehidratasyonları sağlandı

Dokular iki ayrı ksilolde 30'ar dakika tutularak şeffaflandırıldı ve şeffaflanan dokular daha sonra entellan ile kapatılarak ışık mikroskopik düzeyde Olympus BH-2 mikroskop ile değerlendirmeleri yapılarak mide örneklerini içeren tüm preparatların Olympus DP-70 digital kamera ile fotoğrafları çekildi.

3.2.18. Mide Dokusunda HSP70 Protein Ekspresyon Seviyesinin Belirlenmesi

Doku homojenizasyonu

Doku homojenizatları RIPA buffer (sc 24948, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA) ile hazırlandı.

Ripa buffer kit içeriği şu şekildedir;

- 500 mL 1X lysis buffer
- DMSO (dimetil sülfoksit) içinde 5 ml (200mM) PMSF (phenylmethylsulfonyl fluoride)
- DMSO içinde 5 ml proteaz inhibitor kokteyl
- Distile su içinde 5 ml (100mM) sodyum ortovanadat

Dokular çözülmeden önce hızlı bir şekilde RIPA (radioimmunoprecipitation) Lysis buffer hazırlamak için 10 µl PMSF solüsyonu, 10 µl sodyum ortovanadat solüsyonu ve 10-20 µl proteaz inhibitör kokteyl solüsyonu her ml 1X RIPA Lysis buffer için kombine edildi. Bir gr doku için 3ml RIPA buffer kullanıldı.

4°C'de sonikatör yardımıyla homojenizasyon yapıldı.

10000xG'de 4°C'de 10 dk santrifüjlendi. Supernatant ölçümler için kullanıldı.

Total Protein Miktarı

Bradford Reagent şişede yavaşça çalkalandı ve oda sıcaklığına konuldu.

BSA (bovine serum albumin) kullanılarak 0.1-1.4 mg/ml buffer içinde protein standartları hazırlandı. Dokular çözülmeden önce hızlı bir şekilde RIPA (radioimmunoprecipitation) Lysis buffer hazırlamak için 10 µl PMSF (phenylmethylsulfonyl fluoride) solüsyonu, 10 µl sodyum ortovanadat solüsyonu ve 10-20 µl proteaz inhibitör kokteyl solüsyonu her ml 1X RIPA Lysis buffer için kombine edilir.

5 µl protein standardı 96 kuyucuklu plate'te standart kuyucuklarına eklendi. Kör kuyucuğuna 5 µl buffer eklendi.

Her kuyucuğa 250 µl Bradford Reagent eklendi ve shaker kullanılarak 30 sn çalkalandı.

Plate oda sıcaklığında 30dk inkübasyona bırakıldı ve sonra absorbansları 595 nm de ölçüldü.

Her bir standardın protein konsantrasyonunu belirlemek için net absorbans grafiği çizildi.

Protein konsantrasyonu bilinmeyen örneklerin protein konsantrasyonu Net A₅₉₅ ile kıyaslanarak standart eğrisine karşı belirlendi.

Western Blot Sandwich

Bio-Rad Mini-PROTEAN Tetra System SDS-poliakrilamid jel elektroforezi için kullanıldı.

1 ml enjeksiyonluk su içerisinde 0,1 gr APS (%10 luk amonyum persülfat) çözdürüldü

SDS-poliakrilamid jel TGX Stain-Free™ FastCast™ Acrylamide Solutions (BIO-RAD Lab., California) ile hazırlandı.

Bunun için iki adet falkon tüpünden birisine 6 ml resolver A ve 6 ml resolver B, 60  l APS ve 6  l temed konuldu. Diğer falkona 2 ml stacker A ve 2 ml stacker B, 20  l APS ve 4  l temed konuldu. Falkonlar hafifçe çalkalandı ve çok geçmeden jel oluşumu için sisteme yüklendi ve 30 dk jel oluşumu için beklendi.



Şekil 3.3: Jelin hazırlanması

Hazırlanan ve protein konsantrasyonu bilinen doku homojenatından 20ng/ml protein olacak Şekilde distile su ile optimize edildikten sonra 20  l alındı ve merkaptolanol içeren loading bufferın 20  l'si ile karıştırılarak toplam 40  l'lik içerik elde edildi.

40  l'lik içerik 95  C'de 5 dk bekletildi ve soğutuldu.

30 dk sonunda oluşan jel running buffer içine yerleştirildi. Daha sonra oluşan jele 20'Şer  l'lik yükleme yapıldı. 100 V, 195 mA de yaklaşık 2 saat yürütme yapıldı.

Running buffer: 450 ml distile su + 50 ml buffer (500 ml)

Transfer buffer: 400 ml running buffer + 100 metanol (500 ml)

Yıkama solüsyonu: 50 ml PBS (1X) + 450 ml distile su + 250  l tween 20

Yürütme işleminin sonunda sandwich blot hazırlandı:

Filtre pedi, filtre kağıdı ve membran kağıdı transfer buffer solüsyonu içinde ıslatıldı. Transfer kaseti siyah renkli kısım aşağıda olacak şekilde açıldı, sırasıyla filtre pedi, filtre kağıdı, membran, jel, filtre kağıdı, filtre pedi koyuldu ve kaset sıkıca kapatıldı ve sandwich oluşturuldu. Sandwich içindeki jel, proteinlerin nitroselülöz membrana geçmesi için transfer buffer içinde 30 V, 90 mA de 16 saat yürütüldü.



Şekil 3.4: Western sandwich blotlama

16 saatin sonunda membranlar uygun kaplara alındı ve üzerlerine 5'er ml western blocker ilave dildi ve shaker' da 1 saatlik inkübasyona bırakıldı.

1 saatin sonunda western blocker'dan arındırılan membranlar yıkama solüsyonu ile 2 kez hızlı bir şekilde yıkandı.

Daha sonra üzerlerine sekonder antibody (1 μ l sekonder antibody + 10 ml western blocker (W0138; Sigma-Aldrich) ilave edildi ve shaker' da ve 1 saatlik inkübasyona bırakıldı.

1 saatin sonunda 5 dk ara ile 3 kez yıkama solüsyonu ile yıkanan nitroselülöz membran üzerine HSP70 ve β -actin primer antibody'leri (1 μ l HSP70 primer antibody + 10 ml western blocker, 1 μ l β -actin primer antibody + 10 ml western blocker) ayrı ayrı ilave edildi ve 1 saatlik inkübasyona bırakıldı.

1 saatin sonunda membranlar primer antibody'lerden yıkama tamponu ile 5 dk ara ile 3 kez yıkanarak arındırıldı.

1 adet deney tüpüne 3 ml Western blotting luminol reagent (sc-2048: Santa Cruz Biotechnology Inc.) solution A ve diğer 2 adet deney tüpüne 3 ml Western blotting luminol reagent solution B koyuldu, sonra aynı deney tüpünde solüsyonlar karıştırıldı ve membranlar üzerine döküldü ve görüntüleme cihazında (Syngene GeneGenius Gel Light Imaging System, Syngene, Cambridge) proteinlerin görüntüsü alınarak kaydedildi. Görüntüler GeneTools Image Analysis Software yardımıyla değerlendirildi.

3.3. İstatistiksel Analiz

Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi kullanılarak değerlendirildi. Normal dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası karşılaştırmalarında tek yönlü varyans analizi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen değişkenlerin gruplar arası karşılaştırılmasında ise Kruskal-Wallis analizinden yararlanıldı. $P < 0.05$ değeri anlamlılık düzeyi olarak belirlendi. Tüm analizler IBM SPSS 21 paket programı kullanılarak yapıldı.

4. BULGULAR

Kullanılacak analiz yöntemini belirlemek için değişkenlere ait normallik testi yapıldı ve bunun sonucunda NO, KAT, SOD, GSH-Px, GK (midede), DNA için parametrik analiz yöntemlerinde olan Anova analizi; MDA, HSP70, pH, mukus, GK (serumda) ve ülser içinse parametrik olmayan analiz yöntemlerinden Kruskal Wallis testi yapıldı. Analizlerde $p < 0.05$ anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi. Tüm analizler SPSS 15.0 paket programı kullanılarak yapıldı.

4.1. Mide Dokusunda Ülser Oranına Ait Bulgular

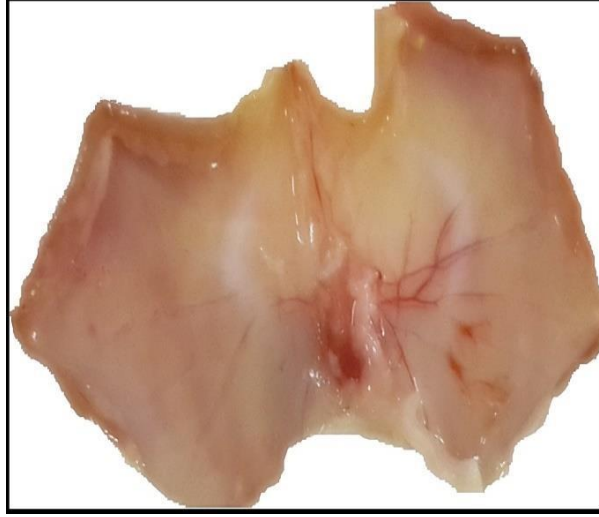
Ülserleşme oranı kontrol grubunda $1.20 \pm 0.99 \text{ mm}^2$, stres grubunda $83.5 \pm 18.42 \text{ mm}^2$, pantoprazol grubunda $79.5 \pm 5.3 \text{ mm}^2$, M1 (3×10^8 cfu/ml) grubunda $36.93 \pm 36.88 \text{ mm}^2$, M5 (15×10^8 cfu/ml) grubunda $5.03 \pm 4.62 \text{ mm}^2$, M10 (30×10^8 cfu/ml) grubunda $45.19 \pm 30.60 \text{ mm}^2$ olarak bulundu.

Kontrol grubu ile stres, pantoprazol ve M10 (30×10^8 cfu/ml) grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulundu. Stres grubu ile M5 (15×10^8 cfu/ml) grubu ve pantoprazol grubu ile M5 grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulundu. En yüksek ülserleşme oranı stres grubunda olurken en az ülserleşme oranı kontrol grubunda ve daha sonra M5 grubunda görüldü.

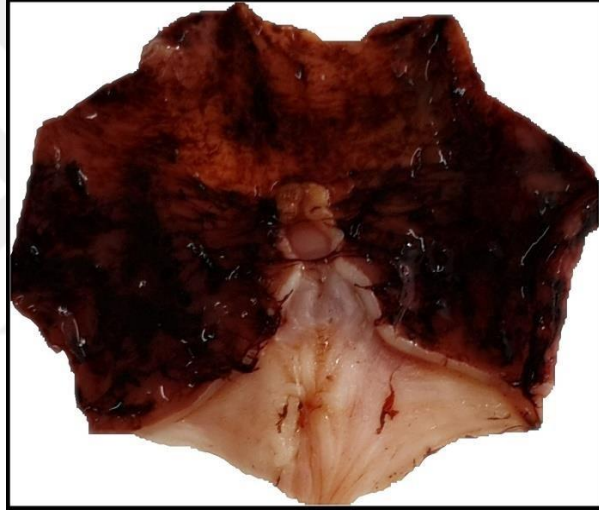
Tablo 4.1: Mide Dokusunda Ülser Oranına Ait İstatistiksel Sonuçlar

Grup no	Gruplar	N	(Ülser Oranı/ mm^2) ORT \pm SS M (25-75) PER.	P DEĞERİ	ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA
1	K	7	1.20 ± 0.99 1.29 (0.01-2.30)	<0.001*	K-S, K-P, K-M10, S-M5, P-M5
2	S	7	83.5 ± 18.42 88.5 (66.2-100)		
3	P	7	79.5 ± 5.3 79.08 (75.28-83.84)		
4	M-1	7	36.93 ± 36.88 18.65 (3.83-72.82)		
5	M-5	7	5.03 ± 4.62 3.05 (2.06-7.36)		
6	M-10	7	45.19 ± 30.60 49.39 (17.20-74.68)		

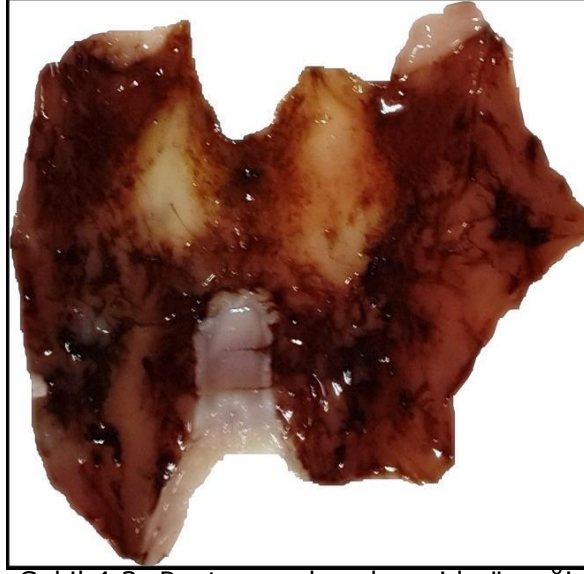
*:Kruskal-Wallis Testi; K: Kontrol grubu, S: Stres grubu, P: Pantoprazol grubu, M1: Bakteri grubu - 3×10^8 cfu/ml, M5: Bakteri grubu - 15×10^8 cfu/ml, M10: Bakteri grubu - 30×10^8 cfu/ml



Şekil 4.1: Kontrol grubu mide örneği



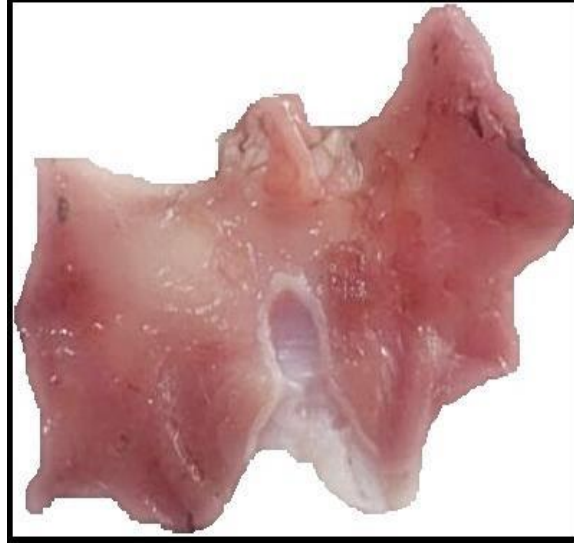
Şekil 4.2: Stres grubu mide örneği



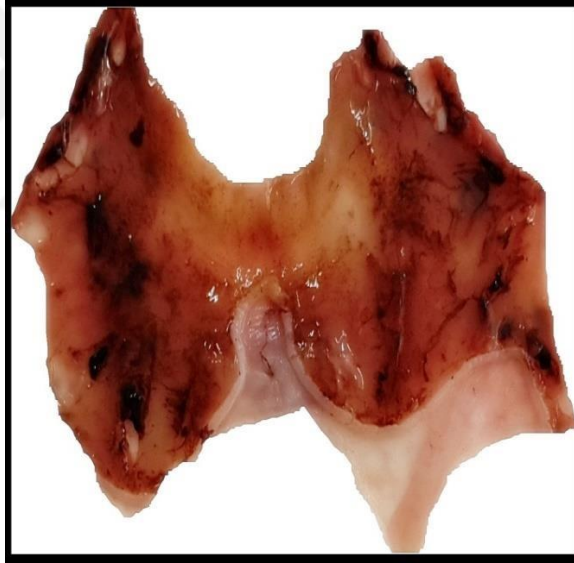
Şekil 4.3: Pantoprazol grubu mide örneği



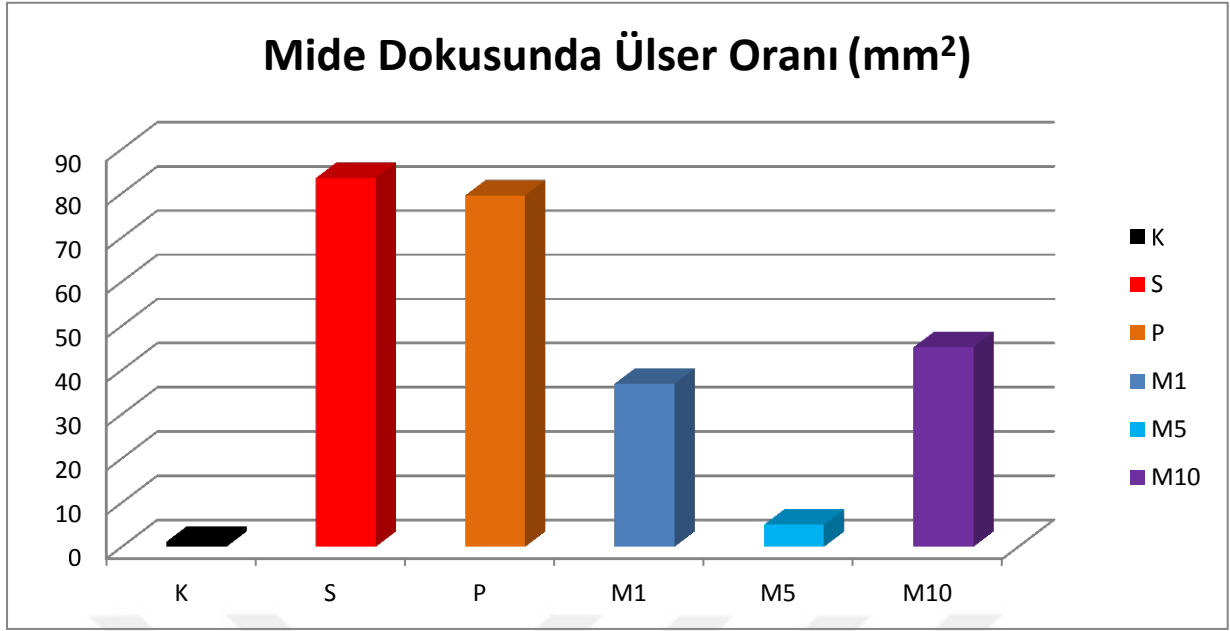
Şekil 4.4: M1 grubu mide örneği



Şekil 4.5: M5 grubu mide örneği



Şekil 4.6: M10 grubu mide örneği



Şekil 4.7: Mide dokusunda ülser oranı (mm²); K: Kontrol grubu, S: Stres grubu, P: Pantoprazol grubu, M1: Bakteri grubu - 3×10^8 cfu/ml, M5: Bakteri grubu - 15×10^8 cfu/ml, M10: Bakteri grubu - 30×10^8 cfu/ml

4.2. pH Değerine Ait Bulgular

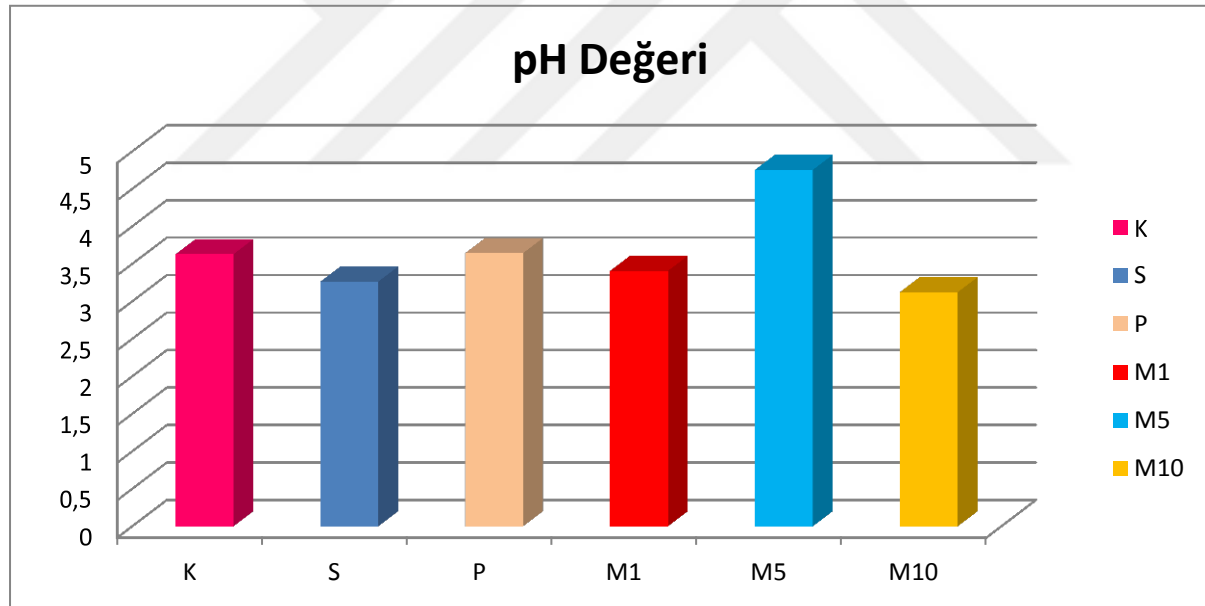
pH değeri kontrol grubunda 3.63 ± 0.89 , stres grubunda 3.26 ± 0.71 , pantoprazol grubunda 3.64 ± 0.82 , M1 (3×10^8 cfu/ml) grubunda 3.41 ± 0.56 , M5 (15×10^8 cfu/ml) grubunda 4.75 ± 1.60 , M10 (30×10^8 cfu/ml) grubunda 3.12 ± 0.52 olarak bulundu.

Gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmadı.

Tablo 4.2: pH Değerine Ait İstatistiksel Sonuçlar

Grup no	Gruplar	n	(pH Değeri) ORT±SS M (25-75) PER.	P DEĞERİ	ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA
1	K	7	3.63±0.89 4.02 (2.64-4.40)	0.279	Gruplar arasında fark yoktur
2	S	7	3.26±0.71 3.25 (2.38-3.98)		
3	P	7	3.64±0.82 3.71 (2.88-4.62)		
4	M-1	7	3.41±0.56 3.38 (3.07-3.48)		
5	M-5	7	4.75±1.60 4.14 (3.28-6.36)		
6	M-10	7	3.12±0.52 2.79 (2.70-3.78)		

*:Kruskal-Wallis Testi; K: Kontrol grubu, S: Stres grubu, P: Pantoprazol grubu, M1: Bakteri grubu - 3×10^8 cfu/ml, M5: Bakteri grubu - 15×10^8 cfu/ml, M10: Bakteri grubu - 30×10^8 cfu/ml



Şekil 4.8: pH değeri; K: Kontrol grubu, S: Stres grubu, P: Pantoprazol grubu, M1: Bakteri grubu - 3×10^8 cfu/ml, M5: Bakteri grubu - 15×10^8 cfu/ml, M10: Bakteri grubu - 30×10^8 cfu/ml

4.3. Mide Dokusunda ve Serumda GK Seviyesine Ait Bulgular

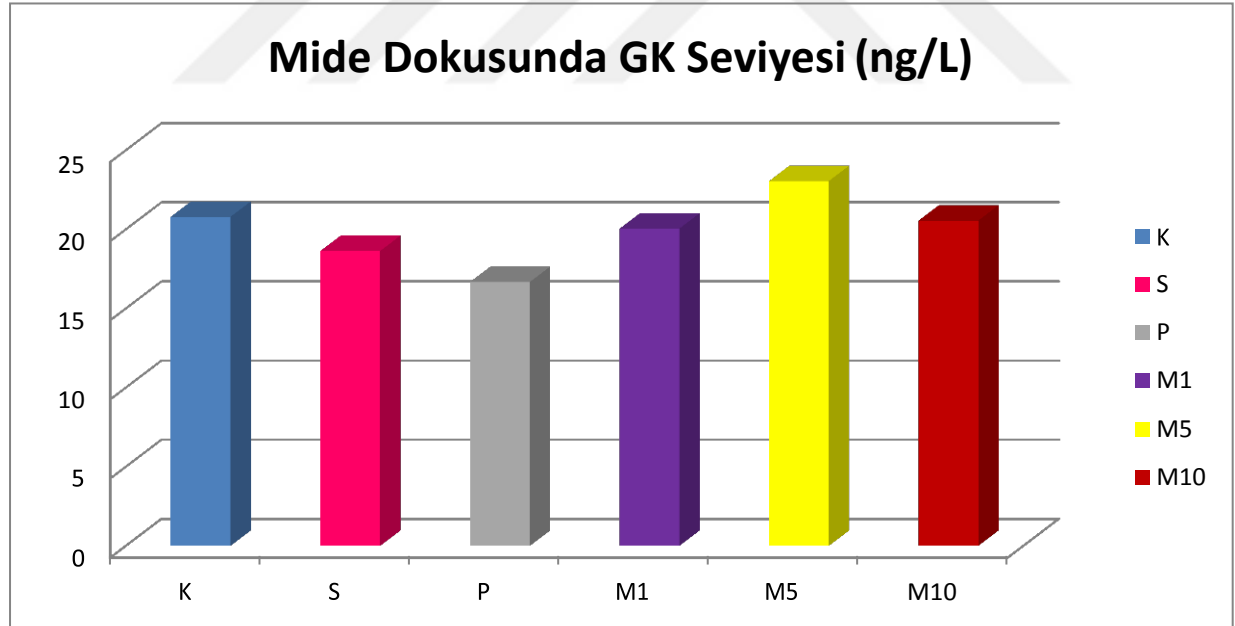
Mide dokusunda GK seviyesi kontrol grubunda 20.79 ± 6.66 ng/L, stres grubunda 18.63 ± 3.26 ng/L, pantoprazol grubunda 16.67 ± 3.16 ng/L, M1 (3×10^8 cfu/ml) grubunda 20.04 ± 2.80 ng/L, M5 (15×10^8 cfu/ml) grubunda 23.05 ± 7.17 ng/L, M10 (30×10^8 cfu/ml) grubunda 23.05 ± 7.17 ng/L olarak bulundu.

Gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmadı.

Tablo 4.3: Mide Dokusunda GK Seviyesine Ait İstatistiksel Sonuçlar

Grup no	Gruplar	n	(GK Seviyesi- Mide/ng/L) ORT±SS M (25-75) PER.	P DEĞERİ	ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA
1	K	7	20.79±6.66 19.96 (15.74-22.38)	0.311	Gruplar arasında fark yoktur
2	S	7	18.63±3.26 18.26 (15.73-21.94)		
3	P	7	16.67±3.16 16.48 (13.47-20.33)		
4	M-1	7	20.04±2.80 19.74 (18.84-21.77)		
5	M-5	7	23.05±7.17 23.95 (15.91-29.82)		
6	M-10	7	19.96±5.18 21.07 (15.65-24.29)		

*: Tek Yönlü Varyans Analizi; K: Kontrol grubu, S: Stres grubu, P: Pantoprazol grubu, M1: Bakteri grubu - 3×10^8 cfu/ml, M5: Bakteri grubu - 15×10^8 cfu/ml, M10: Bakteri grubu - 30×10^8 cfu/ml



Şekil 4.9: Mide dokusunda GK seviyesi (ng/L); K: Kontrol grubu, S: Stres grubu, P: Pantoprazol grubu, M1: Bakteri grubu - 3×10^8 cfu/ml, M5: Bakteri grubu - 15×10^8 cfu/ml, M10: Bakteri grubu - 30×10^8 cfu/ml

Serumda GK seviyesi kontrol grubunda 36.19 ± 6.74 ng/L, stres grubunda 45.76 ± 14.50 ng/L, pantoprazol grubunda 26.47 ± 4.84 ng/L, M1 (3×10^8 cfu/ml) grubunda 35.88 ± 14.26 ng/L, M5 (15×10^8 cfu/ml)

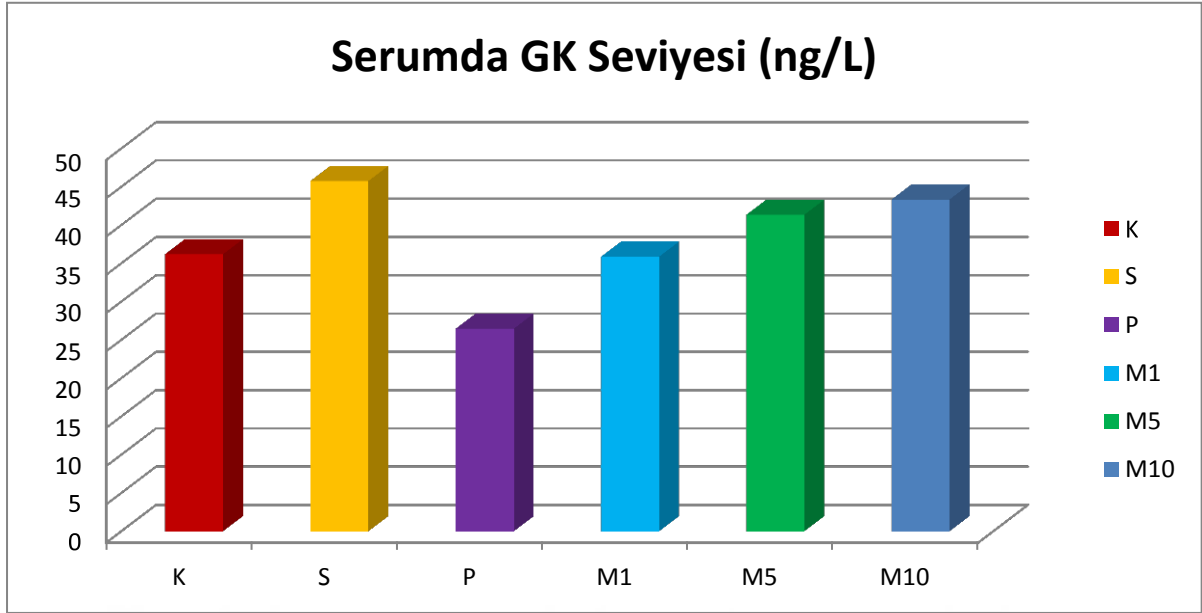
grubunda 41.34 ± 7.87 ng/L, M10 (30×10^8 cfu/ml) grubunda 43.34 ± 9.85 ng/L olarak bulundu.

Stres grubu ile pantoprazol grubu arasında ve pantoprazol grubu ile M5 ve M10 grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulundu. Pantoprazol grubunda en düşük seviye gözlenirken en yüksek seviye stres grubunda ve M10 grubunda bulundu.

Tablo 4.4: Serumda GK Seviyesine Ait İstatistiksel Sonuçlar

Grup no	Gruplar	n	(GK Seviyesi/ng/L-Serum) ORT \pm SS M (25-75) PER.	P DEĞERİ	ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA
1	K	7	36.19 ± 6.74 34.27 (30.59-43.85)	0.005*	S-P, P-M5, P-M10
2	S	7	45.76 ± 14.50 41.58 (37.35-44.17)		
3	P	7	26.47 ± 4.84 28.69 (22.78-30.45)		
4	M-1	7	35.88 ± 14.26 31.52 (25.75-44.50)		
5	M-5	7	41.34 ± 7.87 38.45 (37.58-43.09)		
6	M-10	7	43.34 ± 9.85 41.80 (37.74-46.73)		

*:Kruskal-Wallis Testi; K: Kontrol grubu, S: Stres grubu, P: Pantoprazol grubu, M1: Bakteri grubu - 3×10^8 cfu/ml, M5: Bakteri grubu - 15×10^8 cfu/ml, M10: Bakteri grubu - 30×10^8 cfu/ml



Şekil 4.10: Serumda GK seviyesi (ng/L); K: Kontrol grubu, S: Stres grubu, P: Pantoprazol grubu, M1: Bakteri grubu - 3×10^8 cfu/ml, M5: Bakteri grubu - 15×10^8 cfu/ml, M10: Bakteri grubu - 30×10^8 cfu/ml

4.4. Mide Dokusunda KAT Seviyesine Ait Bulgular

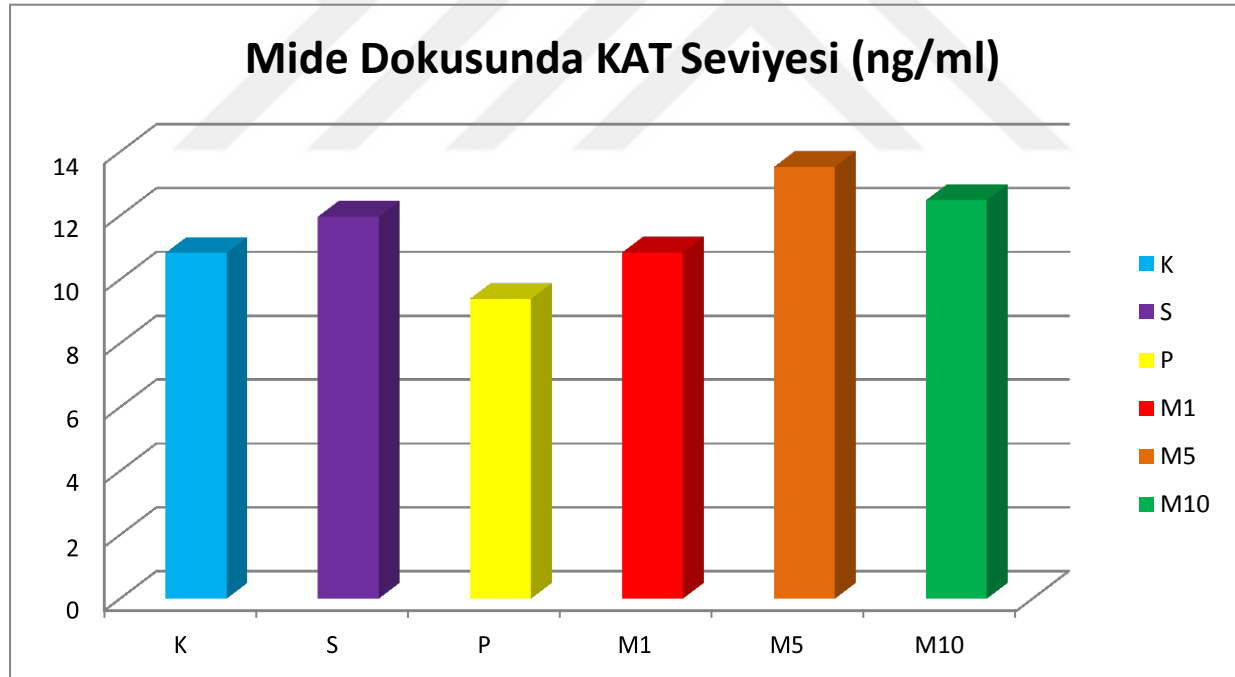
KAT seviyesi kontrol grubunda 10.83 ± 2.73 ng/ml, stres grubunda 11.96 ± 2.79 ng/ml, pantoprazol grubunda 9.39 ± 2.24 ng/ml, M1 (3×10^8 cfu/ml) grubunda 10.84 ± 1.85 ng/ml, M5 (15×10^8 cfu/ml) grubunda 13.52 ± 3.55 ng/ml, M10 (30×10^8 cfu/ml) grubunda 12.48 ± 2.89 ng/ml olarak bulundu.

Gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmadı.

Tablo 4.5: Mide Dokusunda KAT Seviyesine Ait İstatistiksel Sonuçlar

Grup no	Gruplar	n	(KAT Seviyesi/ ng/ml) ORT±SS M (25-75) PER.	P DEĞERİ	ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA
1	K	7	10.83±2.73 11.19 (7.49-13.01)	0.103	Gruplar arasında fark yoktur
2	S	7	11.96±2.79 13.37 (8.97-13.49)		
3	P	7	9.39±2.24 8.88 (7.10-10.37)		
4	M-1	7	10.84±1.85 10.71 (9.81-12.26)		
5	M-5	7	13.52±3.55 11.76 (11.47-16.73)		
6	M-10	7	12.48±2.89 13.43 (9.49-14.42)		

*: Tek Yönlü Varyans Analizi; K: Kontrol grubu, S: Stres grubu, P: Pantoprazol grubu, M1: Bakteri grubu - 3×10^8 cfu/ml, M5: Bakteri grubu - 15×10^8 cfu/ml, M10: Bakteri grubu - 30×10^8 cfu/ml



Şekil 4.11: Mide dokusunda KAT seviyesi (ng/ml); K: Kontrol grubu, S: Stres grubu, P: Pantoprazol grubu, M1: Bakteri grubu - 3×10^8 cfu/ml, M5: Bakteri grubu - 15×10^8 cfu/ml, M10: Bakteri grubu - 30×10^8 cfu/ml

4.5. Mide Dokusunda SOD Seviyesine Ait Bulgular

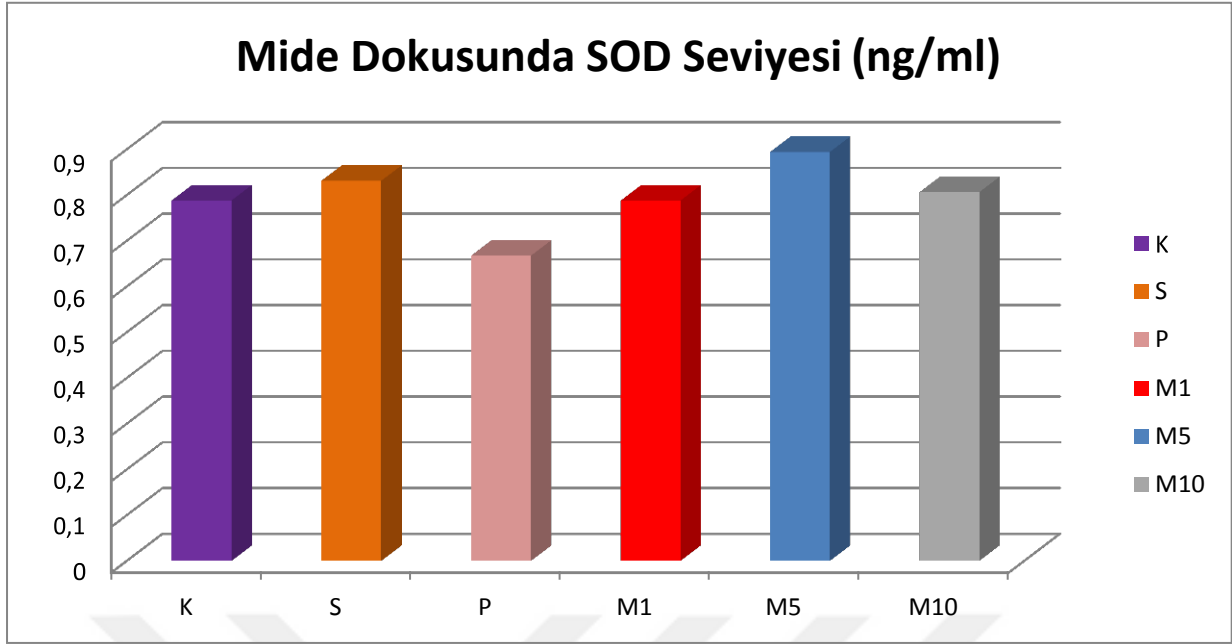
Mide dokusunda SOD seviyesi kontrol grubunda 0.78 ± 0.17 ng/ml, stres grubunda 0.83 ± 0.19 ng/ml, pantoprazol grubunda 0.66 ± 0.14 ng/ml, M1 (3×10^8 cfu/ml) grubunda 0.78 ± 0.09 ng/ml, M5 (15×10^8 cfu/ml) grubunda 0.89 ± 0.11 ng/ml, M10 (30×10^8 cfu/ml) grubunda 0.80 ± 0.18 ng/ml olarak bulundu.

Gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmadı.

Tablo 4.6: Mide Dokusunda SOD Seviyesine Ait İstatistiksel Sonuçlar

Grup no	Gruplar	n	(SOD Seviyesi/ ng/ml) ORT \pm SS M (25-75) PER.	P DEĞERİ	ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA
1	K	7	0.78 ± 0.17 0.80 (0.61-0.95)	0.182	Gruplar arasında fark yoktur
2	S	7	0.83 ± 0.19 0.78 (0.65-1.01)		
3	P	7	0.66 ± 0.14 0.63 (0.54-0.73)		
4	M-1	7	0.78 ± 0.09 0.78 (0.74-0.84)		
5	M-5	7	0.89 ± 0.11 0.88 (0.78-1.00)		
6	M-10	7	0.80 ± 0.18 0.79 (0.64-0.96)		

*: Tek Yönlü Varyans Analizi; K: Kontrol grubu, S: Stres grubu, P: Pantoprazol grubu, M1: Bakteri grubu - 3×10^8 cfu/ml, M5: Bakteri grubu - 15×10^8 cfu/ml, M10: Bakteri grubu - 30×10^8 cfu/ml



Şekil 4.12: Mide dokusunda SOD seviyesi (ng/ml); K: Kontrol grubu, S: Stres grubu, P: Pantoprazol grubu, M1: Bakteri grubu - 3×10^8 cfu/ml, M5: Bakteri grubu - 15×10^8 cfu/ml, M10: Bakteri grubu - 30×10^8 cfu/ml

4.6. Mide Dokusunda GSH-Px Seviyesine Ait Bulgular

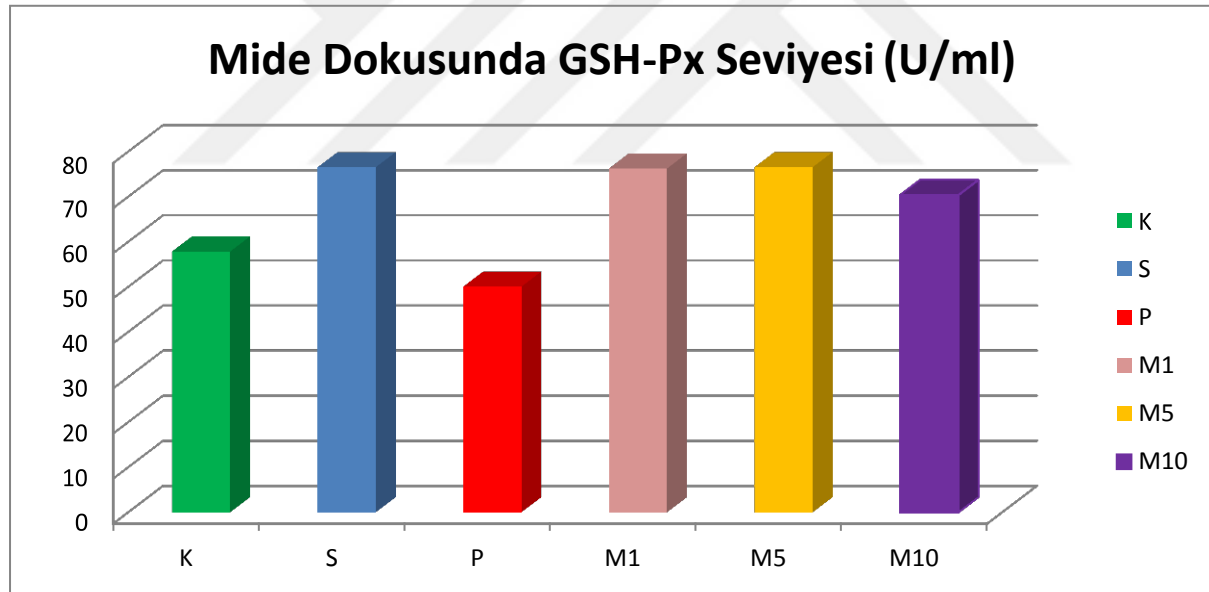
Mide dokusunda GSH-Px seviyesi kontrol grubunda 57.83 ± 13.06 U/ml, stres grubunda 76.52 ± 10.62 U/ml, pantoprazol grubunda 50.04 ± 9.21 U/ml, M1 (3×10^8 cfu/ml) grubunda 76.24 ± 14.19 U/ml, M5 (15×10^8 cfu/ml) grubunda 76.54 ± 20.37 U/ml, M10 (30×10^8 cfu/ml) grubunda 70.33 ± 8.31 U/ml olarak bulundu.

Stres grubu ile pantoprazol grubu arasında ve pantoprazol grubu ile M1 ve M5 grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulundu. Pantoprazol grubunda en düşük seviye bulurken stres, M1 ve M5 gruplarında en yüksek seviye bulundu.

Tablo 4.7: Mide Dokusunda GSH-Px Seviyesine Ait İstatistiksel Sonuçlar

Grup no	Gruplar	n	(GSH-Px Seviyesi/U/ml) ORT±SS M (25-75) PER.	P DEĞERİ	ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA
1	K	7	57.83±13.06 58.93 (50.80-67.34)	0.001*	S-P, P-M1, P-M5,
2	S	7	76.52±10.62 76.52 (65.70-81.29)		
3	P	7	50.04±9.21 48.69 (41.04-58.05)		
4	M-1	7	76.24±14.19 71.90 (66.09-85.58)		
5	M-5	7	76.54±20.37 69.48 (65.21-96.66)		
6	M-10	7	70.33±8.31 68.89 (63.54-75.56)		

*: Tek Yönlü Varyans Analizi; K: Kontrol grubu, S: Stres grubu, P: Pantoprazol grubu, M1: Bakteri grubu - 3×10^8 cfu/ml, M5: Bakteri grubu - 15×10^8 cfu/ml, M10: Bakteri grubu - 30×10^8 cfu/ml



Şekil 4.13: Mide dokusunda GSH-Px seviyesi (U/ml); K: Kontrol grubu, S: Stres grubu, P: Pantoprazol grubu, M1: Bakteri grubu - 3×10^8 cfu/ml, M5: Bakteri grubu - 15×10^8 cfu/ml, M10: Bakteri grubu - 30×10^8 cfu/ml

4.7. Mide Dokusunda NO Seviyesine Ait Bulgular

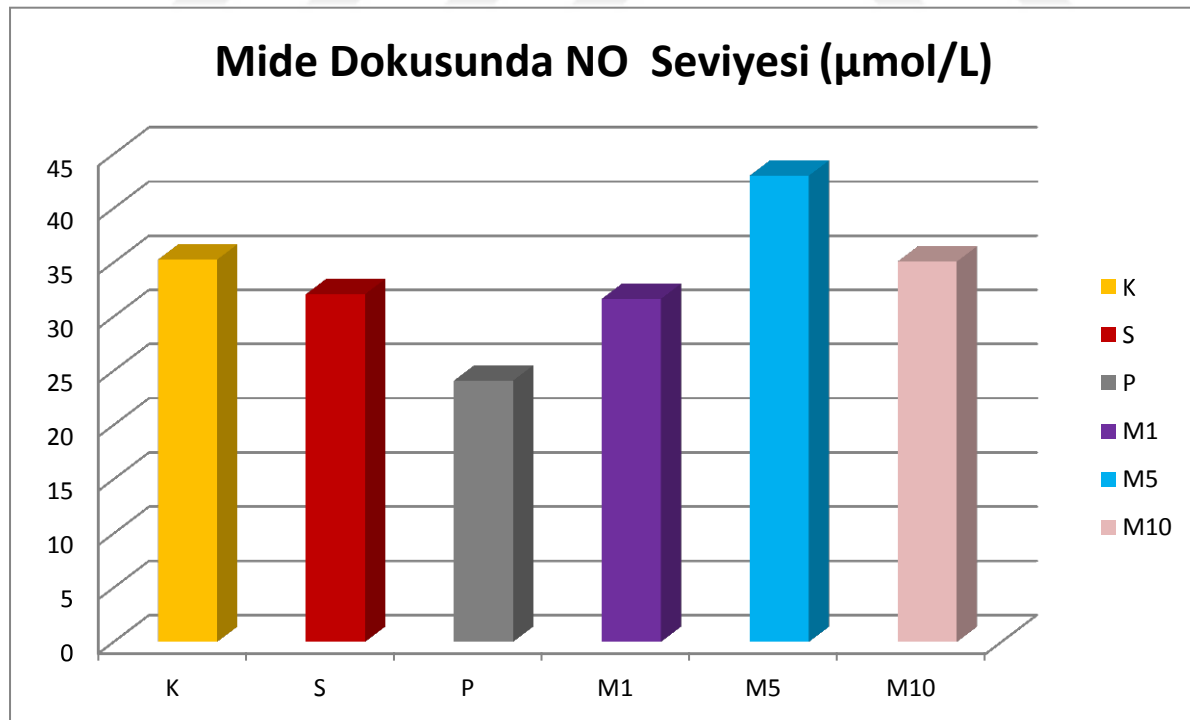
Mide dokusunda NO seviyesi kontrol grubunda 35.26 ± 8.51 $\mu\text{mol/L}$, stres grubunda 32.07 ± 5.22 $\mu\text{mol/L}$, pantoprazol grubunda 24.08 ± 1.21 $\mu\text{mol/L}$, M1 (3×10^8 cfu/ml) grubunda 31.63 ± 4.44 $\mu\text{mol/L}$, M5 (15×10^8 cfu/ml) grubunda 43.01 ± 8.76 $\mu\text{mol/L}$, M10 (30×10^8 cfu/ml) grubunda 35.08 ± 7.60 $\mu\text{mol/L}$ olarak bulundu.

Kontrol grubu ile pantoprazol grubu arasında, stres grubu ile M5 grubu arasında, pantoprazol grubu ile M5 ve M10 grupları arasında, M1 ve M10 grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulundu. Pantoprazol grubunda en düşük seviye bulunurken M5 grubunda en yüksek seviye bulundu.

Tablo 4.8: Mide Dokusunda NO Seviyesine Ait İstatistiksel Sonuçlar

Grup no	Gruplar	n	(NO Seviyesi/ $\mu\text{mol/L}$) ORT \pm SS M (25-75) PER.	P DEĞERİ	ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA
1	K	7	35.26 \pm 8.51 36.73 (29.12-41.99)	<0.001*	K-P, S-M5, P-M5, P-M10, M1-M10
2	S	7	32.07 \pm 5.22 30.03 (27.53-38.62)		
3	P	7	24.08 \pm 1.21 23.97 (23.26-25.20)		
4	M-1	7	31.63 \pm 4.44 30.93 (27.57-36.55)		
5	M-5	7	43.01 \pm 8.76 40.92 (35.68-52.09)		
6	M-10	7	35.08 \pm 7.60 32.72 (29.57-44.23)		

*: Tek Yönlü Varyans Analizi; K: Kontrol grubu, S: Stres grubu, P: Pantoprazol grubu, M1: Bakteri grubu - 3×10^8 cfu/ml, M5: Bakteri grubu - 15×10^8 cfu/ml, M10: Bakteri grubu - 30×10^8 cfu/ml



Şekil 4.14: Mide dokusunda NO seviyesi ($\mu\text{mol/L}$); K: Kontrol grubu, S: Stres grubu, P: Pantoprazol grubu, M1: Bakteri grubu - 3×10^8 cfu/ml, M5: Bakteri grubu - 15×10^8 cfu/ml, M10: Bakteri grubu - 30×10^8 cfu/ml

4.8. Mide dokusunda MDA Seviyesine Ait Bulgular

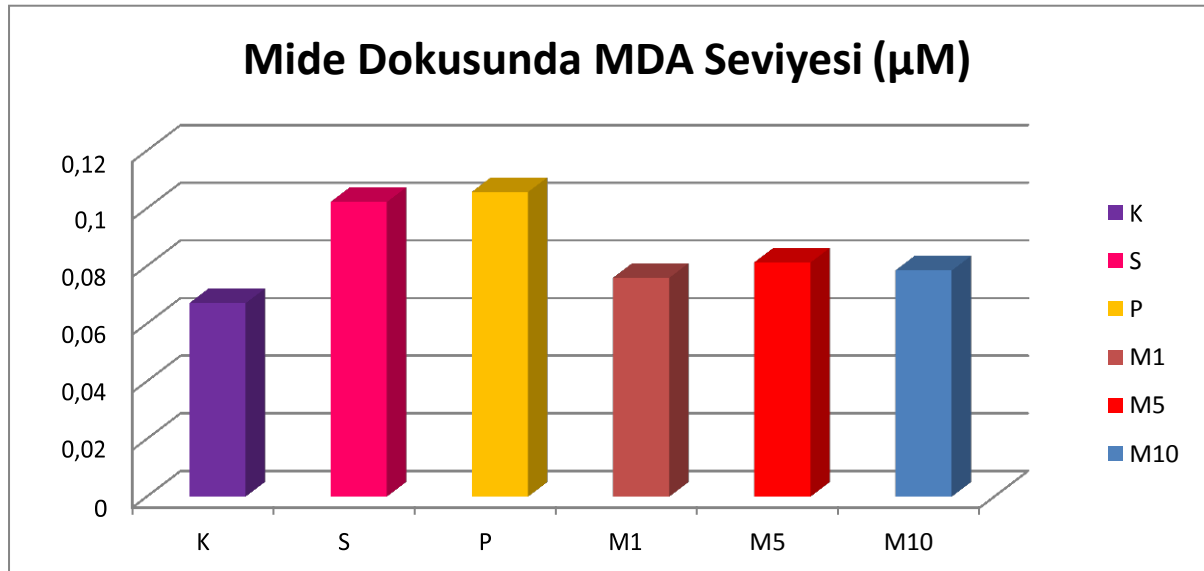
Mide dokusunda MDA seviyesi kontrol grubunda $0.07 \pm 0.01 \mu\text{M}$, stres grubunda $0.10 \pm 0.03 \mu\text{M}$, pantoprazol grubunda $0.11 \pm 0.04 \mu\text{M}$, M1 (3×10^8 cfu/ml) grubunda $0.08 \pm 0.02 \mu\text{M}$, M5 (15×10^8 cfu/ml) grubunda $0.08 \pm 0.02 \mu\text{M}$, M10 (30×10^8 cfu/ml) grubunda $0.08 \pm 0.02 \mu\text{M}$ olarak bulundu.

Gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmadı.

Tablo 4.9: Mide Dokusunda MDA Seviyesine Ait İstatistiksel Sonuçlar

Grup no	Gruplar	n	(MDA Seviyesi/ μM) ORT \pm SS M (25-75) PER.	P DEĞERİ	ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA
1	K	7	0.07 ± 0.01 0.07 (0.05-0.08)	0.084	Gruplar arasında fark yoktur
2	S	7	0.10 ± 0.03 0.09 (0.08-0.14)		
3	P	7	0.11 ± 0.04 0.10 (0.08-0.14)		
4	M-1	7	0.08 ± 0.02 0.07 (0.07-0.08)		
5	M-5	7	0.08 ± 0.02 0.08 (0.06-0.09)		
6	M-10	7	0.08 ± 0.02 0.08 (0.06-0.1)		

*:Kruskal-Wallis Testi; K: Kontrol grubu, S: Stres grubu, P: Pantoprazol grubu, M1: Bakteri grubu - 3×10^8 cfu/ml, M5: Bakteri grubu - 15×10^8 cfu/ml, M10: Bakteri grubu - 30×10^8 cfu/ml



Şekil 4.15: Mide dokusunda MDA seviyesi (μM); K: Kontrol grubu, S: Stres grubu, P: Pantoprazol grubu, M1: Bakteri grubu - 3×10^8 cfu/ml, M5: Bakteri grubu - 15×10^8 cfu/ml, M10: Bakteri grubu - 30×10^8 cfu/ml

4.9. Mide dokusunda DNA Fragmantasyon Seviyesine Ait Bulgular

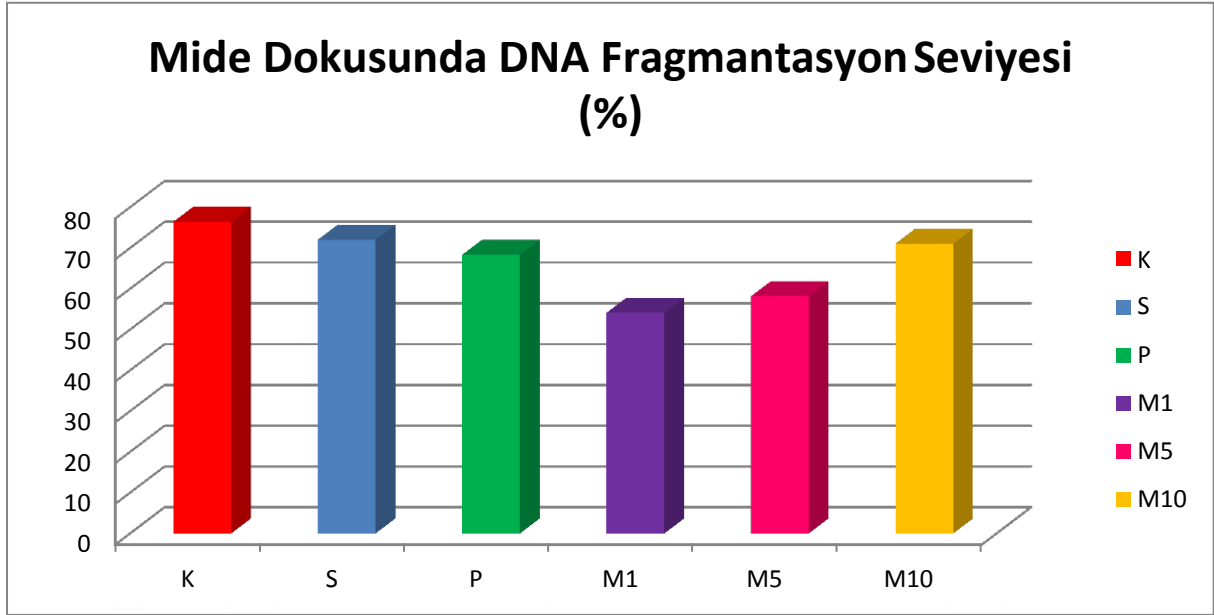
Mide dokusunda DNA fragmantasyon seviyesi kontrol grubunda % 76.42±5.98, stres grubunda % 72.00±10.16, pantoprazol grubunda % 68.33±8.71, M1 (3×10^8 cfu/ml) grubunda % 54.12±14.26, M5 (15×10^8 cfu/ml) grubunda % 58.16±22.78, M10 (30×10^8 cfu/ml) grubunda % 71.04±8.22 olarak bulundu.

Kontrol grubu ve M1 grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulundu. Kontrol grubunda en yüksek değer bulunurken M1 grubunda en düşük değer bulundu. Kontrol grubu ve stres grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmadı.

Tablo 4.10: Mide Dokusunda DNA Fragmantasyon Seviyesine Ait İstatistiksel Sonuçlar

Grup no	Gruplar	n	(DNA Frag. Sseviyesi/%) ORT±SS M (25-75) PER.	P DEĞERİ	ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA
1	K	7	76.42±5.98 75.57 (72.18-82.47)	0.019*	K-M1
2	S	7	72.00±10.16 74.12 (63.49-77.78)		
3	P	7	68.33±8.71 71.34 (59.62-72.66)		
4	M-1	7	54.12±14.26 57.89 (40.39-65.36)		
5	M-5	7	58.16±22.78 57.79 (39.34-79.38)		
6	M-10	7	71.04±8.22 67.76 (64.83-79.56)		

*: Tek Yönlü Varyans Analizi; K: Kontrol grubu, S: Stres grubu, P: Pantoprazol grubu, M1: Bakteri grubu - 3×10^8 cfu/ml, M5: Bakteri grubu - 15×10^8 cfu/ml, M10: Bakteri grubu - 30×10^8 cfu/ml



Şekil 4.16: Mide dokusunda DNA fragmentasyon seviyesi (%); K: Kontrol grubu, S: Stres grubu, P: Pantoprazol grubu, M1: Bakteri grubu - 3×10^8 cfu/ml, M5: Bakteri grubu - 15×10^8 cfu/ml, M10: Bakteri grubu - 30×10^8 cfu/ml

4.10. Mide Dokusunda Mukus Seviyesine Ait Bulgular

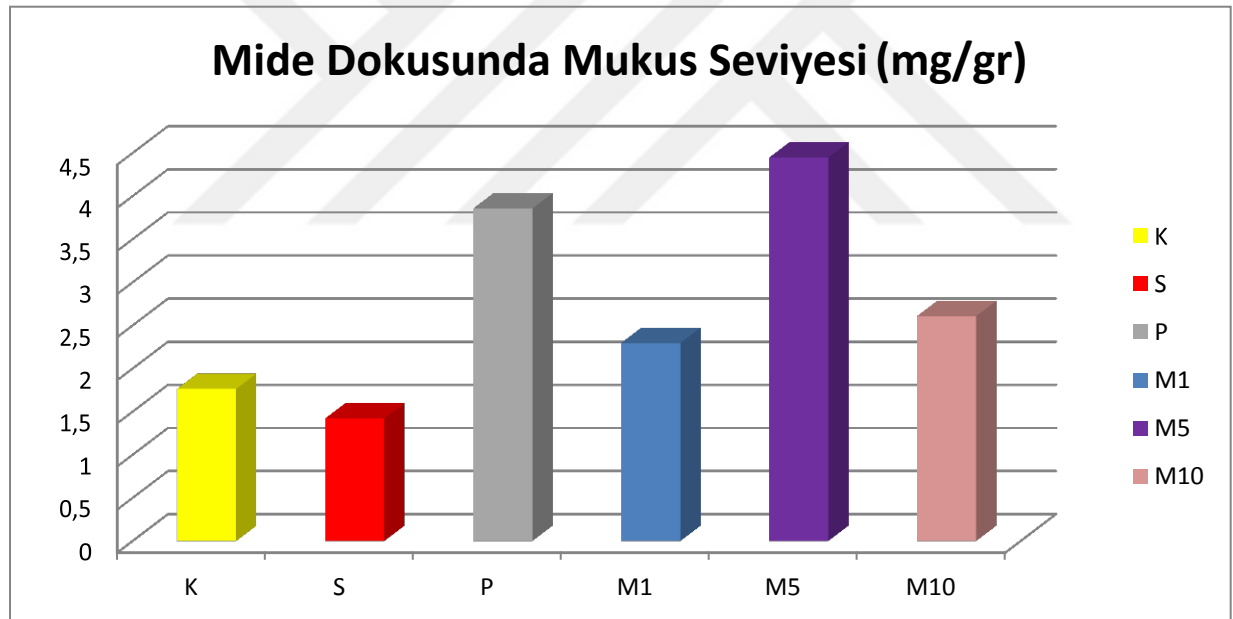
Mide dokusunda mukus seviyesi kontrol grubunda 1.76 ± 0.63 mg/gr, stres grubunda 1.42 ± 1.08 mg/gr, pantoprazol grubunda 3.86 ± 2.92 mg/gr, M1 (3×10^8 cfu/ml) grubunda 2.29 ± 2.21 mg/gr, M5 (15×10^8 cfu/ml) grubunda 4.45 ± 1.89 mg/gr, M10 (30×10^8 cfu/ml) grubunda 2.61 ± 1.44 mg/gr olarak bulundu.

Stres grubu ve M5 grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulundu. Stres grubunda en düşük değer bulunurken M5 grubunda en yüksek değer bulundu. Kontrol grubu ve stres grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark yoktu.

Tablo 4.11: Mide Dokusunda Mukus Seviyesine Ait İstatistiksel Sonuçlar

Grup no	Gruplar	n	(Mukus Seviyesi/mg/gr) ORT±SS M (25-75) PER.	P DEĞERİ	ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA
1	K	7	1.76±0.63 1.71 (1.26-2.55)	0.029*	S-M5
2	S	7	1.42±1.08 1.09 (0.43-2.91)		
3	P	7	3.86±2.92 3.90 (1.45-4.43)		
4	M-1	7	2.29±2.21 1.58 (0.30-5.26)		
5	M-5	7	4.45±1.89 4.57 (2.43-6.13)		
6	M-10	7	2.61±1.44 3.58 (0.93-3.71)		

*:Kruskal-Wallis Testi; K: Kontrol grubu, S: Stres grubu, P: Pantoprazol grubu, M1: Bakteri grubu - 3×10^8 cfu/ml, M5: Bakteri grubu - 15×10^8 cfu/ml, M10: Bakteri grubu - 30×10^8 cfu/ml



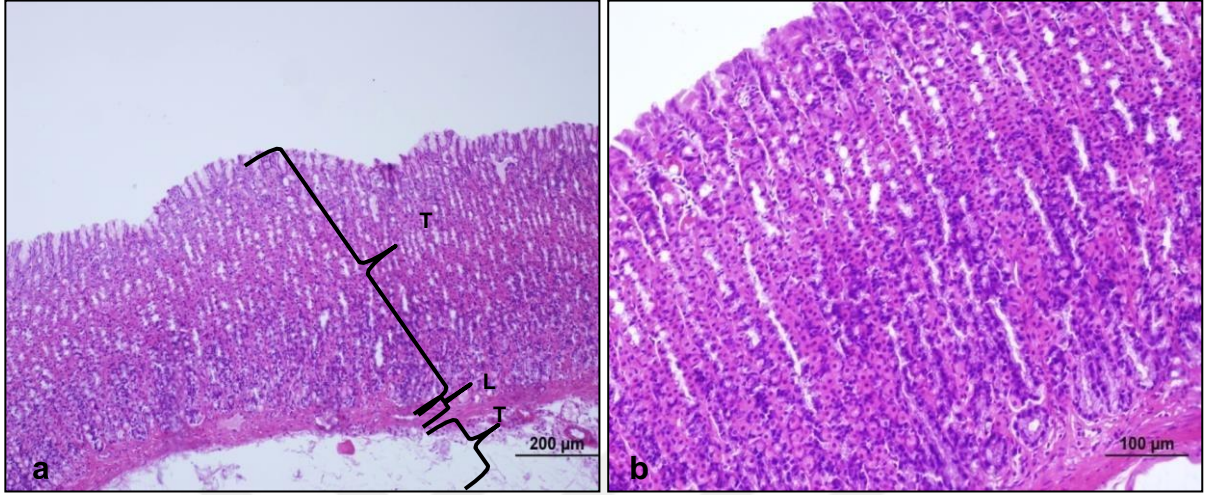
Şekil 4.17: Mide dokusunda mukus seviyesi (mg/gr); K: Kontrol grubu, S: Stres grubu, P: Pantoprazol grubu, M1: Bakteri grubu - 3×10^8 cfu/ml, M5: Bakteri grubu - 15×10^8 cfu/ml, M10: Bakteri grubu - 30×10^8 cfu/ml

4.11. Mide Dokusunda Histolojik Sonuçlara Ait Bulgular ve Histolojik Skorlama

Histolojik bulgular: Tüm deney gruplarını oluşturan sıçanların midelerinde ışık mikroskopik olarak yapılan incelemelerde aşağıda verilen bulgular gözlenmiştir.

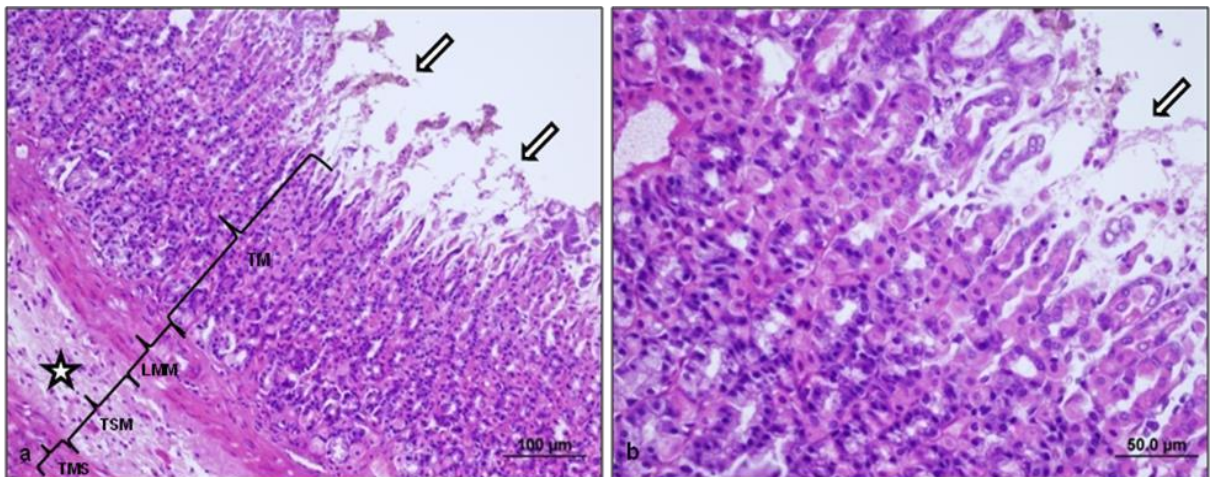
Kontrol grubu: Kontrol grubuna ait deney hayvanlarının mideleri üzerinde ışık mikroskopik olarak yapılan değerlendirmelerde sıçan mideleri

tek katlı basit prizmatik epitel yapısı (lamina epitelialis) ve fundus bezlerini içeren lamina propria tabakasından oluşan tunika mukoza, lamina muskularis mukoza, tunika submukoza (TSM), tunika muskularis (TMS) ve tunika seroza (TS) tabakalarıyla birlikte normal histolojik yapıda görüldü (Şekil 4.18a,b)

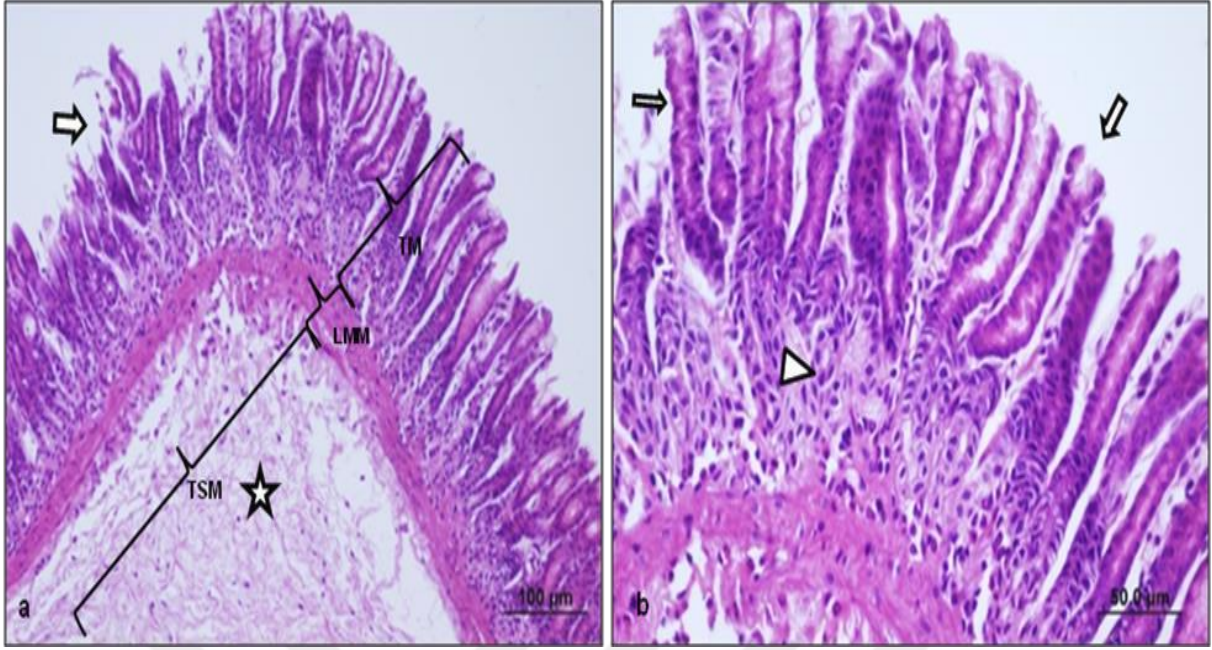


Şekil 4.18: Kontrol grubuna ait sıçan midelerinin ışık mikroskopik görüntüsü. Tek katlı basit prizmatik epitel yapısı (lamina epitelialis) ve fundus bezlerini içeren lamina propria tabakasından oluşan tunika mukoza (TM), lamina muskularis mukoza (LMM) ve tunika submukoza (TSM) tabakalarıyla birlikte mide normal histolojik yapıda gözlenmekte (a,b) (bar:200µm, X10, bar:100µm, X20, HE).

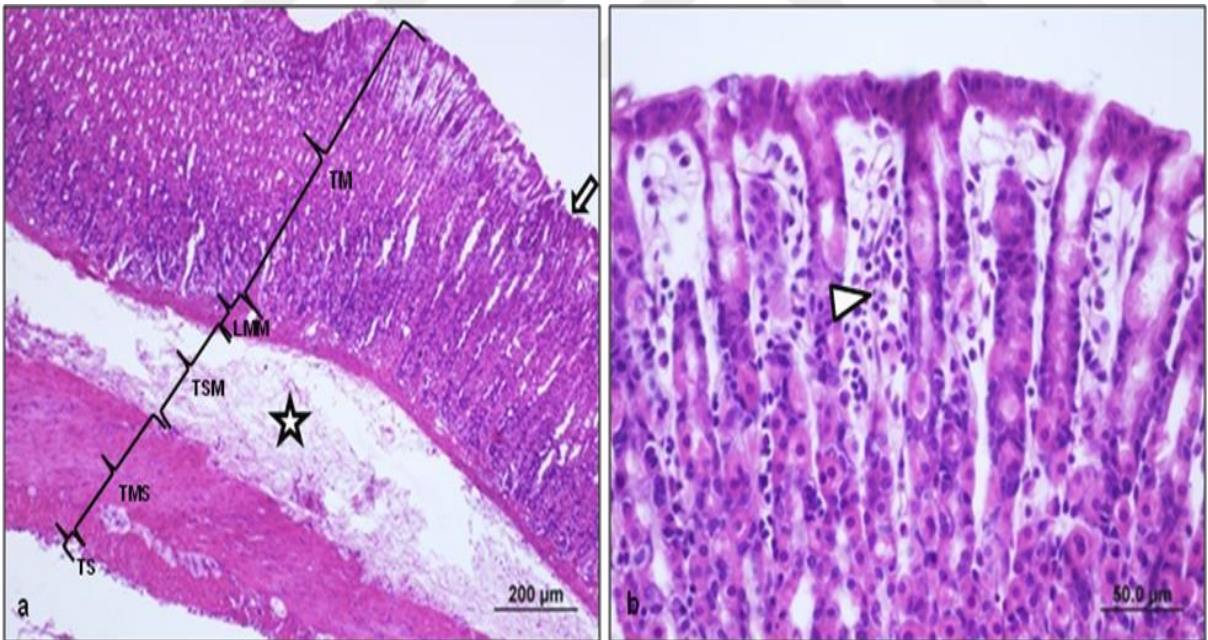
Stres grubu: Stres grubuna ait sıçan mideleri üzerinde ışık mikroskopik olarak yapılan değerlendirmelerde midenin epitel dokusunda yoğun hücresel hasar ve kayıplar ile ülserasyon, submukoza tabakasında ise ödem görüldü. Fundus bezlerinde hasar, lamina propriada hücresel infiltrasyon izlendi (Şekil 4.19a,b, Şekil 4.20a,b, şekil 4.21a,b)



Şekil 4.19: Stres grubuna ait sıçan midelerinin ışık mikroskopik görüntüsü. Midenin epitel dokusunda yoğun hücresel hasar ve kayıplar ile ülserasyon (→), submukoza tabakasında ise ödem görülmekte (*) (a,b), tunika mukoza (TM), lamina muskularis mukoza (LMM), tunika submukoza (TSM), tunika muskularis (TMS)(bar:100, X20bar: 50.0µm, X40HE).

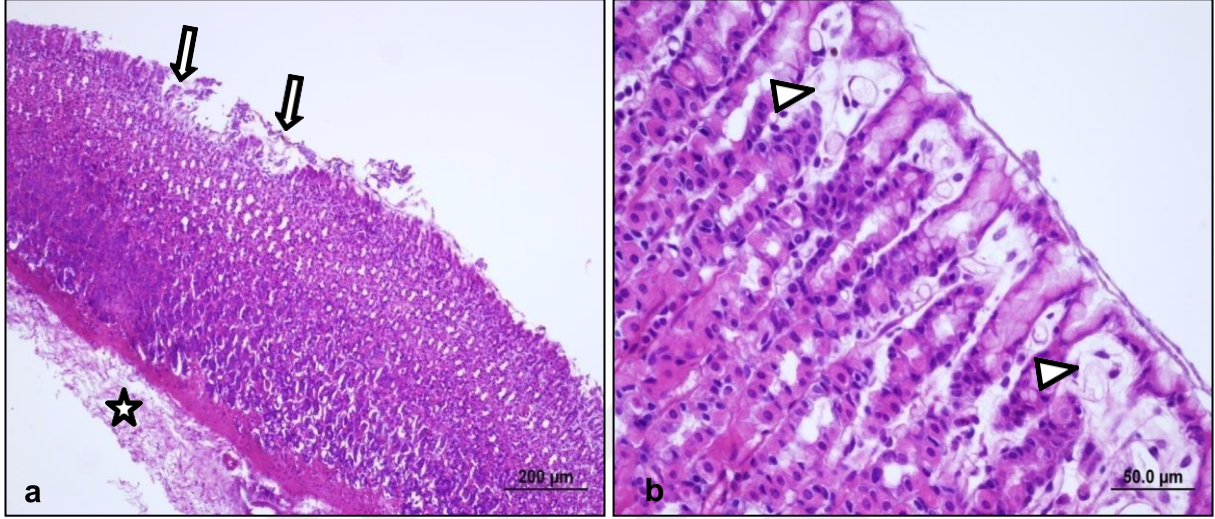


Şekil 4.20: Stres grubuna ait sıçan midelerinin ışık mikroskopik görüntüsü. Midenin epitel dokusunda yoğun hücresel hasar ve kayıplar ile ülserasyon (→), fundus bezlerinde hasar (▶), submukoza tabakasında ise yoğun ödem görülmekte (*) (a,b) Tunika mukoza (TM), lamina muskularis mukoza (LMM), tunika submukoza (TSM)(bar:100, X20bar: 50.0µm, X40HE).

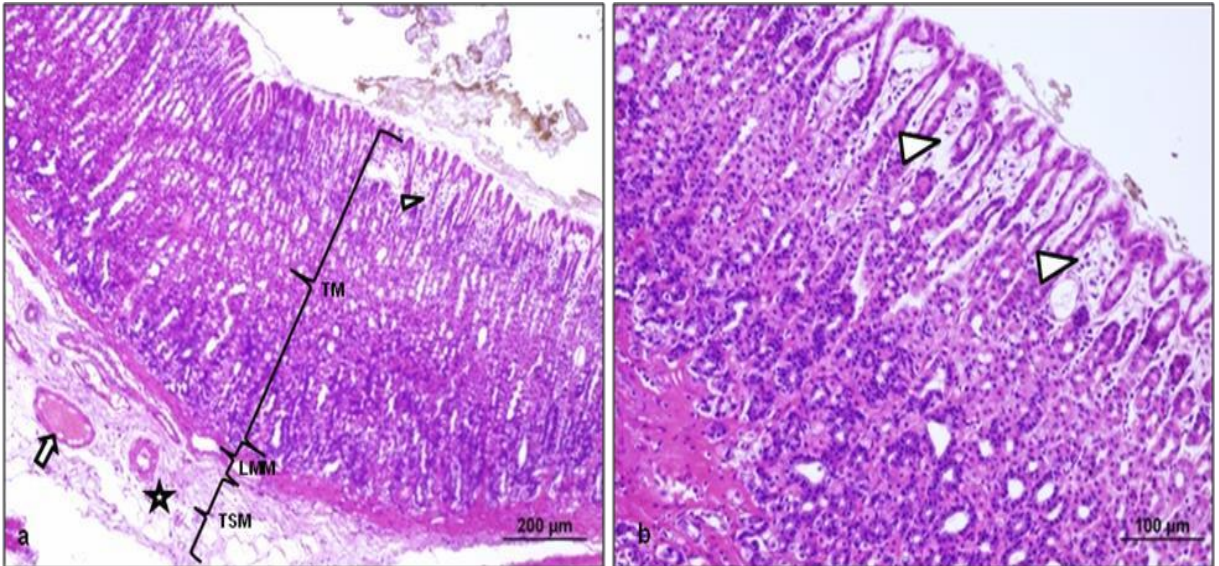


Şekil 4.21: Stres grubuna ait sıçan midelerinin ışık mikroskopik görüntüsü. Midenin epitel dokusunda yoğun hücresel hasar ve kayıplar ile ülserasyon (→), lamina propriada hücresel infiltrasyon (▶), submukoza tabakasında ise ödem görülmekte (*) (a,b) Tunika mukoza (TM), lamina muskularis mukoza (LMM), tunika submukoza (TSM), tunika muskularis (TMS), tunika seroza (TS) (bar:200, X10 bar: 50.0µm, X40HE).

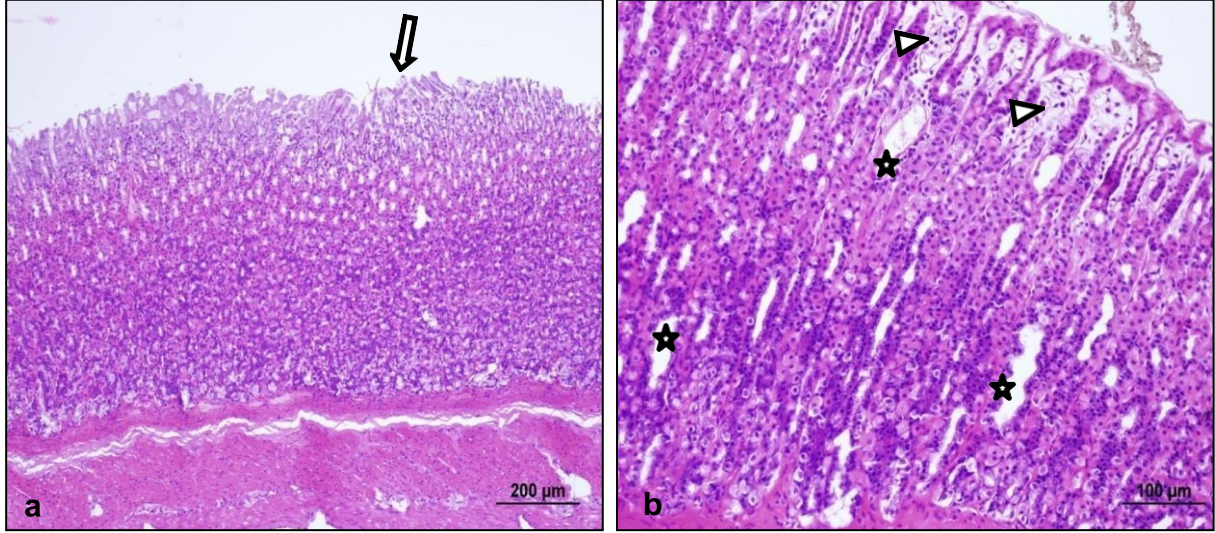
Pantoprazol grubu: Pantoprazol grubuna ait sıçan mideleri üzerinde ışık mikroskopik olarak yapılan değerlendirmelerde epitel dokusunda devam eden hücresel hasar ve kayıplar ile ülserasyon, fundus bezlerinde hasar, lamina propriada ve submukoza tabakasında ödem görüldü. Ayrıca submukoza tabakasında vasküler konjesyon gözlemlendi (Şekil 4.22a,b, Şekil 4.23a,b, şekil 4.24a,b)



Şekil 4.22: Pantoprazol grubuna ait sıçan midelerinin ışık mikroskopik görüntüsü. Midenin epitel dokusunda devam eden hücresel hasar ve kayıplar ile ülserasyon (→), lamina propriada (▶) ve submukoza tabakasında ise ödem görülmekte (*) (a,b) (bar:200, X10, bar: 50.0µm, X40HE).

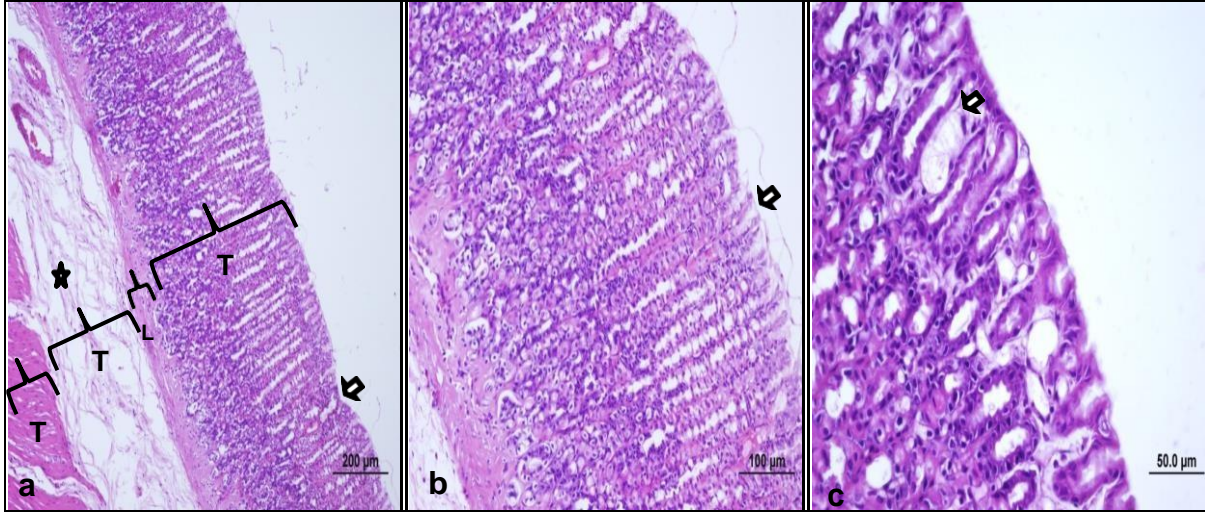


Şekil 4.23: Pantoprazol grubuna ait sıçan midelerinin ışık mikroskopik görüntüsü. Midenin epitel dokusunda devam eden hücresel hasar ve kayıplar, lamina propriada (▶) ve submukoza tabakasında ödem görülmekte (*). Ayrıca submukoza tabakasında vasküler konjesyon (→) dikkat çekmekte (a,b), tunika mukoza (TM), lamina muskularis mukoza (LMM), tunika submukoza (TSM), (bar:200, X10, bar: 100µm, X20HE).



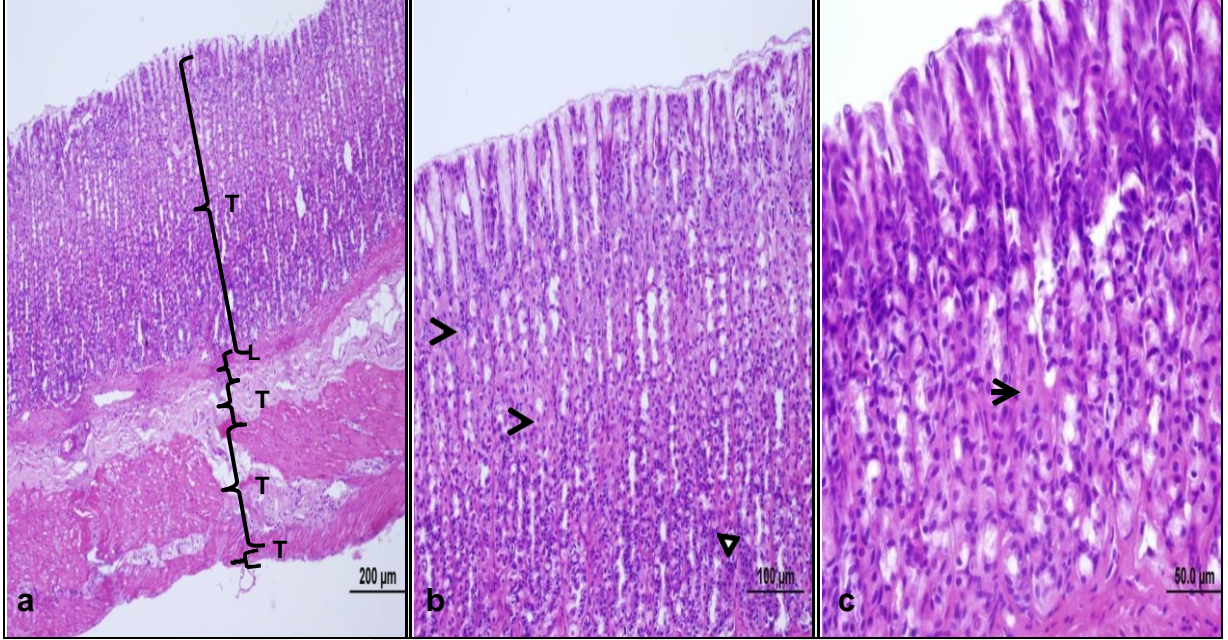
Şekil 4.24: Pantoprazol grubuna ait sıçan midelerinin ışık mikroskopik görüntüsü. Midenin epitel dokusunda devam eden hücresel hasar ve kayıplar ile ülserasyon (→), fundus bezlerinde hasar (*) ve lamina propriada (▶) ödem görülmekte (a,b) (bar:200, X10, bar: 100µm, X20HE).

M1 grubu: M1 grubuna ait sıçan mideleri üzerinde ışık mikroskopik olarak yapılan değerlendirmelerde midede ülserasyonun stres grubuna göre azaldığı ancak bazı alanlarda hücresel hasarın devam ettiği görüldü. Ayrıca submukoza tabakasında da ödemin stres grubuna oranla azalmakla beraber minimal düzeyde devam ettiği gözlemlendi (Şekil 4.25a-c)



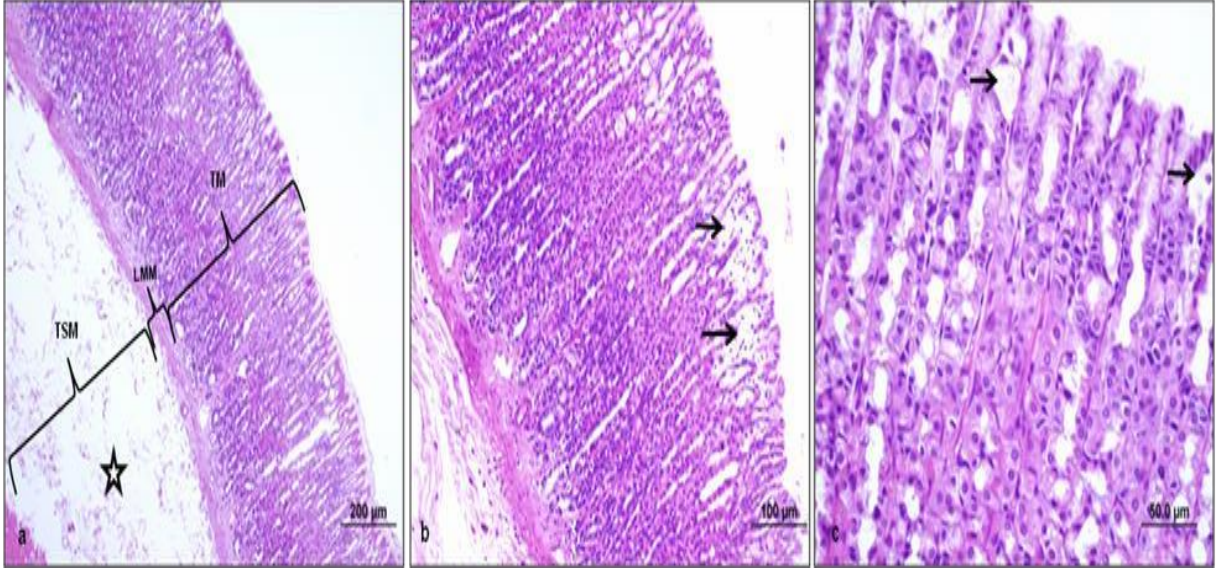
Şekil 4.25: M1 grubuna ait sıçan midelerinin ışık mikroskopik görüntüsü. Midede ülserasyonun stres grubuna göre azaldığı ancak bazı alanlarda hücresel hasarın devam ettiği görüldü (→). Ayrıca submukoza tabakasında da ödemin stres grubuna oranla azalmakla beraber minimal düzeyde devam ettiği gözlemlendi (*). Tunika mukoza (TM), lamina muskularis mukoza (LMM), tunika submukoza (TSM), tunika muskularis (TMS) (a,b,c) (bar:200µm, X10, bar:100µm, X20, bar:50.0µm, X40, HE)

M5 grubu: M5 grubuna ait sıçan mideleri üzerinde ışık mikroskopik olarak yapılan değerlendirmelerde midede ülserasyonun önemli oranda azaldığı ve epitelin normale yakın görünüm kazandığı dikkat çekti. Midenin pariyetal hücreleri ve şef hücrelerinin normal yapıda olduğu görüldü. Submukoza tabakasındaki ödemin önemli oranda düzelmesi dikkat çekti (Şekil 4.26a-c)



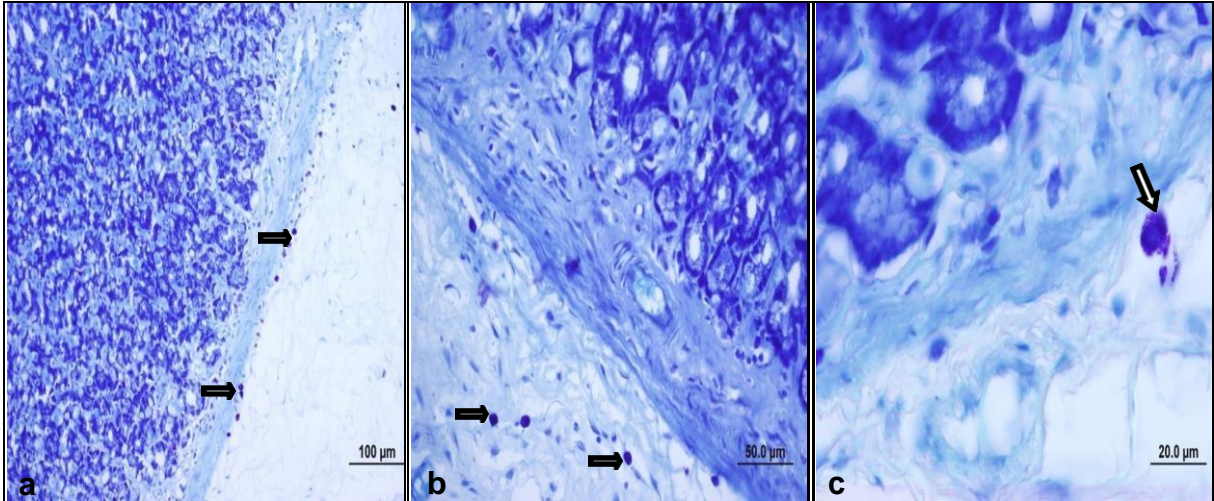
Şekil 4.26: M5 grubuna ait sıçan midelerinin ışık mikroskopik görüntüsü. Midede ülserasyonun önemli oranda azaldığı ve epitelin normale yakın görünüm kazandığı dikkat çekmekte. Midenin pariyetal hücreleri (→) ve şef hücrelerinin (▶) normal yapıda olduğu görüldü. Submukoza tabakasındaki ödemin önemli oranda düzelmesi dikkat çekti. Tunika mukoza (TM), lamina muskularis mukoza (LMM), tunika submukoza (TSM), tunika muskularis (TMS), tunika seroza (TS) (a,b,c) (bar:200µm, X10, bar:100µm, X20, bar:50.0µm, X40, HE).

M10 grubu: M10 grubuna ait sıçan mideleri üzerinde ışık mikroskopik olarak yapılan değerlendirmelerde midede ülserasyonun stres grubuna göre azaldığı ancak M1 ve M5 grubuna göre daha fazla olduğu, özellikle bazı alanlarda hücresel kayıplarla birlikte hasarın devam ettiği görüldü. Ayrıca submukoza tabakasında da ödemin devam ettiği gözlemlendi (Şekil 4.27a-c)

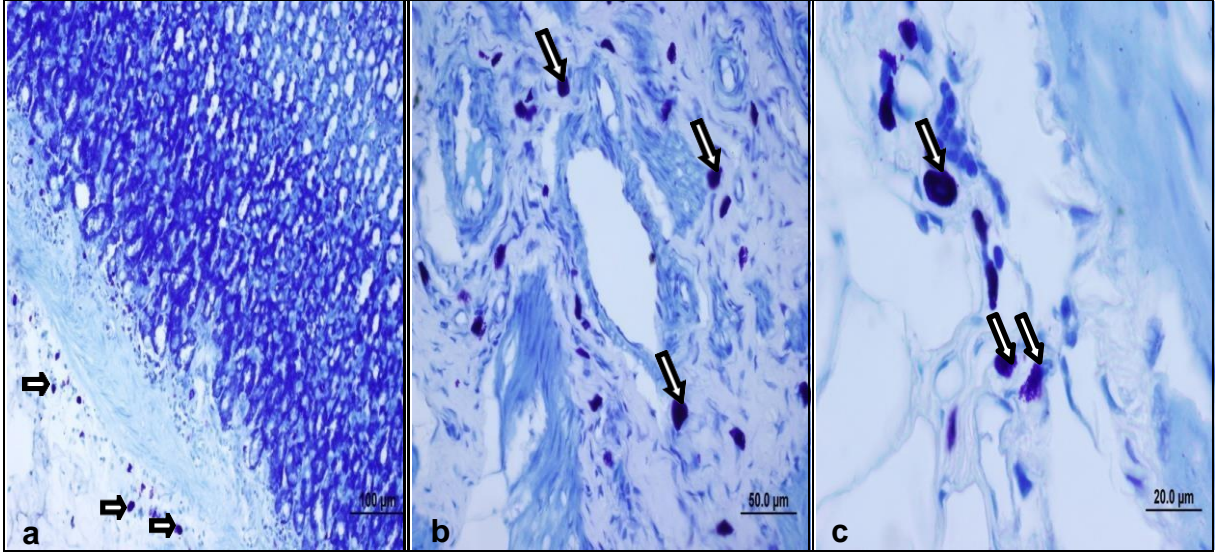


Şekil 4.27: M10 grubuna ait sıçan midelerinin ışık mikroskobik görüntüsü. Midede ülserasyonun stres grubuna göre azaldığı ancak bazı alanlarda hüresel kayıplarla birlikte hasarın devam ettiği görüldü (→). Ayrıca submukoza tabakasında da ödemin devam ettiği gözlemlendi (*). Tunika mukoza (TM), lamina muskularis mukoza (LMM), tunika submukoza (TSM) (a,b,c) (bar:200µm, X10, bar:100µm, X20, bar:50.0µm, X40, HE).

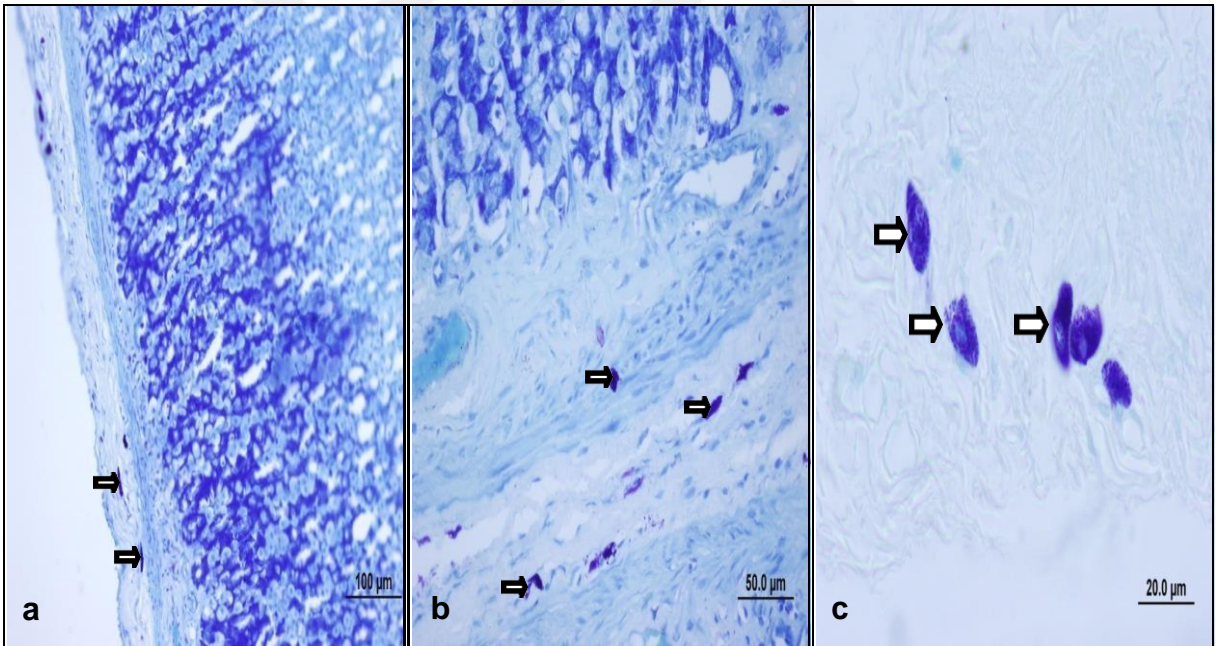
Ayrıca kontrol grubu, stres grubu, pantoprazol grubu, M1 grubu, M5 grubu ve M10 grubuna ait sıçanlardan alınan midelerde toluidin mavisi ile boyanmış mide örneklerinin yapılan değerlendirilmesinde kontrol grubu ve M5 grubuna ait mide preparatlarında benzer oranda mast hücreleri izlenirken, stres grubu, pantoprazol grubu, M1 grubu ve özellikle M10 grubu mide örneklerinde kontrol grubu ve M5 grubuna oranla daha fazla sayıda mast hücresi izlenmiştir (Şekil 4.28 a-c, Şekil 4.29 a-c, Şekil 4.30 a-c, Şekil 4.31 a-c, Şekil 4.32 a-c, Şekil 4.33 a-c).



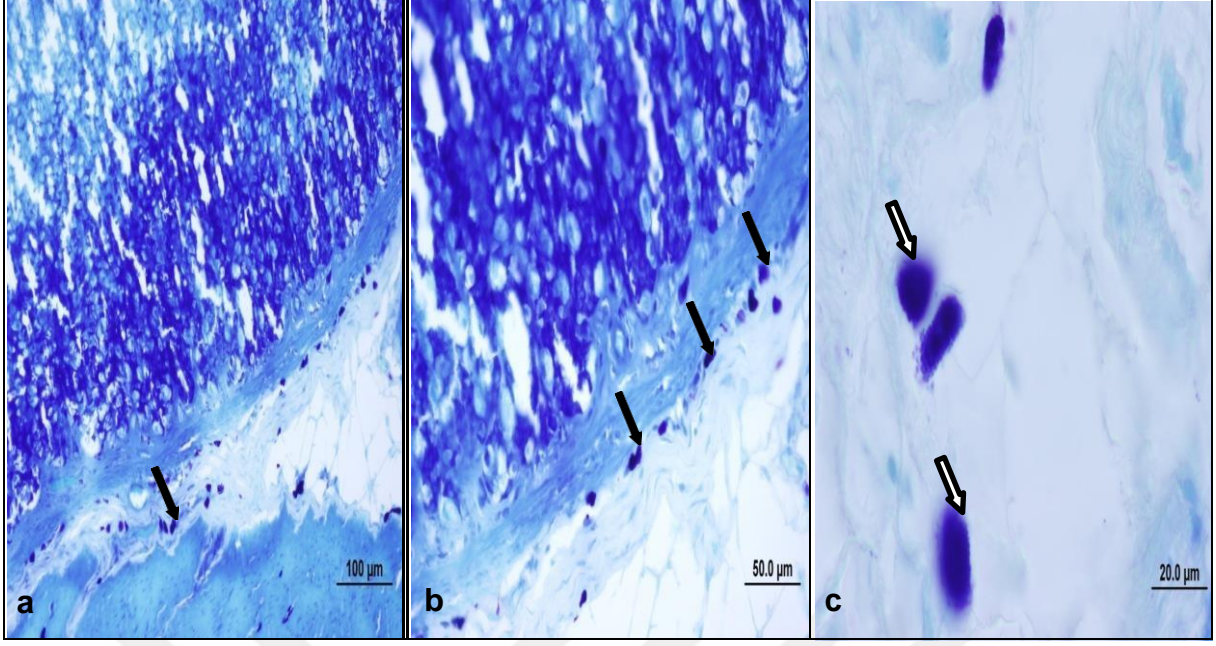
Şekil 4.28: Kontrol grubu, mast hücre hareketi: Kontrol grubuna ait sıçan midelerinde toluidin mavisi ile boyanmış mast hücreleri (→) görülmekte (a,b,c) (bar:100µm, X20, bar:50.0µm, X40, bar:20.0µm, X100, toluidin mavisi)



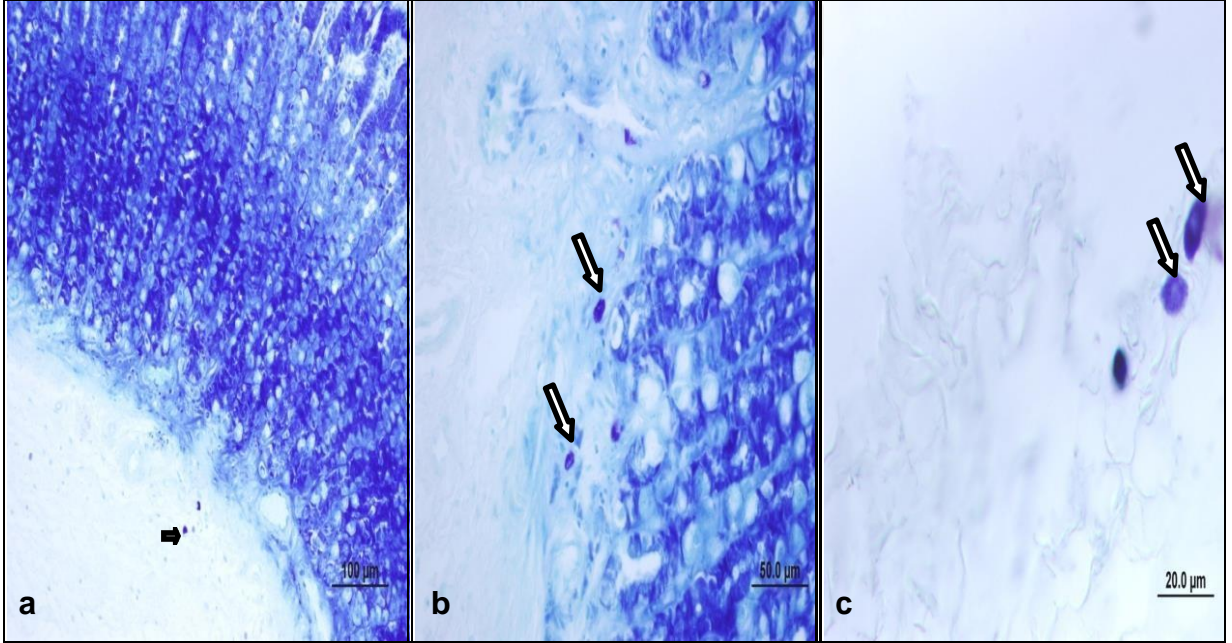
Şekil 4.29: Stres grubu, mast hücre hareketi: Stres grubuna ait sıçan midelerinde toluidin mavisi ile boyanmış çok sayıda mast hücreleri (→) görülmekte (a,b,c) (bar:100µm, X20, bar:50.0µm, X40, bar:20.0µm, X100, toluidin mavisi).



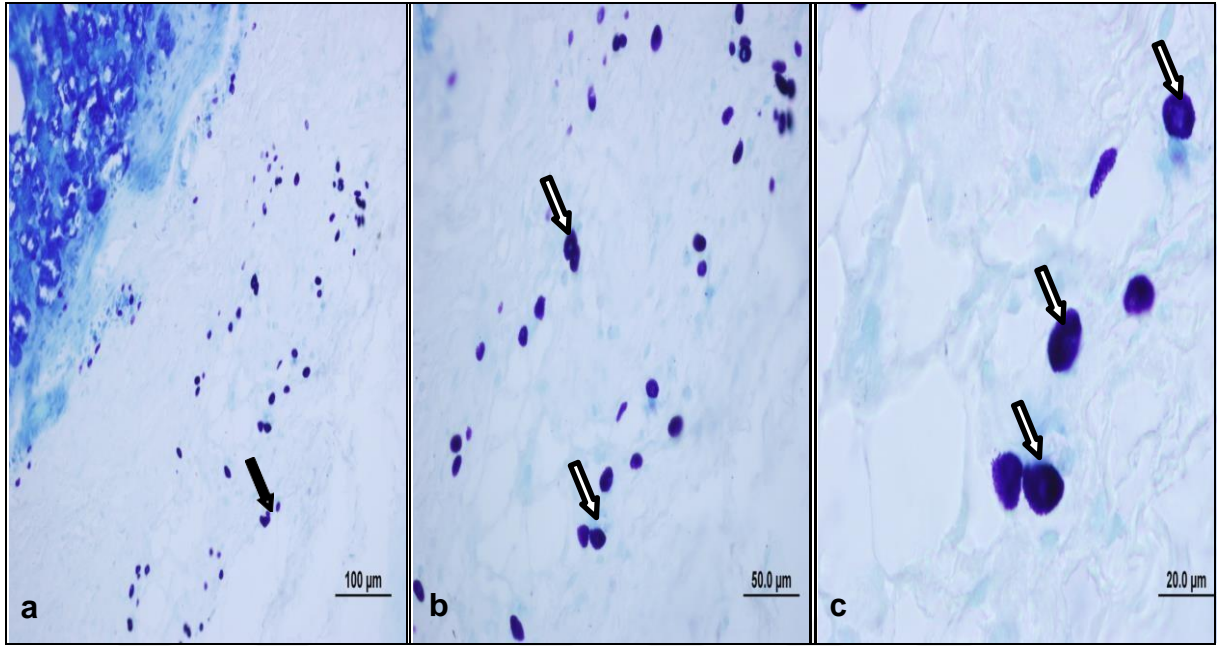
Şekil 4.30: Pantoprazol grubu, mast hücre hareketi: Pantoprazol grubuna ait sıçan midelerinde toluidin mavisi ile boyanmış çok sayıda mast hücreleri (→) görülmekte (a,b,c) (bar:100µm, X20, bar:50.0µm, X40, bar:20.0µm, X100, toluidin mavisi).



Şekil 4.31: M1 grubu, mast hücre hareketi: M1 grubuna ait sıçan midelerinde toluidin mavisi ile boyanmış çok sayıda mast hücreleri (→) görülmekte (a,b,c) (bar:100µm, X20, bar:50.0µm, X40, bar:20.0µm, X100, toluidin mavisi).



Şekil 4.32: M5 grubu, mast hücre hareketi: M5 grubuna ait sıçan midelerinde toluidin mavisi ile boyanmış kontrol grubuna benzer sayıda mast hücreleri (→) görülmekte (a,b,c) (bar:100µm, X20, bar:50.0µm, X40, bar:20.0µm, X100, toluidin mavisi).



Şekil 4.33: M10 grubu, mast hücre hareketi: M10 grubuna ait sıçan midelerinde toluidin mavisi ile boyanmış çok sayıda mast hücreleri (→) görülmekte (a,b,c) (bar:100µm, X20, bar:50.0µm, X40, bar:20.0µm, X100, toluidin mavisi)

Histolojik Skorlama

Tablo 4.12. Kontrol Grubu Mide Dokusunda Histolojik Sonuçlara Ait Skorlama

Gruplar	Deney hayvanı grup numarası	Ülserasyon	Ödem	Hücrel hasar	Hücrel İnfiltrasyon
Kontrol grubu	K1	0	0	0	0
	K2	0	0	0	0
	K3	0	0	0	0
	K4	0	0	0	0
	K5	0	1	0	0
	K6	0	0	0	0
	K7	0	0	1	0

Tablo 4.13. Stres Grubu Mide Dokusunda Histolojik Sonuçlara Ait Skorlama

Gruplar	Deney hayvanı grup numarası	Ülserasyon	Ödem	Hücrel hasar	Hücrel İnfiltrasyon
Stres grubu	S1	3	3	3	3
	S2	3	3	2	2
	S3	2	2	3	3
	S4	2	2	2	3
	S5	2	2	3	3
	S6	3	2	3	2
	S7	3	3	3	3

Tablo 4.14. Pantoprazol Grubu Mide Dokusunda Histolojik Sonuçlara Ait Skorlama

Gruplar	Deney hayvanı grup numarası	Ülserasyon	Ödem	Hücrel hasar	Hücrel İnfiltrasyon
Pantoprazol grubu	P1	1	2	2	2
	P2	2	1	2	3
	P3	2	2	3	2
	P4	1	1	2	3
	P5	1	2	2	3
	P6	1	2	2	2
	P7	3	2	3	2

Tablo 4.15. M1 Grubu Mide Dokusunda Histolojik Sonuçlara Ait Skorlama

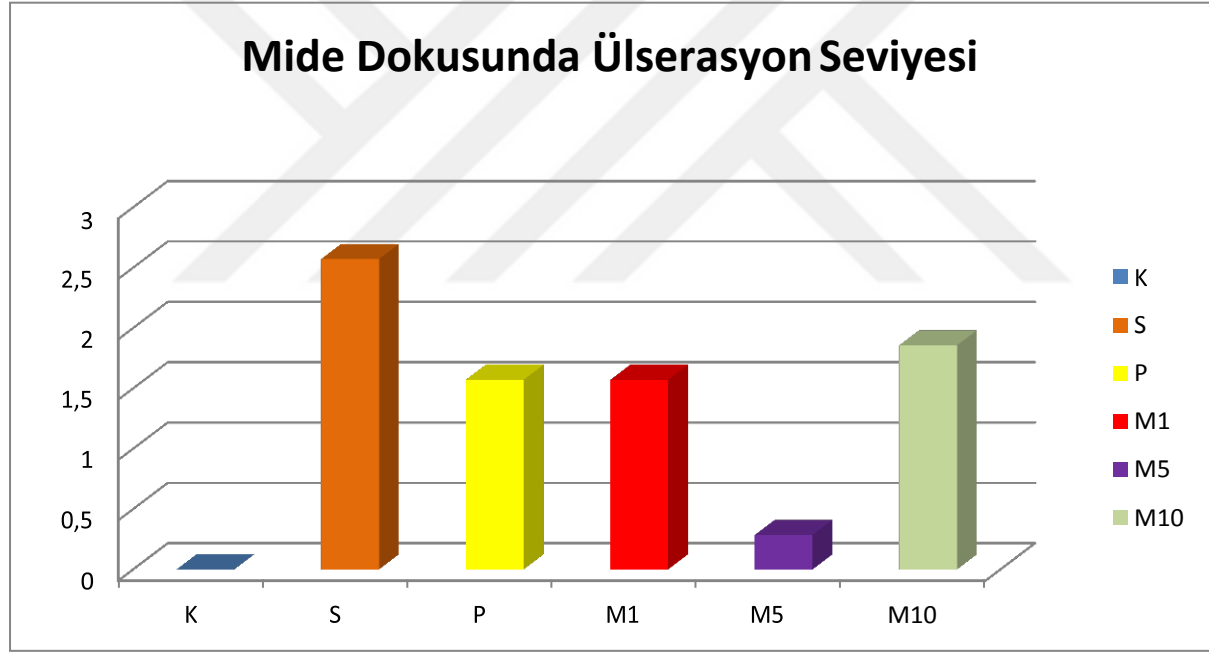
Gruplar	Deney hayvanı grup numarası	Ülserasyon	Ödem	Hücresel hasar	Hücresel İnfiltrasyon
M-1 grubu	M1-1	2	1	1	2
	M1-2	1	1	1	1
	M1-3	1	0	0	1
	M1-4	2	1	1	1
	M1-5	1	1	1	0
	M1-6	2	2	2	1
	M1-7	2	1	1	2

Tablo 4.16. M5 Grubu Mide Dokusunda Histolojik Sonuçlara Ait Skorlama

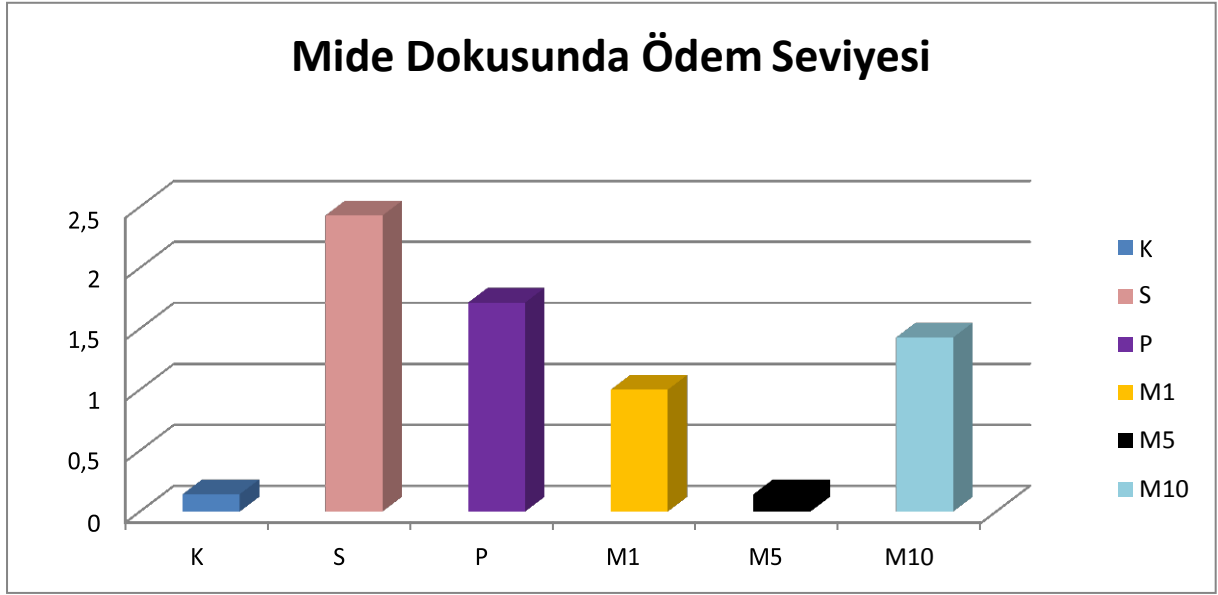
Gruplar	Deney hayvanı grup numarası	Ülserasyon	Ödem	Hücresel hasar	Hücresel İnfiltrasyon
M5 grubu	M5-1	0	0	0	1
	M5-2	0	0	0	1
	M5-3	0	0	0	0
	M5-4	1	1	0	0
	M5-5	0	0	0	1
	M5-6	1	0	0	0
	M5-7	0	0	0	1

Tablo 4.17. M10 Grubu Mide Dokusunda Histolojik Sonuçlara Ait Skorlama

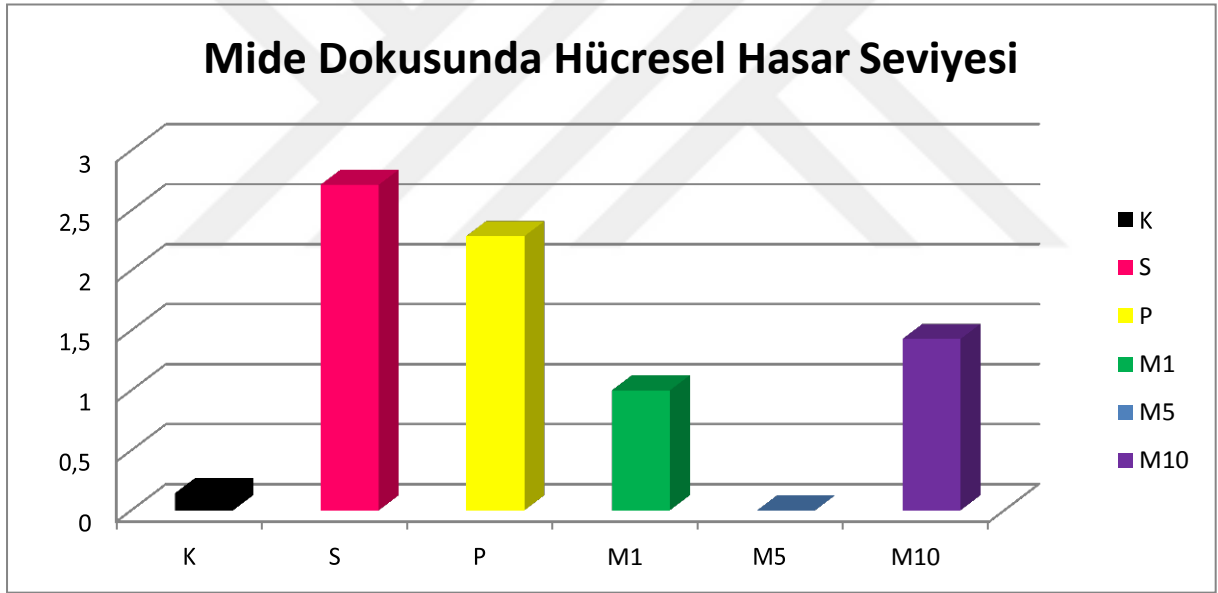
Gruplar	Deney hayvanı grup numarası	Ülserasyon	Ödem	Hücresel hasar	Hücresel İnfiltrasyon
M10 grubu	M10-1	1	0	0	0
	M10-2	2	2	2	2
	M10-3	3	1	2	2
	M10-4	2	2	1	1
	M10-5	2	2	1	2
	M10-6	1	1	2	1
	M10-7	2	2	2	2



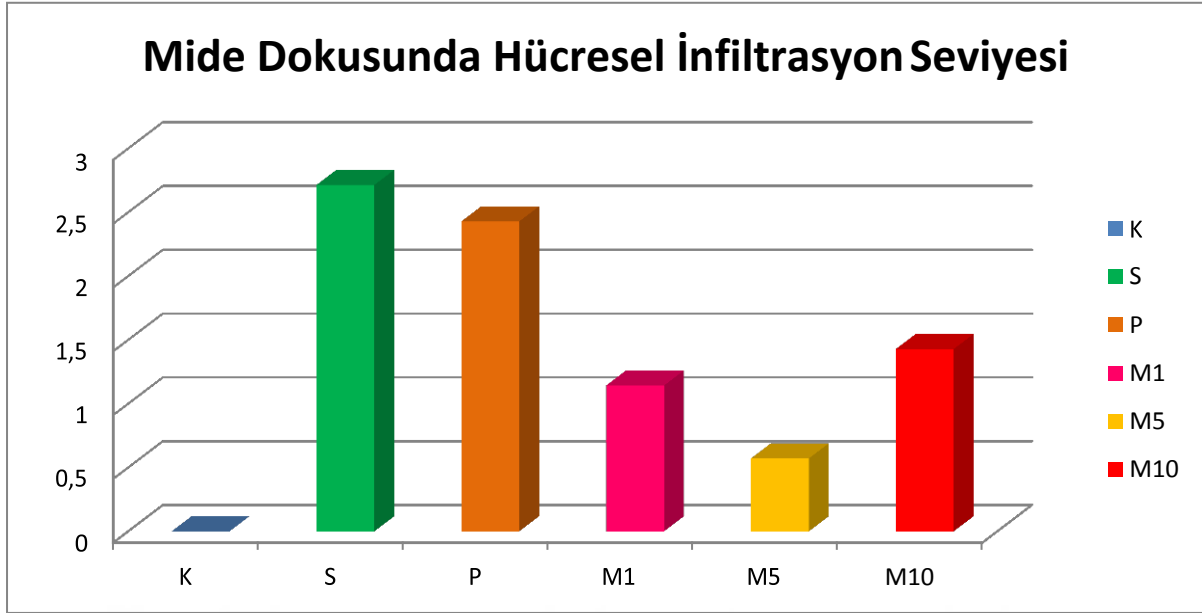
Şekil 4.34. Mide dokusunda ülserasyon seviyesi; K: Kontrol grubu, S: Stres grubu, P: Pantoprazol grubu, M1: Bakteri grubu - 3×10^8 cfu/ml, M5: Bakteri grubu - 15×10^8 cfu/ml, M10: Bakteri grubu - 30×10^8 cfu/ml



Şekil 4.35. Mide dokusunda ödem seviyesi; K: Kontrol grubu, S: Stres grubu, P: Pantoprazol grubu, M1: Bakteri grubu - 3×10^8 cfu/ml, M5: Bakteri grubu - 15×10^8 cfu/ml, M10: Bakteri grubu - 30×10^8 cfu/ml



Şekil 4.36. Mide dokusunda hücresel hasar seviyesi seviyesi; K: Kontrol grubu, S: Stres grubu, P: Pantoprazol grubu, M1: Bakteri grubu - 3×10^8 cfu/ml, M5: Bakteri grubu - 15×10^8 cfu/ml, M10: Bakteri grubu - 30×10^8 cfu/ml



Şekil 4.37. Mide dokusunda hücresel infiltrasyon seviyesi; K: Kontrol grubu, S: Stres grubu, P: Pantoprazol grubu, M1: Bakteri grubu - 3×10^8 cfu/ml, M5: Bakteri grubu - 15×10^8 cfu/ml, M10: Bakteri grubu - 30×10^8 cfu/ml

4.12. HSP70 Protein Ekspresyonu Seviyesine Ait Bulgular

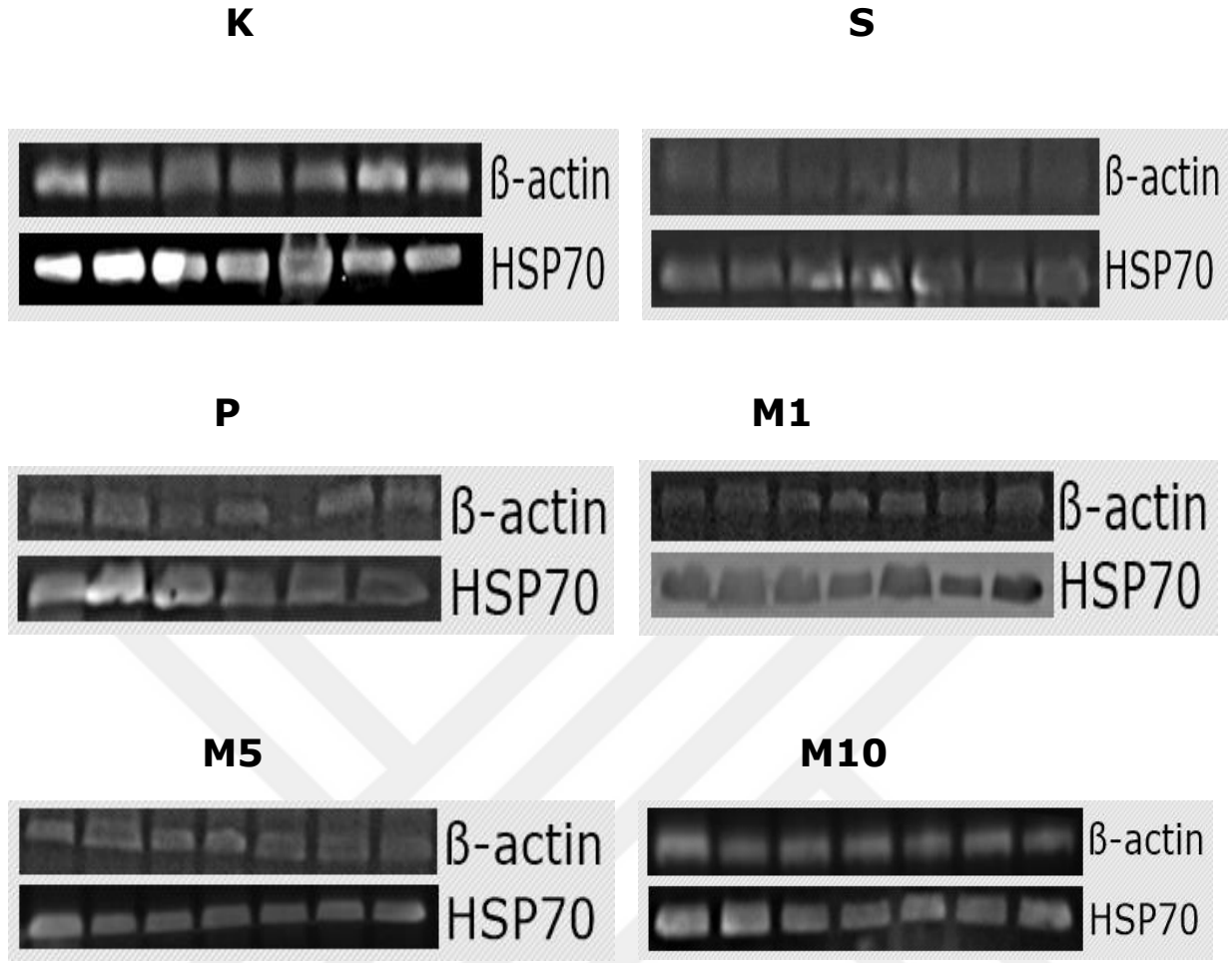
Mide dokusunda HSP70 protein ekspresyonu seviyesi raw volume (r/v) kontrol grubunda 1.24 ± 0.53 r/v, stres grubunda 3.33 ± 1.38 r/v, pantoprazol grubunda 4.70 ± 2.75 r/v, M1 (3×10^8 cfu/ml) grubunda 3.43 ± 1.03 r/v, M5 (15×10^8 cfu/ml) grubunda 4.03 ± 1.58 r/v, M10 (30×10^8 cfu/ml) grubunda 0.59 ± 0.15 r/v olarak bulundu.

Kontrol grubu ile pantoprazol grubu arasında, stres grubu ile M10 grubu arasında, pantoprazol grubu ile M10 grubu arasında, M1 grubu ile M10 grubu arasında ve M5 grubu ile M10 grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulundu. Stres gruplarından M10 grubundaki HSP70 protein ekspresyonunun kontrol grubu ile benzer olduğu görüldü.

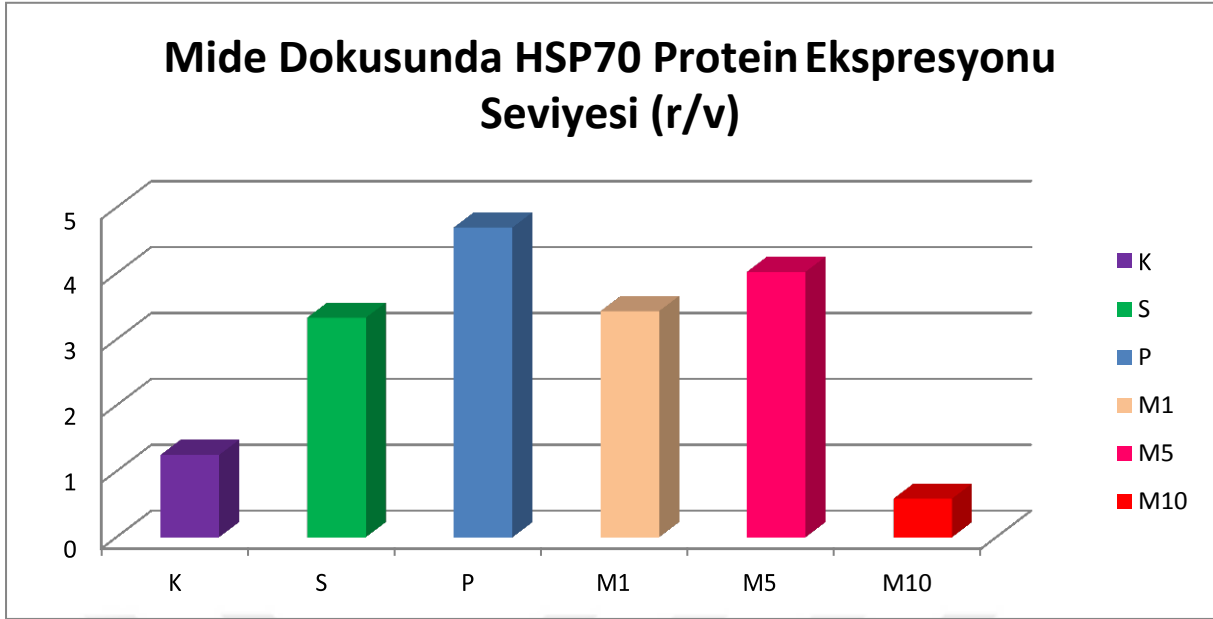
Tablo 4.18: Mide Dokusunda HSP70 Protein Ekspresyonu Seviyesine Ait İstatistiksel Sonuçlar

Grup no	Gruplar	n	(HSP70 Protein Eks. Seviyesi/r/v) ORT±SS M (25-75) PER.	P DEĞERİ	ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA
1	K	7	1.24±0.53 1.19 (0.75-1.53)	<0.001*	K-P, S-M10, P-M10, M1-M10, M5-M10
2	S	7	3.33±1.38 2.65 (2.59-4.24)		
3	P	7	4.70±2.75 3.87 (2.62-6.57)		
4	m-1	7	3.43±1.03 3.55 (2.42-4.42)		
5	m-5	7	4.03±1.58 3.86 (3.19-4.15)		
6	m-10	7	0.59±0.15 0.53 (0.46-0.73)		

K: Kontrol grubu, S: Stres grubu, P: Pantoprazol grubu, M1: Bakteri grubu - 3×10^8 cfu/ml, M5: Bakteri grubu - 15×10^8 cfu/ml, M10: Bakteri grubu - 30×10^8 cfu/ml



Şekil 4.38: Western blot analizi ile HSP70 protein ekspresyon görüntüleri; K: Kontrol grubu, S: Stres grubu, P: Pantoprazol grubu, M1: Bakteri grubu - 3×10^8 cfu/ml, M5: Bakteri grubu - 15×10^8 cfu/ml, M10: Bakteri grubu - 30×10^8 cfu/ml



Şekil 4.39: Mide dokusunda HSP70 protein ekspresyonu seviyesi (r/v); K: Kontrol grubu, S: Stres grubu, P: Pantoprazol grubu, M1: Bakteri grubu - 3×10^8 cfu/ml, M5: Bakteri grubu - 15×10^8 cfu/ml, M10: Bakteri grubu - 30×10^8 cfu/ml

5. TARTIŞMA

5.1. Mide Dokusunda Ülser Oranına Ait Bulgular

Çalışmamızda ülserleşme oranı mide dokusunda mm^2 olarak hesaplandı.

Sıçanlar tel kafesler içinde hareket etmeyecek şekilde (soğuk + immobilizasyon) + 4°C 'de 4 saat tutularak stres ülseri yapılmıştır ve bu işlem kontrol grubu hariç tüm gruplara uygulanmıştır ve ülserleşme oranı kontrol grubunda (serum fizyolojik 1 ml/gün) 1.2 mm^2 olarak çok düşük bir seviyede bulunmuştur. Stres grubunda (serum fizyolojik 1 ml/gün) 83.5 mm^2 olarak ülserleşme oranının en yüksek seviyede görüldüğü grup olmuştur. *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) bakterisi verilen M5 (15×10^8 cfu/ml) grubunda 5.03 mm^2 olarak bulundu. M5 grubunun ülserleşmeye karşı en etkili grup olduğu ve en etkin doz olduğu görülmüştür, 15×10^8 cfu/ml optimum doz olarak belirlenmiştir.

Bir çalışmada *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53101) bakterisinin kullanılmıştır ve asetik asitle indüklemeye sonucu gastrik lezyonlar oluşturulmuştur, mide dokusunda ülser oluşturulduktan sonra 3 gün boyunca 10^8 cfu/gün ve 10^9 cfu/gün dozlarında bakteri verilmiştir. Ülserleşme oranında 10^9 cfu/gün dozda bakteri verilen bakteri grubunda %32 oranında azalma görülmüştür ve bu sonuç çalışmamızda bulduğumuz sonuç ile paralellik göstermektedir (Lam et al., 2007).

Bir diğer çalışmada suda yüzdürme yöntemi ile stres ülseri yapılan sıçanlarda pantoprazolün ülserleşmeye karşı koruyucu etkileri araştırılmış ve 2.72 mg/kg, 1.6 mg/kg, 4.12 mg/kg, 2.77 mg/kg pantoprazol verilen

gruplarda %50 oranında iyileşme görülmüştür. Çalışmamızda pantoprazol grubundaki sıçanlara 4mg/ml(=10mg/kg) dozda pantoprazol verilmiştir ve koruyucu etki gözlenmemiştir. Bu bakımdan çalışmamız yapılan çalışma ile paralellik göstermemektedir (Cao, Wang, Jia, Wang, & Cheng, 2004).

İlaç grubuna göre *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) gruplarında ülserleşmeye karşı koruyucu etki gözlenmesi *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103)'un midede asidite oranını azaltarak koruyucu etki sağladığı söylenebilir.

5.2. pH Değerine Ait Bulgular

pH değeri kontrol grubunda (serum fizyolojik 1 ml/gün) 3.63, stres grubunda (serum fizyolojik 1 ml/gün) 3.26, pantoprazol grubunda (4mg/ml(=10mg/kg)) 3.64, M1 (3×10^8 cfu/ml) grubunda 3.41, M5 (15×10^8 cfu/ml) grubunda 4.75, M10 (30×10^8 cfu/ml) grubunda 3.12 olarak bulundu. Gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmazken bazik pH değerine en yakın değer M5 grubunda gözlemlenmiştir. Bu sonuç ülserleşmede önemli etkisi olan mide asiditesinin düşük olmasında etkili olan dozun M5 grubuna verilen 15×10^8 cfu/ml doz olduğunu göstermiştir. Deneyde kullanılan *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) bakterisi ile veya herhangi bir probiyotik bakteri ile yapılan ve pH seviyesinin belirlendiği bir ülser çalışmasına literatürde rastlanmamıştır.

Sıçanlarda pantoprazolun pH seviyesi üzerine etkisini araştıran bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. İnsanlar üzerinde yapılan bir çalışma vardır. 16 erkek hasta üzerinde pantoprazolun pH seviyesi üzerine etkisi araştırılmış ve 7 gün boyunca oral olarak 40 mg pantoprazol verilmiştir. İlk günden itibaren pH seviyeleri ölçülmüştür. İlk gün pH seviyesi 1.45 olarak belirlenmiştir, 7. gün pH seviyesi 3.8 olarak belirlenmiştir ve pantoprazolun pH seviyesini arttırdığı görülmüştür (Hartmann et al., 1996).

pH seviyesi kontrol grubu ve pantoprazol grubunda eşit çıkmıştır ancak M5 grubunda en yüksek seviyede çıkmıştır. Bu durum çalışmamızda kullanılan *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) probiyotik bakterisinin pH seviyesini arttırmada pantoprazoldan daha etkili olduğunu göstermiştir. Bu, ülserleşmeye karşı korunmada çok büyük katkı sağladığı düşündürmektedir.

5.3. Mide Dokusunda ve Serumda GK Seviyesine Ait Bulgular

Mide dokusunda GK seviyesi kontrol grubunda (serum fizyolojik 1 ml/gün) 20.79 ng/L, M5 (15×10^8 cfu/ml) grubunda 23.05 ng/L olarak bulundu. Kontrol grubu ile kıyaslandığında en yüksek seviye M5 grubunda gözlemlenirken en düşük seviye pantoprazol grubunda gözlemlenmiştir.

Serumda GK seviyesi stres grubunda (serum fizyolojik 1 ml/gün) 45.76 ng/L, M10 (30×10^8 cfu/ml) grubunda 43.34 ng/L olarak bulundu.

En yüksek GK seviyesi stres grubunda bulunurken kontrol grubuna oranla M5 ve M10 gruplarında da artış gözlemlenmiştir. GK hormonu strese karşı midede koruyucu aktivite özelliğine sahiptir ve *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) probiyotik bakterisinin M5 ve M10 gruplarında GK seviyesinde artışa neden olduğu görülmüştür. Hem mide dokusunda hem serumda *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) probiyotik bakterisi verilen gruplarda en etkili grup M5 grubu olmuştur.

Deneyde kullanılan *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) bakterisi ile veya herhangi bir probiyotik bakteri ile yapılan ve mide dokusunda ve serumda GK seviyesi araştırılan bir ülser çalışmasına literatürde rastlanmamıştır. Ayrıca pantoprazol kullanılarak GK seviyesi araştırılan bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır.

5.4. Mide Dokusunda KAT Seviyesine Ait Bulgular

KAT seviyesi kontrol grubunda (serum fizyolojik 1 ml/gün) 10.83 ng/ml, stres grubunda (serum fizyolojik 1 ml/gün) 11.96 ng/ml, pantoprazol grubunda (4mg/ml(=10mg/kg)) 9.39 ng/ml, M1 (3×10^8 cfu/ml) grubunda 10.84 ng/ml, M5 (15×10^8 cfu/ml) grubunda 13.52 ng/ml, M10 (30×10^8 cfu/ml) grubunda 12.48 ng/ml olarak bulundu. En düşük KAT seviyesi pantoprazol grubunda bulunurken kontrol grubu ile kıyaslandığında en yüksek seviye M5 grubunda bulunmuştur. KAT, ROT'nin süpürülmesinde görevli bir antioksidan enzimdir ve 15×10^8 cfu/ml dozunda *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) KAT seviyesinin artmasına neden olmuştur.

Deneyde kullanılan *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) bakterisi ile veya herhangi bir probiyotik bakteri ile yapılan ve mide dokusunda ve serumda KAT seviyesi araştırılan bir ülser çalışmasına literatürde rastlanmamıştır. Ayrıca pantoprazol kullanılarak KAT seviyesi araştırılan bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır.

5.5. Mide Dokusunda SOD Seviyesine Ait Bulgular

SOD seviyesi kontrol grubunda (serum fizyolojik 1 ml/gün) 0.78 ng/ml, stres grubunda (serum fizyolojik 1 ml/gün) 0.83 ng/ml, pantoprazol grubunda (4mg/ml(=10mg/kg)) 0.66 ng/ml, M1 (3×10^8 cfu/ml) grubunda 0.78 ng/ml, M5 (15×10^8 cfu/ml) grubunda 0.89 ng/ml, M10 (30×10^8 cfu/ml) grubunda 0.80 ng/ml olarak bulundu. En düşük SOD seviyesi pantoprazol grubunda bulunurken kontrol grubuna göre oranla en yüksek SOD seviyesi M5 grubunda bulunmuştur. SOD süperoksit radikallerini ortadan kaldıran bir enzimdir ve 15×10^8 cfu/ml dozunda *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) SOD seviyesinin artmasına neden olmuştur.

Deneyde kullanılan *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) bakterisi ile yapılan ve mide dokusunda SOD seviyesi araştırılan bir ülser çalışmasına literatürde rastlanmamıştır. Etanol ile indüklenen gastrik lezyonlarda *Lactobacillus fermentum* Suo (LF-Suo) bakterisi SOD

seviyesinin artmasına neden olmuştur ve probiyotik laktik asit bakterisi olarak çalışmamızda bulduğumuz sonuçla paralellik göstermektedir (Suo et al., 2016). Bakteri gruplarındaki SOD seviyesinin kontrole göre yüksek bulunmasının strese karşı SOR ile mücadeleye karşı savunma refleksi olarak yükseldiği düşünülmektedir.

Pantoprazol kullanılarak SOD seviyesi araştırılan bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır.

5.6. Mide Dokusunda GSH-Px Seviyesine Ait Bulgular

Mide dokusunda GSH-Px seviyesi kontrol grubunda (serum fizyolojik 1 ml/gün) 57.83 U/ml, stres grubunda (serum fizyolojik 1 ml/gün) 76.52 U/ml, pantoprazol grubunda (4mg/ml(=10mg/kg)) 50.04 U/ml, M1 (3×10^8 cfu/ml) grubunda 76.24 U/ml, M5 (15×10^8 cfu/ml) grubunda 76.54 U/ml, M10 (30×10^8 cfu/ml) grubunda 70.33 U/ml olarak bulundu.

En düşük GSH-Px seviyesi pantoprazol grubunda bulunmuştur. Kontrol grubuna oranla en yüksek GSH-Px seviyesi stres, M1 ve M5 gruplarında bulunmuştur. *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) bakterisi 3×10^8 cfu/ml ve 15×10^8 cfu/ml dozları GSH-Px seviyesinin artmasına neden olurken stres te GSH-Px seviyesinin artmasına neden olmuştur.

Deneyde kullanılan *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) bakterisi ile yapılan ve mide dokusunda GSH-Px seviyesi araştırılan bir ülser çalışmasına literatürde rastlanmamıştır. Etanol ile indüklenen gastrik lezyonlarda *Lactobacillus fermentum* Suo (LF-Suo) bakterisi GSH-Px seviyesinin artmasına neden olmuştur ve probiyotik laktik asit bakterisi olarak çalışmamızda bulduğumuz sonuçla paralellik göstermektedir (Suo et al., 2016).

Pantoprazol kullanılarak GSH-Px seviyesi araştırılan bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır.

5.7. Mide Dokusunda NO Seviyesine Ait Bulgular

Mide dokusunda NO seviyesi kontrol grubunda (serum fizyolojik 1 ml/gün) 35.26 μ mol/L, stres grubunda (serum fizyolojik 1 ml/gün) 32.07 μ mol/L, pantoprazol grubunda (4mg/ml(=10mg/kg)) 24.08 μ mol/L, M1 (3×10^8 cfu/ml) grubunda 31.63 μ mol/L, M5 (15×10^8 cfu/ml) grubunda 43.01 μ mol/L, M10 (30×10^8 cfu/ml) grubunda 35.08 μ mol/L olarak bulundu. En düşük NO seviyesi pantoprazol grubunda bulunurken en yüksek NO seviyesi M5 grubunda bulunmuştur. NO artışına neden olan optimum doz 15×10^8 cfu/ml'dir.

Deneyde kullanılan *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) bakterisi ile yapılan ve mide dokusunda NO seviyesi araştırılan bir ülser çalışmasına literatürde rastlanmamıştır. *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) ile yapılan bir çalışmada kullanılan bakteri insan T84 kolon epitelyal

hücrelerinde NO sentezinin artmasına neden olmuştur (Korhonen et al., 2001). Etanol ile indüklenen gastrik lezyonlarda *Lactobacillus fermentum* Suo (LF-Suo) bakterisi NO seviyesinin artmasına neden olmuştur ve bu sonuçlar çalışmamızda bulduğumuz sonuçla paralellik göstermektedir (Suo et al., 2016).

Pantoprazol kullanılarak NO seviyesi araştırılan bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır.

5.8. MDA Seviyesine Ait Bulgular

Mide dokusunda MDA seviyesi kontrol grubunda (serum fizyolojik 1 ml/gün) 0.07 µM, stres grubunda (serum fizyolojik 1 ml/gün) 0.10 µM, pantoprazol grubunda (4mg/ml(=10mg/kg)) 0.11 µM, M1 (3×10^8 cfu/ml) grubunda 0.08 µM, M5 (15×10^8 cfu/ml) grubunda 0.08 µM, M10 (30×10^8 cfu/ml) grubunda 0.08 µM olarak bulundu. En düşük MDA seviyesi kontrol grubunda bulunurken en yüksek MDA seviyesi stres ve pantoprazol gruplarında bulundu. Bakteri grupları arasında MDA seviyesinin artmasını önleyen en etkili grup M1 grubu ve doz olarak 3×10^8 cfu/ml'dir. MDA hücre hasarına neden olmaktadır ve 3×10^8 cfu/ml dozunda *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) bakterisi MDA seviyesinin çok fazla artmasını engellemiştir.

Deneyde kullanılan *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) bakterisi ile yapılan ve mide dokusunda MDA seviyesi araştırılan bir ülser çalışmasına literatürde rastlanmamıştır. Oksidatif stres araştırmasında *Lactobacillus rhamnosus* GG MDA seviyesinin düşmesine neden olduğu bulunmuştur (Farag et al., 2010). Etanol ile indüklenen gastrik lezyonlarda *Lactobacillus fermentum* Suo (LF-Suo) bakterisi MDA seviyesinin artmasına neden olmuştur ve bu sonuçlar çalışmamızda bulduğumuz sonuçla paralellik göstermektedir (Suo et al., 2016).

Pantoprazol kullanılarak MDA seviyesi araştırılan bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır.

5.9. DNA Fragmantasyon Seviyesine Ait Bulgular

Mide dokusunda DNA fragmantasyon düzeyi açısından değerlendirme yapıldığında en düşük DNA fragmantasyon seviyesi M1 bakteri grubunda görüldü ve en etkili doz 3×10^8 cfu/ml olarak bulundu. Bu sonuç bize *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) bakterisinin M1 grubunda apoptozu önleyici etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Deneyde kullanılan *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) bakterisi ile yapılan ve mide dokusunda DNA fragmantasyon seviyesi araştırılan bir ülser çalışmasına literatürde rastlanmamıştır. Bir çalışmada *Lactobacillus rhamnosus* GG aflotoksin B1'in toksik etkisine karşı DNA hasarını önlediği bulunmuştur. Bu sonuç çalışmamızla paralellik göstermektedir (Gratz et al., 2007).

Pantoprazol kullanılarak DNA fragmentasyon seviyesi araştırılan bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır.

5.10. Mide Dokusunda Mukus Seviyesine Ait Bulgular

Mide dokusunda mukus seviyesi stres grubunda (serum fizyolojik 1 ml/gün) 1.42 mg/gr olarak düşük seviyede bulunurken M5 (15×10^8 cfu/ml) grubunda 4.45 mg/gr olarak bulundu. En düşük mukus seviyesi stres grubunda bulunurken en yüksek mukus seviyesi M5 grubunda bulunmuştur. Mukus mide mukozasını asiditeden korur ve mukus miktarındaki artış ülserle karşı protektif bir etki gösterir ve 15×10^8 cfu/ml dozundaki bakteri mukus seviyesinin artışında en etkili dozdur.

Deneyde kullanılan *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) bakterisi ile yapılan ve mide dokusunda DNA fragmentasyon seviyesi araştırılan bir ülser çalışmasına literatürde rastlanmamıştır. *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53101) bakterisi ile yapılan ve mide dokusunda mukus seviyesi araştırılan bir çalışmada *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53101)'nin mukus seviyesinde bir artışa neden olduğu bulunmuştur (Lam et al., 2007).

Pantoprazol kullanılarak mukus seviyesi araştırılan bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır.

5.11. Mide Dokusunda Histolojik Sonuçlara Ait Bulgular ve Histolojik Skorum

Midenin epitel dokusunda yoğun hücresel hasar stres grubunda bulunurken kontrol grubuna kıyasla midenin epitel dokusunda en az hücresel hasar M5 grubunda görülmüştür ve midenin epitel dokusunun korunmasında en etkili doz 15×10^8 cfu/ml olmuştur.

Kontrol grubu ve M5 grubuna ait mide preparatlarında benzer oranda mast hücreleri izlenirken, stres grubu, pantoprazol grubu, M1 grubu ve özellikle M10 grubu mide örneklerinde kontrol grubu ve M5 grubuna oranla daha fazla sayıda mast hücresi izlenmiştir. Mast hücreleri histamin salınmasına ve dolayısıyla mide asiditesinin artmasına neden olmaktadır. Mast hücrelerinin stabilizasyonunda en etkili doz 15×10^8 cfu/ml olmuştur.

Lactobacillus rhamnosus GG (ATCC 53101) bakterisi ile yapılan ve midede epitel dokusu hasarı araştırılan bir çalışmada *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53101)'nin koruyucu etkisi bulunmuştur. Ayrıca mast hücre stabilizasyonunda da etkili olduğu bildirilmiştir. Bu sonuçlar çalışmamızla uyumluluk göstermektedir (Lam et al., 2007).

Pantoprazol kullanılarak midede epitel dokusu hasarının ve mide dokusunda mast hücre stabilizasyonunun araştırıldığı çalışmaya literatürde rastlanmamıştır.

5.12. HSP70 Protein Ekspresyonu Seviyesine Ait Bulgular

Mide dokusunda HSP70 protein ekspresyonu seviyesi bakteri grupları içerisinde pantoprazol grubundan sonra en yüksek oranda M5 grubunda bulundu. Bu sonuç bakteri dozunun HSP70 protein ekspresyonu seviyesinde önemli olduğunu göstermiştir.

Deneyde kullanılan *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) bakterisi ile veya herhangi bir probiyotik bakteri ile yapılan ve mide dokusunda HSP70 protein ekspresyonu seviyesi araştırılan bir ülser çalışmasına literatürde rastlanmamıştır. *Escherichia coli* Nissle (EcN) probiyotik bakterisi ile yapılan bir çalışmada HSP70 protein ekspresyonu seviyesinin arttığı bulunmuştur. Bu sonuç bulduğumuz sonuç ile uyumluluk göstermektedir (Konturek et al., 2009).

Ayrıca pantoprazol kullanılarak mide dokusunda HSP70 protein ekspresyonu seviyesi araştırılan bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır.

6.SONUÇ

Çalışmamızda deneysel stres modeliyle indüklenen gastrik lezyonlara karşı probiyotik *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) bakterisinin koruyucu etkileri araştırılmıştır ve sonuçlar aşağıda belirtilmiştir.

Stres ülserinin oluştuğu ve midenin makroskopik olarak değerlendirilmesi sonucunda stres grubunda gastrik lezyonların oluştuğu, tedavi grubu olan ilaç ve bakteri gruplarından *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103)'un ülseri engellediği söylenebilir.

Lactobacillus rhamnosus GG (ATCC 53103) probiyotik bakterisi tedavi gruplarında pH değerinin bazik yöne doğru değişmesine neden olarak ülserle karşı koruyucu bir etki göstermiştir.

GK stresin negatif etkilerine karşı vücudu koruyan bir hormondur ve mide dokusunda en yüksek GK seviyesi M5 grubunda görülmüştür. Serumda ise en yüksek GK seviyesi stres grubunda ve daha sonra M10 grubunda görülmüştür. Burada bakterilerin dozu farklı sonuçlar ortaya çıkarmıştır. Sonuç olarak vücudun bir refleks mekanizması olarak strese karşı GK seviyesi yükselirken tedavi gruplarında *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103)'un M5 grubunda GK seviyesinin artmasına neden olarak ülserle karşı koruyucu etki gösterdiği düşünülebilir.

Vücudumuzdaki önemli antioksidanlardan olan KAT'ın seviyesi en yüksek M5 grubunda bulunmuştur ve *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) bakterisinin ROT'nin olumsuz etkilerini ortadan kaldıran KAT enziminin yüksek seviyede çıkmasında rolü olduğu gösterilmiştir ve böylece oksidatif hasara karşı mide dokusu korunarak ülser oluşumunun engellendiği söylenebilir.

Vücudumuzdaki önemli antioksidanlardan bir diğeri olan ve KAT enzimi ile birlikte işlev gören SOD enzim seviyesi en yüksek M5 grubunda bulunmuştur ve *Lactobacillus rhamnosus GG* (ATCC 53103) bakterisinin ROT'nin olumsuz etkilerini KAT ile birlikte ortadan kaldıran SOD enziminin yüksek seviyede çıkmasında rolü olduğu gösterilmiştir.

En yüksek GSH-Px seviyesi stres, M1 ve M5 gruplarında bulunmuştur. Stres GSH-Px seviyesinde artışa neden olurken bakteri grupları arasında doza bağlı olarak GSH-Px seviyesinde bir artış görülmektedir ve GSH-Px seviyesinde artışa neden olan *Lactobacillus rhamnosus GG* (ATCC 53103)'un antioksidan etkinin artmasını sağlayarak midede ülserleşmeye engel olduğu söylenebilir.

ROT'nden birisi olan ve vücutta çok önemli işlevleri olan NO'nin en yüksek seviyede çıktığı grup M5 grubudur ve *Lactobacillus rhamnosus GG* (ATCC 53103) bakterisinin NO seviyesini arttırmada etkili olduğu görülmüştür. NO'nin fizyolojik etkileri düşünüldüğünde *Lactobacillus rhamnosus GG* (ATCC 53103)'un NO seviyesindeki artışa neden olması ile midenin ülserle karşı korunmasında rol oynadığı düşünülebilir.

MDA lipid peroksidasyonunun indikatörüdür ve hücre hasarında önemli rol oynar. Bakteri grupları arasında MDA seviyesinin en düşük olduğu grup M1 grubu olmuştur. *Lactobacillus rhamnosus GG* (ATCC 53103) bakterisinin MDA seviyesini düşürmede etkili olduğu ve böylece hücre hasarın başlıca kaynaklarından olan MDA'nın seviyesinin düşmesine etkisi nedeni ile *Lactobacillus rhamnosus GG* (ATCC 53103)'un ülserle karşı koruyucu etkisinin olduğu düşünülebilir.

DNA fragmantasyonu hücresel apoptozun bir göstergesidir ve en düşük DNA fragmantasyon seviyesi M1 bakteri grubunda görülmüştür. *Lactobacillus rhamnosus GG* (ATCC 53103) bakterisinin apoptozu önleyerek epitelyal hasarın önlenmesine katkı sağladığı ve bu sayede ülser oluşumunu engellediği söylenebilir.

En düşük mukus seviyesi stres grubunda bulunurken en yüksek mukus seviyesi M5 grubunda bulunmuştur. *Lactobacillus rhamnosus GG* (ATCC 53103) bakterisinin mukus seviyesini arttırmada etkili olduğu görülmüştür. Mukus midenin ülseratif ajanlara karşı korunmasında ilk sırada yer alan koruyucu faktördür ve *Lactobacillus rhamnosus GG* (ATCC 53103) probiyotik bakterisi mukus miktarını arttırarak ülserle karşı korunmada etkili olmuştur.

Midenin epitel dokusunda yoğun hücre hasar stres grubunda bulunurken kontrol grubuna kıyasla midenin epitel dokusunda en az hücre hasar M5 grubunda görülmüştür ve midenin epitel dokusunun korunmasında en etkili doz 15×10^8 cfu/ml olmuştur.

Kontrol grubu ve M5 grubuna ait mide preparatlarında benzer oranda mast hücreleri izlenirken, stres grubu, pantoprazol grubu, M1 grubu ve

özellikle M10 grubu mide örneklerinde kontrol grubu ve M5 grubuna oranla daha fazla sayıda mast hücresi izlenmiştir.

Hem hücresel hasarın önlenmesinde hem mast hücrelerinin stabilizasyonunda en etkili doz 15×10^8 cfu/ml olmuştur ve *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) bakterisi her iki durumda da olumlu etkiye neden olmuştur.

En düşük HSP70 protein ekspresyonu seviyesi M10 grubunda bulunurken en yüksek HSP70 protein ekspresyonu seviyesi pantoprazol grubunda bulundu. Bakteri grupları içerisinde pantoprazol grubundan sonra en yüksek HSP70 protein ekspresyonu seviyesi M5 grubunda bulundu. Bu sonuç bakteri dozunun HSP70 protein ekspresyonu seviyesinde önemli olduğunu göstermiştir.

Sonuç olarak pantoprazolun antioksidan artışında herhangi bir etkiye sahip olmadığı, genel anlamda incelenen parametreler üzerinde optimum bakteri dozunun M5 grubuna verilen 15×10^8 cfu/ml olduğu görülmüştür. Bu çalışmada stres kaynaklı ülseri önlemede *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) bakterisinin kullanılabilmesi gösterilmiştir ancak yeterli sayıda insan deneyi mevcut değildir. Bu yüzden *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) probiyotik bakterisinin etkilerini kesin olarak anlamak için insan üzerinde deneylerine ihtiyaç vardır.

7.KAYNAKLAR

Ağuş, H. H. (2014). Di-N-Bütül Fitalatın Sazan Balıklarında (Cyprinus Carpio) Hsp70, Gpx, Sod, Cyp1A Ve Vitellogenin Üzerine Toksik Etkilerinin Moleküler Düzeyde Araştırılması.

Ak, E., Cikler Dülger, E., Şehirli, A. Ö., Tetik, Ş., Pişiriciler, R., Şener, G., & Çetinel, Ş. (2015). Sudan kaçınma stresi uygulanmış erkek sıçan mesanesinde oksitosin etkisi: Işık ve elektron mikroskopik inceleme.

Aksoy, A. N., Gözükara, İ., Kucur, S. K., Batmaz, G., Laloğlu, E., & Bulut, E. (2015). Spontan vajinal doğum yapan hastalarda maternal serum beyin kaynaklı nörotrofik faktör ve malondialdehit düzeylerindeki değişimlerin araştırılması. *Zeynep Kamil Tıp Bülteni*, 46(1), 6-12.

Al Asmari, A., Al Shahrani, H., Al Masri, N., Al Faraidi, A., Elfaki, I., & Arshaduddin, M. (2016). Vanillin abrogates ethanol induced gastric injury in rats via modulation of gastric secretion, oxidative stress and inflammation. *Toxicology Reports*, 3, 105-113.

Almasaudi, S. B., El-Shitany, N. A., Abbas, A. T., Abdel-dayem, U. A., Ali, S. S., Al Jaouni, S. K., & Harakeh, S. (2015). Antioxidant, Anti-inflammatory, and Antiulcer Potential of Manuka Honey against Gastric Ulcer in Rats. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016.

Altınışik, M. (2000). Serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar. *ADÜ Tıp Fakültesi, Biyokimya AD., Aydın*.

Arasu, M. V., Al-Dhabi, N. A., Ilavenil, S., Choi, K. C., & Srigopalram, S. (2016). In vitro importance of probiotic Lactobacillus plantarum related to medical field. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23(1), S6-S10.

Arıtaş, Y., & Bedirli, A. (1998). Nitrik Oksit'in Gastrointestinal Sistemdeki Rolü. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 18(3), 145-149.

Atalay, F., Odabasoglu, F., Halici, M., Cakir, A., Cadirci, E., Aslan, A., Kazaz, C. (2015). Gastroprotective and Antioxidant Effects of Lobaria pulmonaria and Its Metabolite Rhizonyl Alcohol on Indomethacin-Induced Gastric Ulcer. *Chemistry & biodiversity*, 12(11), 1756-1767.

Awaad, A. S., El-Meligy, R. M., & Soliman, G. A. (2013). Natural products in treatment of ulcerative colitis and peptic ulcer. *Journal of Saudi chemical society*, 17(1), 101-124.

Aykal, B. K. (2015). *İntratimpanik ilaç kullanımı deneysel hayvan modeli*. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi.

Bahadır, E., Bulut, M., Kabayuka, B., Şenkal, E. S., Yalvaç, A., Yüksel, M., Alican, İ. (2016). The effect of simvastatin pretreatment on stress-induced gastric ulcer in rats. *Marmara Medical Journal*, 29(1), 1-7.

Benzer, F., & Ozan, S. T. (2003). Fasciola hepaticae Enfekte Koyunlarda Lipid Peroksidasyonu, Antioksidant Enzimler ve Nitrik Oksit Düzeyleri. *Turk J Vet Anim Sci*, 27, 657-661.

Boeing, T., da Silva, L. M., Somensi, L. B., Cury, B. J., Costa, A. P. M., Petreanu, M., de Andrade, S. F. (2016). Antiulcer mechanisms of Vernonia condensata Baker: A medicinal plant used in the treatment of gastritis and gastric ulcer. *Journal of ethnopharmacology*, 184, 196-207.

Bozkurt, H., & Aslim, B. (2004). İmmobilizasyonun Probiyotik Kültürlerde Kullanımı. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 2(7), 1-14.

Briskey, D., Tucker, P., Johnson, D. W., & Coombes, J. S. (2016). The role of the gastrointestinal tract and microbiota on uremic toxins and chronic kidney disease development. *Clinical and experimental nephrology*, 1-9.

Brodie, D. A., & Hanson, H. M. (1960). A study of the factors involved in the production of gastric ulcers by the restraint technique. *Gastroenterology*, 38(3), 353-360.

Broxton, C. N., & Culotta, V. C. (2016). SOD Enzymes and Microbial Pathogens: Surviving the Oxidative Storm of Infection. *PLoS Pathog*, 12(1), e1005295.

Buendgens, L., Koch, A., & Tacke, F. (2016). Prevention of stress-related ulcer bleeding at the intensive care unit: Risks and benefits of stress ulcer prophylaxis. *World journal of critical care medicine*, 5(1), 57.

Büyükcoşkun, N. İ. (2002). Stres ülseri ve Nöropeptidler. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 28(3), 109-113.

Cao, H., Wang, M., Jia, J., Wang, Q., & Cheng, M. (2004). Comparison of the effects of pantoprazole enantiomers on gastric mucosal lesions and gastric epithelial cells in rats. *Journal of health science*, 50(1), 1-8.

Chen, R.-C., Xu, L.-M., Du, S.-J., Huang, S.-S., Wu, H., Dong, J.-J., Chen, Y.-P. (2016). Lactobacillus rhamnosus GG supernatant promotes intestinal barrier function, balances T reg and T H 17 cells and ameliorates hepatic injury in a mouse model of chronic-binge alcohol feeding. *Toxicology letters*, 241, 103-110.

Cho, C., Koo, M., Garg, G., & Ogle, C. (1992). Stress-induced gastric ulceration: its aetiology and clinical implications. *Scandinavian journal of gastroenterology*, 27(4), 257-262.

Cuming, R., Groover, E., Wooldridge, A., & Caldwell, F. (2016). Review of glucocorticoid therapy in horses. Part 1: Pharmacology. *Equine Veterinary Education*.

Çavuşoğlu, C. (2009). Gestasyonel diabetes mellitus olgularında oksidatif stres durumu. *TNF- α ve IL-6 düzeyleri, Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya ve Klinik Biyokimya Bölümü, İstanbul.*

Çelik, A., & Eraslan, F. (2015). Nitrik Oksit Uygulamasının Tuz Stresi Altında Yetiştirilen Mısır Bitkisinin Mineral Beslenmesi ve Bazı Fizyolojik Özellikleri Üzerine Etkisi. *SDU Journal of the Faculty of Agriculture/SDÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 10(1).

Dalbaşı, E. (2015). Generalize peritonitli hastalarda kanda MDA, SOD, katalaz düzeylerinin peritonit şiddeti ile korelasyonu (Prospektif çalışma).

De Bosscher, K., Beck, I. M., Ratman, D., Berghe, W. V., & Libert, C. (2016). Activation of the Glucocorticoid Receptor in Acute Inflammation: the Sedigram Concept. *Trends in pharmacological sciences*, 37(1), 4-16.

Demirbilek, S., Gürses, I. c., Sezgin, N., Karaman, A., & Gürbüz, N. (2004). Protective effect of polyunsaturated phosphatidylcholine pretreatment on stress ulcer formation in rats. *Journal of pediatric surgery*, 39(1), 57-62.

Doğan, M. (2012). Probiyotik Bakterilerin Gastrointestinal Sistemdeki Etki Mekanizması. *Electronic Journal of Food Technologies*, 7(1), 20-27.

Dubey, V., Ghosh, A. R., Bishayee, K., & Khuda-Bukhsh, A. R. (2016). Appraisal of the anti-cancer potential of probiotic *Pediococcus pentosaceus* GS4 against colon cancer: in vitro and in vivo approaches. *Journal of Functional Foods*, 23, 66-79.

El-Ashmawy, N. E., Khedr, E. G., El-Bahrawy, H. A., & Selim, H. M. (2016). Gastroprotective Effect of Garlic in Indomethacin Induced Gastric Ulcer in Rats. *Nutrition*.

Entok, E., Ustuner, M. C., Ozbayer, C., Tekin, N., Akyuz, F., Yangi, B., Gunes, H. V. (2014). Anti-inflammatuar and anti-oxidative effects of *Nigella sativa* L.: 18FDG-PET imaging of inflammation. *Molecular biology reports*, 41(5), 2827-2834.

Erdem, E. (2015). Preeklampitik ve normotansif maternal trombositlerin ultrastruktürel düzeyde karşılaştırılması.

Erdoğan, T., Ünsar, A. S., & Necdet, S. (2009). Stresin çalışanlar üzerindeki etkileri: bir araştırma. *Süleyman Demirel Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi Dergisi*, 14(2).

Ergönül, S., & Aşkar, T. K. (2009). Anaplasmosisli sığırlarda ısı şok protein (HSP), malondialdehit (MDA), nitrik oksit (NO) ve interlökin (IL-6, IL-10) düzeylerinin araştırılması. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 15(4), 575-579.

Erkin, B., Dokmeci, D., Altaner, S., & Turan, F. (2005). Gastroprotective effect of L-carnitine on indomethacin-induced gastric mucosal injury in rats: a preliminary study. *Folia medica*, 48(3-4), 86-89.

Eşel, E., & Sofuoğlu, S. (2001). Depresyonun nöroendokrinolojisi. *Duygudurum Bozuklukları*, 1(3), 132-144.

Fadıllıoğlu, E., Yağmurca, M., Kuruş, M., Vardı, N., & Emre, M. H. (2001). Kronik Nitrik Oksit Sentaz İnhibisyonunun Siçan Midesinde Meydana Getirdiği Histolojik Değişiklikler. *Ege Tıp Dergisi*, 40(3).

Farag, I., Abdel-Aziz, K., Nada, S., Tawfek, N., Farouk, T., & Darwish, H. (2010). Modulation of ochratoxin-induced oxidative stress, genotoxicity and spermatotoxic alterations by *Lactobacillus rhamnosus* GG in male Albino mice. *Journal of American Science*, 6(12), 575-587.

Filaretova, L. (2006). The hypothalamic-pituitary-adrenocortical system: Hormonal brain-gut interaction and gastroprotection. *Autonomic Neuroscience*, 125(1), 86-93.

Filaretova, L., Bagaeva, T., Amagase, K., & Takeuchi, K. (2008). Contribution of Glucocorticoids to Protective Influence of Preconditioning Mild Stress against Stress-induced Gastric Erosions. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1148(1), 209-212.

Filaretova, L., Bagaeva, T., & Morozova, O. (2012). Stress and the stomach: corticotropin-releasing factor may protect the gastric mucosa in stress through involvement of glucocorticoids. *Cellular and molecular neurobiology*, 32(5), 829-836.

Filaretova, L., Filaretov, A., & Makara, G. (1998). Corticosterone increase inhibits stress-induced gastric erosions in rats. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 274(6), G1024-G1030.

Fornai, M., Antonioli, L., Colucci, R., Tuccori, M., & Blandizzi, C. (2014). Pathophysiology of Gastric Ulcer Development and Healing: Molecular Mechanisms and Novel Therapeutic Options.

Fraunberger, E. A., Scola, G., Laliberté, V. L., Duong, A., & Andrezza, A. C. (2015). Redox Modulations, Antioxidants, and Neuropsychiatric Disorders. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016.

Gallego, C. G., & Salminen, S. (2016). Novel Probiotics and Prebiotics: How Can They Help in Human Gut Microbiota Dysbiosis? *Applied Food Biotechnology*, 3(2), 72-81.

Gratz, S., Wu, Q., El-Nezami, H., Juvonen, R., Mykkänen, H., & Turner, P. (2007). Lactobacillus rhamnosus strain GG reduces aflatoxin B1 transport, metabolism, and toxicity in Caco-2 cells. *Applied and environmental microbiology*, 73(12), 3958-3964.

Gül, A., İnan, M. N., Kaya, D., Küçük, K., Tekin, C. G., & Yurtcu, E. Isı Şoku Proteinleri Ve Kanser.

Gülsünoğlu, Z. (2013). *Koaservasyon Yönteminin Model Mikroorganizmalarda Canlılık Korunumuna Etkisi*. Fen Bilimleri Enstitüsü.

Gür, B., Halifeoğlu, İ., Telo, S., & Tolun, F. İ. Hipertiroid Hastalarda Tedavi Öncesi Ve Sonrası Malondialdehit Ve Antioksidan Enzim Düzeyleri.

Hartmann, M., Theiss, U., Huber, R., Luhmann, R., Bliesath, H., Wurst, W., & Lucker, P. (1996). Twenty-four-hour intragastric pH profiles and pharmacokinetics following single and repeated oral administration of the proton pump inhibitor pantoprazole in comparison to omeprazole. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 10(3), 359-366.

<http://patient.info/health/duodenal-ulcer>.

<http://www.ulser.gen.tr/duodenal-ulser.html>.

<https://www.eajm.org/eng/benzermakaleler/2382>. (2006).

Hung, C. (2007). Protective effect of verapamil on gastric hemorrhagic ulcers in severe atherosclerotic rats. *The Chinese journal of physiology*, 50(6), 315-325.

Jalilzadeh-Amin, G., Najarnezhad, V., Anassori, E., Mostafavi, M., & Keshipour, H. (2015). Antiulcer properties of Glycyrrhiza glabra L. extract on experimental models of gastric ulcer in mice. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 14(4), 1163.

Joanny, E., Ding, Q., Gong, L., Kong, P., Saklatvala, J., & Clark, A. R. (2012). Anti-inflammatory effects of selective glucocorticoid receptor modulators are partially dependent on up-regulation of dual specificity phosphatase 1. *British journal of pharmacology*, 165(4b), 1124-1136.

Jones, M. L., Ganopolsky, J. G., Labbé, A., & Prakash, S. (2010). A novel nitric oxide producing probiotic patch and its antimicrobial efficacy: preparation and in vitro analysis. *Applied microbiology and biotechnology*, 87(2), 509-516.

Kabakcı, B., Kurutaş, E. B., Bakariş, S., & Güngör, M. (2015). Metotreksat ile İndüklenmiş Sıçanlarda Böbrek Hasarı Üzerine Eritropoetin Etkisi: Biyokimyasal ve Histopatolojik Çalışma. *Cukurova Medical Journal (Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi)*, 40(1), 98-106.

Kalafatakis, K., Russell, G. M., Harmer, C. J., Munafo, M. R., Marchant, N., Wilson, A., . . . Stevenson, K. (2016). Effects of the pattern of glucocorticoid replacement on neural processing, emotional reactivity and well-being in healthy male individuals: study protocol for a randomised controlled trial. *Trials*, 17(1), 1-17.

Karasu, Z. (2001). Stres Ülseri Ve Proflaksisi. *Ege Tıp Dergisi*, 40(2).

Kasnak, C., & Palamutoğlu, R. (2015). Doğal Antioksidanların Sınıflandırılması ve İnsan Sağlığına Etkileri. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 3(5).

Kavas, G. Ö. (1994). Reaktif Oksijen Metabolitlerine Fiziopatolojik Yaklaşım. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 47(04).

Kayabaşı, H. (2015). Kalsiyum dobesilat'ın sıçanlarda böbrek iskemi-reperfüzyon hasarı ve antioksidan sistem üzerine etkilerinin incelenmesi.

Keser, H. (2016). Manyetik alan ve pterostilbenin renal iskemi ve reperfüzyona etkisi.

Khushtar, M., Siddiqui, H. H., Dixit, R. K., Khan, M. S., Iqbal, D., & Rahman, M. A. (2016). Amelioration of gastric ulcers using a hydro-alcoholic extract of Triphala in indomethacin-induced Wistar rats. *European Journal of Integrative Medicine*.

Kiliç, 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.

Kim, B., Park, K.-Y., Ji, Y., Park, S., Holzapfel, W., & Hyun, C.-K. (2016). Protective effects of *Lactobacillus rhamnosus* GG against dyslipidemia in high-fat diet-induced obese mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 473(2), 530-536.

Kim, H.-J., Kang, C.-H., Jayasooriya, R. G. P. T., Dilshara, M. G., Lee, S., Choi, Y. H., Kim, G.-Y. (2016). Hydrangenol inhibits lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in BV2 microglial cells by suppressing the NF- κ B pathway and activating the Nrf2-mediated HO-1 pathway. *International Immunopharmacology*, 35, 61-69.

Kıran, F., & Osmanağaoğlu, Ö. (2016). Ağız ve Diş Sağlığında Probiyotiklerin Etkisi. *Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6(1), 56-62.

Kolgazi, M., Özgür, F., Beyazoğlu, Ö., Kocagöz, A., Çelik, M., Elmas, M. A., Alican, İ. (2015). Sıçanda Endotoksemiye Bağlı Çoklu Organ Hasarında Kolinerjik Anti-İnflamatuvar Yolun Rolü. *Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 5(1), 21-30.

Konturek, P., Brzozowski, T., & Konturek, S. (2011). Stress and the gut: pathophysiology, clinical consequences, diagnostic approach and treatment options. *J Physiol Pharmacol*, 62(6), 591-599.

Konturek, P., Sliwowski, Z., Koziel, J., Ptak-Belowska, A., Burnat, G., Brzozowski, T., & Konturek, S. (2009). Probiotic bacteria *Escherichia coli* strain Nissle 1917 attenuates acute gastric lesions induced by stress. *J Physiol Pharmacol*, 60(Suppl 6), 41-48.

Korhonen, R., Korpela, R., Saxelin, M., Mäki, M., Kankaanranta, H., & Moilanen, E. (2001). Induction of nitric oxide synthesis by probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG in J774 macrophages and human T84 intestinal epithelial cells. *Inflammation*, 25(4), 223-232.

Kumar, S., Stokes, J., Singh, U. P., Gunn, K. S., Acharya, A., Manne, U., & Mishra, M. (2016). Targeting Hsp70: A possible therapy for cancer. *Cancer letters*, 374(1), 156-166.

kutup.dicle.edu.tr/ekitap/0054974.pdf. (2012).

L'ubomíra Tóthová, N. K., Červenka, T., & Celec, P. (2015). Salivary markers of oxidative stress in oral diseases. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 5.

Lam, E. K., Yu, L., Wong, H. P., Wu, W. K., Shin, V. Y., Tai, E. K., Cho, C. (2007). Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG enhances gastric ulcer healing in rats. *European journal of pharmacology*, 565(1), 171-179.

Levine, S. (1926). Etiology And Pathology Of Peptic Ulcer. *The American Journal of the Medical Sciences*, 172(1), 22-44.

Li, M., Wang, J., Song, S., & Li, C. (2016). Molecular characterization of a novel nitric oxide synthase gene from *Portunus trituberculatus* and the roles of NO/O²-generating and antioxidant systems in host immune responses to Hematodinium. *Fish & Shellfish Immunology*, 52, 263-277.

library.cu.edu.tr/tezler/6760.pdf. (2008).

Mao, S., Yang, G., Li, W., Zhang, J., Liang, H., Li, J., & Zhang, M. (2016). Gastroprotective Effects of Astragaloside IV against Acute Gastric Lesion in Rats. *PLoS one*, 11(2), e0148146.

Meerveld, G. V., Moloney, R. D., Johnson, A. C., & Vicario, M. (2016). Mechanisms of stress-induced visceral pain: implications in irritable bowel syndrome. *Journal of neuroendocrinology*.

Mut-Salud, N., Álvarez, P. J., Garrido, J. M., Carrasco, E., Aránega, A., & Rodríguez-Serrano, F. (2015). Antioxidant Intake and Antitumor Therapy: Toward Nutritional Recommendations for Optimal Results. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016.

Nasrabadi, H., Ebrahimi, T., Banadaki, D., & Kajousangi, T. (2011). Study of cutaneous wound healing in rats treated with *Lactobacillus plantarum* on days 1, 3, 7, 14 and 21. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5(21), 2395-2401.

Nugroho, A. E., Wijayanti, A., Mutmainah, M., Susilowati, R., & Rahmawati, N. (2016). Gastroprotective Effect of Combination of Hot Water Extracts of Licorice (*Glycyrrhiza glabra*), Pulasari Stem Bark (*Alyxia reinwardtii*), and Sembung Leaf (*Blumea balsamifera*) Against Aspirin-Induced Gastric Ulcer Model Rats. *Journal of evidence-based complementary & alternative medicine*, 2156587216637469.

Okumuş, S. (2015). Serum oksidatif stres parametrelerinin epilepsi hastalığı ile ilişkisi.

Olt, S., Uslan, İ., Eminler, A. T., Tamer, A., Akçay, E. Ü., Baştemir, A., Ergenç, H. (2015). Üst Gastrointestinal Sistem Kanaması Nedeniyle Takip Edilen Hastaların Geriye Dönük İncelenmesi. *Sakarya Tıp Dergisi*, 5(3).
Orhan, N. (2015). Prostat Kanseri Hastalarda Oksidatif Stres ve Paraksonaz Aktivite Azalması. *Konuralp Tıp Dergisi*, 2015(2), 113-117.

Ozcan, O., Erdal, H., & Yonden, Z. (2015). İskemi-Reperfüzyon Hasarı ve Oksidatif Stres İlişkisine Biyokimyasal Bakış. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Dergisi*, 6(23).

Oztürk, M., Güzelhan, Y., Sayar, K., & Tüzün, U. (2001). Yaygın gelişimsel bozukluğu olan çocuklarda plazma malondialdehit ve glutasyon düzeylerinin araştırılması. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, 11(3), 155-159.

Öncel, M. (2012). Isı Şok Proteinleri ve Kansere. *Eur J Basic Med Sci*, 2(1), 16-23.

Özbayer, C., Değirmenci, İ., Hülyam, K., Özden, H., Kısmet, Ç., Başaran, A., & Güneş, H. V. (2011). Antioxidant and free radical-scavenging properties of Stevia rebaudiana (Bertoni) extracts and L-NNA in streptozotocine-nicotinamide induced diabetic rat liver. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 31(1), 51-60.

Özbek, B. (2010). Probiyotikler: Biyolojik Terapi.

Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G., & Yönden, Z. (2015). Oksidatif stres ve hücre içi lipit, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6(3).

Özdemir, D. (2008). Yüksek sıcaklıklarda Denizli ırkı tavuklarında Hsp70 sentezi ve bazı verim özellikleri üzerine bir araştırma.

Özener, H. Ö., & Kuru, B. E. (2015). Probiyotiklerin Periodontal Tedavideki Yeri. *Journal of Marmara University Institute of Health Sciences*, 5(1).

Özer, Ç., Akbulut, K. G., Gönül, B., Yetkin, G., & Çelebi, N. (2004). İskemili ve İskemisiz Peptik Ülser Modellerinde Dönüştürücü Büyüme Faktörü-Alfa Mikroemülsiyon Formunun Yara İyileşmesine Etkisi ve Malondialdehit, Glutasyon, Nitrik Oksit Düzeyleri İle İlişkisinin Araştırılması. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 24(5), 461-468.

Özer, Ç., Gönül, B., Çelebi, N., Yetkin, G., Elmas, Ç., & Erdoğan, D. (2012). Effect of Oral TGF- α Formulations on ASA Induced Duodenal Ulcer and The Role of Lipid Peroxidation in The Healing Process. *Turkish Journal of Biochemistry/Turk Biyokimya Dergisi*, 37(3).

Özkan, A. İ. (2015). Yeni sentezlenmiş bazı geçiş metal komplekslerinin antimikrobiyal, antioksidan ve mutajenik aktivitelerinin araştırılması. Öztöp, A., Demir, A., Saydam, N., Öztöp, İ., & Çelikten, E. (2002). Astım Bronşiyale Olgularında Serum Glutasyon Peroksidaz, Süperoksid Dismutaz ve Malonil Dialdehid Düzeyleri ve Astım Şiddeti ile İlişkisi. *Solunum Hastalıkları*, 13(4), 239-245.

Pirinççioğlu, M. (2015). Karbon tetraklorür (CCl₄) ile oluşturulan deneysel karaciğer hasarında nar (*Punica granatum*) ve üzüm (*Vitis vinifera*) meyvelerinin koruyucu etkilerinin araştırılması.

Rautava, S., Kainonen, E., Salminen, S., & Isolauri, E. (2012). Maternal probiotic supplementation during pregnancy and breast-feeding reduces the risk of eczema in the infant. *Journal of allergy and clinical immunology*, 130(6), 1355-1360.

Ribatti, D., & Crivellato, E. (2015). The role of mast cell in tissue morphogenesis. Thymus, duodenum, and mammary gland as examples. *Experimental cell research*.

Sağdıç, O., Küçüköner, E., & Özçelik, S. (2004). Probiyotik ve prebiyotiklerin fonksiyonel özellikleri.

Sağlık, Y., Yazıcıoğlu, D., Çiçekler, O., & Gümüş, H. (2015). Genel Anestezi ile Birlikte Uygulanan Epidural Anestezi Yönteminin Kalça ve Diz Artroplastilerinde Oluşan Stres Yanıt Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması. *Turkish Journal of Anesthesia & Reanimation*, 43(3).

Sahu, S., Madhyastha, S., & Rao, G. (2011). Effect of prenatal stress on expression of glutathione system in neonatal rat brain. *Turkish neurosurgery*, 22(5), 576-582.

Sánchez-Fidalgo, S., Martín-Lacave, I., Illanes, M., & Motilva, V. (2004). Angiogenesis, cell proliferation and apoptosis in gastric ulcer healing. Effect of a selective cox-2 inhibitor. *European journal of pharmacology*, 505(1), 187-194.

Savran, D. B., & Koltuksuz, D. U. Sıçanlarda Gelişen Stres Ülserini Önlemede Caffeic Acid Phenethyl Ester'in Etkileri.

Scaglione, C. N., Xu, Q., & Ramanujan, V. K. (2016). Direct Measurement of Catalase Activity in Living Cells and Tissue Biopsies. *Biochemical and Biophysical Research Communications*.

Senol, A., İşler, M., Karahan, A. G., Kilic, G. B., Kuleaşan, H., Gören, I., Aktürk, O. (2011). Effect of probiotics on aspirin-induced gastric mucosal lesions. *The Turkish journal of gastroenterology: the official journal of Turkish Society of Gastroenterology*, 22(1), 18-26.

Sezen, A. G. (2013). Prebiyotik, Probiyotik ve Sinbiyotiklerin İnsan ve Hayvan Sağlığı Üzerine Etkileri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 8(3).

Shichijo, K., Ihara, M., Matsuu, M., Ito, M., Okumura, Y., & Sekine, I. (2003). Overexpression of heat shock protein 70 in stomach of stress-induced gastric ulcer-resistant rats. *Digestive Diseases and Sciences*, 48(2), 340-348.

Shorrock, C. J., & Rees, W. D. (1988). Overview of gastroduodenal mucosal protection. *The American journal of medicine*, 84(2), 25-34.

Singh, P. K., Deol, P. K., & Kaur, I. P. (2012). Entrapment of Lactobacillus acidophilus into alginate beads for the effective treatment of cold restraint stress induced gastric ulcer. *Food & function*, 3(1), 83-90.

Singh, P. K., & Kaur, I. P. (2012). Synbiotic (probiotic and ginger extract) loaded floating beads: a novel therapeutic option in an experimental paradigm of gastric ulcer. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 64(2), 207-217.

Sng, J.-W., Seo, C.-S., Kim, T.-I., Moon, O.-S., Won, Y.-S., Son, H.-Y., Kwon, H.-J. (2016). Protective effects of manassantin A against ethanol-induced gastric injury in rats. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*(0).

Song, S. H., Kim, J. E., Go, J., Koh, E. K., Sung, J. E., Lee, H. A., Kim, K. S. (2016). Comparison of the response using ICR mice derived from three different sources to ethanol/hydrochloric acid-induced gastric injury. *Laboratory Animal Research*, 32(1), 56-64.

Su, J., Guo, C.-J., Wei, J., Yang, J., Jiang, Y., & Li, A. (2003). Protection against hepatic ischemia-reperfusion injury in rats by oral pretreatment with quercetin. *Biomedical and Environmental Sciences*, 16(1), 1-8.

Suljevic, Ş. (2015). İskelet Kasında Tüm Vücut Titreşimi ve Immobilizasyonun Protein Sentez ve Yıkımında Rol Oynayan Sinyal Yolakları Üzerine Etkisi.

Suo, H., Zhao, X., Qian, Y., Sun, P., Zhu, K., Li, J., & Sun, B. (2016). Lactobacillus fermentum Suo Attenuates HCl/Ethanol Induced Gastric Injury in Mice through Its Antioxidant Effects. *Nutrients*, 8(3), 155.

Szabo, S., & Cho, C. (1988). Animal models for studying the role of eicosanoids in peptic ulcer disease *Eicosanoids and the gastrointestinal tract* (pp. 75-102): Springer.

Takayama, C., de-Faria, F. M., de Almeida, A. C. A., Dunder, R. J., Manzo, L. P., Socca, E. A. R., Luiz-Ferreira, A. (2016). Chemical composition of Rosmarinus officinalis essential oil and antioxidant action against gastric damage induced by absolute ethanol in the rat. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*.

Tanoğlu, A., Kara, M., Yazgan, Y., Eroğlu, M., & Yıldırım, A. O. (2015). Artmış ortalama trombosit hacmi üst gastrointestinal sistem kanamalarında yatış süresi ve transfüzyon ihtiyacı ile ilişkilidir. *Gulhane Medical Journal*, 57(1).

Tarnawski, A. S. (2005). Cellular and molecular mechanisms of gastrointestinal ulcer healing. *Digestive Diseases and Sciences*, 50(1), S24-S33.

Taş, İ., Ülger, B. V., Önder, A., Kapan, M., & Bozdağ, Z. (2015). Risk factors influencing morbidity and mortality in perforated peptic ulcer disease. *Turkish Journal of Surgery/Ulusal cerrahi dergisi*, 31(1), 20.

Tekkes, Y. (2006). Streptozotosin ile diabet oluşturulmuş farelerde aspirin ve E vitaminin dokularda lipid peroksidasyonu ve antioksidan sisteme etkisinin araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş*.

Topaloğlu, N., & Gündüz, Z. Steroid Tedavisinin Karnitin Düzeyi Üzerine Etkileri.

Toprak, E. K. (2015). *Spontan hipertansif sıçanlarda egzersiz ve onu izleyen egzersizi bırakma (detraining) sürecinin nitrik oksit ve karbon monoksit düzeyleri ve sentezlerinde rol oynayan genlerin ekspresyonları üzerine etkisinin belirlenmesi*. Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Tripathi, P., Beaussart, A., Andre, G., Rolain, T., Lebeer, S., Vanderleyden, J., Dufrière, Y. F. (2012). Towards a nanoscale view of lactic acid bacteria. *Micron*, 43(12), 1323-1330.

Tuğrul, C. D. (2000). Stres ve depresyon. *Psikiyatri Dünyası*, 4, 12-17.

Ulusoy, H. (2015). Pansiyonlu orta öğretim kurumlarında görev yapan öğretmenlerin örgütsel stres kaynakları (Denizli ili örneği).

Uslu, E. (2002). Curcumin 'In Stres Ülserlere Etkisi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 33(2).

Usta, M., & Urgancı, N. (2014). Çocukluk Çağında Probiyotik Kullanımı. *Journal of Current Pediatrics/Guncel Pediatri*, 12(2).

Velmani, G. (2010). Probiotics as potential therapies in human gastrointestinal health.

Wang, F.-Y., Liu, J.-M., Luo, H.-H., Liu, A.-H., & Jiang, Y. (2015). Potential protective effects of *Clostridium butyricum* on experimental gastric ulcers in mice. *World journal of gastroenterology: WJG*, 21(27), 8340.

Wenhao, T., De-Feng, L., Kai, H., Lian-Ming, Z., Jia-Ming, M., Xin-Jie, Z., Hui, J. (2015). miRNA-mediated regulation of heat shock proteins in human ejaculated spermatozoa. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 45(6), 1285-1291.

www.tfd.org.tr/eski/Aydin2009_kitapcik.pdf. (2009).

Xia, L., Chen, S., Dahms, H.-U., Ying, X., & Peng, X. (2016). Cadmium induced oxidative damage and apoptosis in the hepatopancreas of *Meretrix meretrix*. *Ecotoxicology*, 1-11.

Yangılar, F. (2015). Use of Probiotic Microorganisms for Bio-Protective Aims. *Uludağ University Journal of The Faculty of Engineering*, 20(1), 119-130.

Ye, B., Zhou, P.-Y., Jia, M., Cheng, X.-S., Jia, Y.-T., & Xu, S.-G. (2013). Absence of NF- κ B subunit p50 ameliorates cold immobilization stress-induced gastric ulcers. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 434(3), 547-551.

Yılmaz, Ö. A. (2015). Yaşlılarda sağlıklı beslenme-probiyotikler. *Ege Tıp Dergisi*, 54(10).

Yu, J., Jang, S.-O., Kim, B.-J., Song, Y.-H., Kwon, J.-W., Kang, M.-J., Hong, S.-J. (2010). The effects of *Lactobacillus rhamnosus* on the prevention of asthma in a murine model. *Allergy, asthma & immunology research*, 2(3), 199-205.

Zeren, S., Bayhan, Z., Kocak, F. E., Kocak, C., Akcılar, R., Bayat, Z., Duzgun, S. A. (2016). Gastroprotective effects of sulforaphane and thymoquinone against acetylsalicylic acid-induced gastric ulcer in rats. *Journal of Surgical Research*.

Zheng, H., Chen, Y., Zhang, J., Wang, L., Jin, Z., Huang, H., Gao, W. (2016). Evaluation of protective effects of costunolide and dehydrocostuslactone on ethanol-induced gastric ulcer in mice based on multi-pathway regulation. *Chemico-biological interactions*, 250, 68-77.

Zuluaga, A. M., Silveira, A., Geraldo, E., Martínez, A., & José, R. (2016). Nitric oxide and malondialdehyde in gastric contents and blood in an equine model of gastric ulcer induced by phenylbutazone. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 29(1).

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : Musab IŞIK

Doğum tarihi ve yeri : 22.02.1988 Adapazarı/SAKARYA

Uyruğu : Türk

Askerlik : Yapıldı (2011)

İletişim adresleri : 05394350683 - musab_adp@hotmail.com

Eğitim Durumu

İlköğretim: Eser İlköğretim Okulu (1995-1999/Adapazarı)
Özel Çamlıca Öncü Koleji (1999-2000/İstanbul)
75. Yıl İlköğretim Okulu (2000-2002/Adapazarı)

Ortaöğretim : Adapazarı Atatürk Lisesi (2002-2005/Adapazarı)

Yükseköğretim : Ondokuzmayıs Üniversitesi Sinop Fen Edebiyat
Fakültesi Biyoloji Bölümü (2006-2010)

Yüksek Lisans : Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji Bölümü (2015-2016)

Yüksek Lisans Tez Konusu : Sıçanlarda deneysel stres modeli ile indüklenen gastrik lezyonlara karşı *Lactobacillus rhamnosus*'un koruyucu etkilerinin araştırılması

Bilimsel Etkinlikler

Sözlü Konferans veya Seminerler : Uluslararası IV. Kök Hücre
Sempozyumu-ANKARA 2009

Kurslar ve Eğitim Programları, Sertifika :

İngilizce Kursu, Batı Dilleri Merkezi, SAKARYA (2008-2010)

Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası (2013)

Pharmaceutical Sciences (Farmaceutische Wetenschappen), Catholic
University of Leuven-BELÇİKA, 2014 (Erasmus Programı-ESOGÜ)

