



***POLYGONUM COGNATUM* MEİSSN. EKSTRESİNİN
SIÇANLARDA İNDOMETAZİN İLE İNDÜKLENEN
ÜLSER MODELİNDE KORUYUCU ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Nilufar RUSTAMOVA

Biyokimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Yasin BAYIR

Yüksek Lisans Tezi-2020

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***POLYGONUM COGNATUM MEISSN.* EKSTRESİNİN
SIÇANLARDA İNDOMETAZİN İLE İNDÜKLENEN
ÜLSER MODELİNDE KORUYUCU ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Nilufar RUSTAMOVA

**Biyokimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Yasin BAYIR**

**ERZURUM
2020**

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	V
ÖZET	VI
ABSTRACT	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	XII
TABLolar DİZİNİ	XIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Midenin Yapısı ve Anatomisi	3
2.2. Midenin Görevleri.....	3
2.3. Peptik Ülser.....	4
2.4. Ülser ve Ülserin Nedenleri	6
2.5. Non- Steroid Anti-İnflamatuar İlaçlar (NSAİİ)	7
2.5.1. NSAİİ'nin Kısa Tarihi	7
2.5.2. NSAİİ'lerin Sınıflandırması	8
2.5.3. NSAİİ'lerin Farmakokinetik Özellikleri.....	9
2.5.4. NSAİİ Kullanım Alanları.....	10
2.5.5. NSAİİ'lerin Yan Etkileri	10
2.5.5.1. NSAİİ'lerin Gastrointestinal Sistem (GİS) Yan Etkileri	10
2.5.5.2. NSAİİ'lerin Renal Yan Etkiler	11
2.5.5.3. NSAİİ'lerin Hematolojik Sistem Yan Etkileri.....	11
2.5.5.4. NSAİİ'lerin Kardiyovasküler Sistem Yan Etkileri	11
2.5.5.5. Alerjik ve Solunum Sistemi Yan Etkileri:	11

2.5.5.6. NSAİİ'lerin Dermatolojik Yan Etkileri	12
2.5.5.7. NSAİİ'lerin Santral Sinir Sistemi (SSS) Yan Etkileri	12
2.5.5.8. NSAİİ'lerin Eklem Kıkırdağı Üzerine Yan Etkileri.....	12
2.5.5.9. NSAİİ'lerin Gebelikte Kullanımı	13
2.6. İndometazin	14
2.7. İndometazin Yan Etkileri.....	15
2.8. Bitkisel Tedavinin Önemi ve Ülserdeki Yeri	16
2.8. <i>Poligonum cognatum</i> Meissn.....	17
2.10. Antioksidanlar.....	22
2.10.1. Serbest radikaller	22
2.10.1.1. Serbest Radikal Çeşitleri.....	23
2.10.2. Serbest radikal kaynakları.....	27
2.10.2.1. Eksojen radikal kaynakları.....	28
2.10.2.2. Endojen radikal kaynakları	28
2.10.3. Serbest Radikallerin Etkileri	31
2.10.3.1. Serbest Radikallerin Membran Lipitleri Üzerinde Olan Etkileri.....	31
2.10.3.2. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerinde Olan Etkileri.....	32
2.10.3.3. Serbest Radikallerin DNA Üzerine Etkileri.....	33
2.10.4. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	33
2.10.4.1. Endojen (Doğal) Antioksidanlar	33
3. MATERYAL VE METOT.....	37
3.1. Kullanılan Kimyasallar	37
3.2. Kullanılan Cihazlar	37
3.3. <i>Polygonum cognatum</i> Meissn (PC) Ekstraktının Hazırlanması	38
3.4. Deneyde Kullanılan İlaçların Hazırlanması.....	38

3.5. Kullanılan Hayvanlar	38
3.6. Total Fenolik Madde (TFM) İçeriği Belirlenmesi	39
3.7. İndirgeyici Güç Tayini (İGT):	39
3.8. Sıçanlarda İndometazin-Ülserinin Oluşturulması ve PC'nin Verilmesi.....	41
3.9. İndometasine Bağlı Ülser Modelinin Deneysel Tasarımı	41
3.10. Mide Dokusunun İncelemeleri.....	42
3.10.1. Mide Dokusunun Makroskopik İncelenmesi.....	42
3.10.2. Mide Dokusunun Biyokimyasal İncelenmesi	42
3.10.2.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivite Tayini	43
3.10.2.2. Total Glutasyon (GSH) Aktivite Tayini	45
3.10.2.3. Malondialdehit (MDA) Analizi	47
3.10.2.4. Protein Tayini	48
3.11. İstatistiksel Analizler	49
4. BULGULAR.....	50
4.1. Total Fenolik Madde Sonuçları	50
4.2. İndirgeyici Güç Tayini Sonuçları	51
4.3. İndometazine Bağlı Ülser Alanlarının Değerlendirilmesi	52
4.4. Biyokimyasal Sonuçlar:.....	53
4.4.1. Süperoksit Dismutaz Aktivitesi Üzerine PC'nin Etkileri	53
4.4.2. Glutasyon ÜzerinePC'nin Etkileri	55
4.4.3. Malondialdehit Aktivitesi Üzerine PC'nin Etkileri	56
5. TARTIŞMA.....	58
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	66
KAYNAKLAR	68
EKLER	89

EK-1. ÖZGEÇMİŞ	89
EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU.....	90
EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU	91



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten, sayın danışman hocam Prof.Dr.Yasin BAYIR'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Yüksek lisans eğitimim boyunca, hep yanımda olduğunu hissettiren, engin bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, ilmiyle ve insani değerleri ile hayatım için bana katkılar sağlayan değerli hocam Prof.Dr.Abdulmecit ALBAYRAK'a ve her sıkıntıda beni motive eden, insani ve ahlaki değerlerini örnek aldığım çok kıymetli hocam Doç.Dr.Alptuğ ATILA'ya tüm içtenliğimle sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum. Bilgilerini çok cömert bir şekilde bizlerle paylaşan çok değerli hocalarım Prof.Dr.Mine GÜLABOĞLU, Doç.Dr.Nurcan Kılıç BAYGUTALP, Prof.Dr.Elif ÇADIRCI, Doç.Dr.Şaziye Sezin YÜCELİK, Dr. Öğr. Üyesi Harun ÜN, Dr.Öğr.Üyesi Muhammed YAYLA, Dr.Öğr.Üyesi Anıl Rüstem UĞAN'a sonsuz teşekkür ediyorum. Laboratuvar çalışmalarım sırasında bana büyük yardımları olan, birlikte çalışmaktan büyük zevk aldığım sevgili arkadaşlarım Zeynep ERCAN'a ve Merve Nur ORUÇ'a, desteklerini benden hiç esirgemeyen lisans dönemimdeki arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu tez Yüksek Öğretim Kurulu (YÖK)'ün 2018-207 numaralı Proje Tabanlı Uluslararası Değişim Programı Mevlana Değişim Programı tarafından desteklenmiştir.

Yoğun eğitim hayatım boyunca başından beri beni büyük sabırla destekleyen, sevgi ve güvenlerini benden esirgemeyen, maddi ve manevi olarak hep yanımda olan aileme, abilerime, özellikle anneme ve babama sonsuz sevgi, teşekkür ve şükranlarımı sunmayı bir borç bilirim.

Nilufar RUSTAMOVA

ÖZET

***Polygonum cognatum* Meissn. Ekstresinin Sıçanlarda İndometazin İle İndüklenen Ülser Modelinde Koruyucu Etkilerinin Araştırılması**

Amaç: Bu çalışmanın amacı *Polygonum cognatum* Meissn. etanol ekstraktının indometazinle indüklenmiş mide ülseri modeli üzerindeki etkilerinin fizyolojik ve biyokimyasal olarak araştırılmasıdır.

Materyal ve Metot: Kurutulmuş *P.cognatum* bitkisinin etanol ekstraktı hazırlandıktan sonra indirgeyici güç ve total fenolik içerik belirlendi. İn-vivo deneylerde 220-240 g ağırlığında toplam 36 erkek albino wistar sıçan kullanıldı. Hayvanlar her grupta altı adet olmak üzere sağlıklı, esomeprazol pozitif kontrol, indometazin, *P.cognatum*(125mg/kg)+indometazin, *P.cognatum*(250mg/kg)+indometazin ve *P.cognatum*(500 mg/kg)+indometazin olarak altı gruba ayrıldı. Deney sonunda sıçanlar ötenazi edildikten makroskopik ve biyokimyasal parametreler ölçüldü.

Bulgular: *P.cognatum* ekstraktlarının konsantrasyonuna bağlı olarak indirgeyici güç ve total fenolik içeriklerinde kontrol gruplarına göre artırdığı bulunmuştur. *P.cognatum* ekstraktları doza bağlı olarak, indometazine bağlı ülser oluşumunu standart ilaç olarak kullanılan esomeprazola göre benzer hatta daha güçlü koruyucu etki gösterdiği istatistiksel olarak bulunmuştur. *P.cognatum*'un tüm dozlarında indometazin kontrol grubuna göre oksidatif stres markerlerinden artmış MDA seviyesini azalttığı, SOD aktivitesi ve GSH seviyelerini ise artırdığı istatistiksel olarak tespit edilmiştir.

Sonuç: Halk arasında besin olarak tüketilen bu bitkinin sahip olduğu indirgeyici güç ve fenolik içerik vasıtasıyla gastroprotektif etkiye sahip olduğu düşünülmektedir. Sıçanlarda *P.cognatum*'un indometazin ile oluşturulmuş ülser hasarı üzerine gastroprotektif etkileri ilk defa bu çalışma ile antioksidan mekanizma ile ortaya konulmuştur. *P.cognatum* gelecekte potansiyel bir anti-ülser ajanı olabilir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, mide ülseri, *Polygonum cognatum*, sıçan.

ABSTRACT

Investigation of Protective Effects of *Polygonum cognatum* Meissn. Extract in Indomethacin-Induced Ulcer Model in Rats

Aim: The aim of this study is physiological and biochemical investigation of the effects of *Polygonum cognatum* Meissn. ethanol extract on indomethacin-induced gastric ulcer model.

Materials and method: Total phenolic content and the reducing power were determined after the ethanol extract of dried *P.cognatum* plant was prepared at 50 °C. A total of 36 male albino wistar rats (220-240g) were used in the experiment. The animals were divided into six groups with six animals in each group as follows: healthy, esomeprazole positive control, indomethacin, P.cognatum(125mg/kg) + indomethacin, P.cognatum(250mg/kg) + indomethacin, and P. cognatum(500mg/kg) + indomethacin. Macroscopic and biochemical parameters were measured after the rats were euthanized.

Results: The reducing power and total phenolic contents of P.cognatum extracts were found to increase in dose dependent manner compared to the control groups. P.cognatum extracts showed a statistically similar or even stronger protective effect on indomethacin-induced ulcer formation compared to esomeprazole used as a standard drug. It was determined that all doses of P.cognatum decreased the MDA level and increased SOD activity and GSH levels compared to the indomethacin control group.

Conclusion: It is believed that this plant, which is consumed as food among the people, has a gastroprotective effect through its reducing power and phenolic content. This study demonstrates for the first time the gastroprotective effects of P.cognatum on indomethacin-induced ulcer damage in rats by antioxidant mechanism. *P.cognatum* could therefore be a potential anti-ulcer agent in the future.

Keywords: Antioxidants, *Polygonum cognatum*, Rat, Stomach Ulcer.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ABTS	: 2,2'-azino-bis 3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit
ACE	: Anjiotensin Dönüştürücü Enzim
ADE	: Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
ADP	: Adenozin difosfat
AFS	: Anti fosfolipid sendromu
AgNP	: Gümüş Nanopartikül
ATADEM	: Atatürk Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi
BSA	: Sığır Serum Albumin
C₁₉H₁₆CLNO₄	: İndometazin
CAT	: Katalaz
CHCL₃	: Kloroform
COX	: Siklooksijenaz
DG	: Deney grubu
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
DTNB	: 5,5-ditriyobis-(2- nitrobenzoic asit)
EKG	: Elektrokardiyografi
ESO	: Esomeprazol
EtOH	: Etanol
ETS	: Elektron Taşıma Sistemi
F.oxysporum	: Fusarium oxysporium
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
GAG	: Glikozaninoglikon

GFR	: Glomerüler filtrasyon
GİS	: Gastrointestinal sistem
GL	: Gastrointestinal
GP_x	: Glutasyon Peroksidaz
GSH	: Glutasyon
H.Pylori	: Helicobacter pylori
H₂O₂	: Hidrogen peroksid
HNE	: Hidroksinonenol
HO₂[·]	: Peroksil
HOCL	: Hipoklorik asit
HUVEC	: İnsan epitelial hücre
İ.p	: İntraperitoneal
İGT	: İndirgeyici Güç Tayini
İND	: İndometazin
LO	: Lipooksijenaz
LPO	: Lipit peroksidasyonu
LTB₄	: Lökotrein B ₄
LTC₄	: Lökotrein
MCF-7	: Meme kanseri hücre
MDA	: Malondialdehit
MP_x	: Miyeloperoksidaz enzimi
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NBT	: Nitrobulue tetrazolim
NO	: Nitrik oksid

NO₂⁻	: Nitrit
NO₃⁻	: Nitrat
NOS	: Nitreous oxide
NSAİİ	: Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaç
O₂⁻	: Süperoksid radikali
ONOO⁻	: Peroksinitrit
OSI	: Oksitatif stres
P.cognatum	: Poligonum Cognatum
PBS	: Fosfat tamponu
PC	: Poligonum Cognatum
PDA	: Patent duktus arteriosus
PG	: Propilen glikol
PGE₂	: Prostaglandin ₂
R	: Radikal
RNS	: Ribo nükleik asit
RO	: Alkoksil radikali
ROO	: Peroksil radikali
ROS	: Reaktif oksijen Species
ROT	: Reaktif oksijen türleri
RS	: Tiyol radikali
RSO	: Sülfenil
RSO₂	: Tiyol peroksil
S. aureus	: Stphylococcus ayreus
SARS	: Ciddi Akud Solunum Yolları Sendromu
SD	: Standart sapma

SOD	: Süperoksit dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikali
SSS	: Santral Sinir Sistemi
TCA	: Tirikloroasetik asit
TFM	: Total Fenolik Madde
TSP	: Trombositopeni
UA	: Ülser alanı
UV	: Ultraviole
XD	: Ksantin dehidrogenaz
XO	: Ksantin oksidaz

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. İndometazinin moleküler yapısı	14
Şekil 2.2. Nitrik oksit sentaz tarafından katalizlenen argininden nitrik oksit oluşumu..	26
Şekil 2.3. Kardiyomiyositlerde ROS/RNS tarafından oluşan hasarın antioksidanlarla ilgili mekanizması	35
Şekil 2.4. Glutasyon'un molekül yapısı	35
Şekil 3.1. Deneyde kullanılan doku homojenizatörü ve bilyeli öğütücü.....	43
Şekil 4.1. PC Total Fenolik Madde içeriği	50
Şekil 4.2. PC İndirgeyici Güç Tayin'i Sonuçları.....	51
Şekil 4.3. İndometazine bağlı ülser alanlarının makroskopik görüntüleri.....	52
Şekil 4.4. Deney gruplarının ülser alanları	53
Şekil 4.5. Sıçan serumundaki SOD aktivitesinin grafikte gösterilmesi.....	54
Şekil 4.6. Sıçan serumundaki GSH seviyesinin grafikte gösterilmesi.	56
Şekil 4.7. Sıçan serumundaki MDA miktarının grafikte gösterilmesi	57

TABLULAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. P.cognatum'un bitki sistematığı	17
Tablo 3.1. Sıçanların gruplara ayrılması ve deney kurgusu	42
Tablo 4.1. PC Total fenolik madde içeriği	50
Tablo 4.2. PC İndirgeyici Güç Değerleri	51
Tablo 4.3. Deney gruplarının ülser alanları	53
Tablo 4.4. PC'nin SOD aktivitesi üzerinde olan etkileri.	54
Tablo 4.5. PC'nin GSH üzerinde olan etkileri.	55
Tablo 4.6. PC'nin MDA aktivitesi üzerinde olan etkileri.	57

1. GİRİŞ

Ülser ve peptik ülser; çeşitli biyolojik ve psikososyal durumlarda ortaya çıkabilen, mide mukozasında harabiyet oluşturan bir hastalıktır ¹. Peptik ülser, görülme sıklığı ve komplikasyonları sonucu sebep olduğu morbiditeler nedeniyle önemli bir sağlık sorunudur. Peptik ülser dünya nüfusunun yaklaşık olarak % 5 ile % 10'unu etkilemektedir ². Erkeklerde görülme sıklığı % 11-14, kadınlarda görülme sıklığı ise % 8-11'dir ³. Amerika Birleşik Devletlerinde (ABD)ise peptik ülser her yıl yaklaşık 500.000 kişiyi etkilemektedir ⁴⁻⁶. Ülseri tetikleyen birden fazla faktör vardır. Bunların arasında; *Helicobacter pylori*(H.plori), hücrel stres, travma, nonsteroidal antiinflamatuvar ilaç (NSAİİ) kullanımı, steroidler, tümör, karaciğer veya gastrointestinal sistem hastalıkları sonucu ortaya çıkan koruyucu mukoza bariyerindeki hasarların yanı sıra kaygı, depresyon, sigara ve alkol kullanımı vb. gibi insan psikolojisinin etkilenmesi sonucu stres hormonları (kortizol gibi), asit salgılanmasını bozar, midenin fizyolojisini olumsuz yönde etkiler ve mide ülserlerine neden olabilmektedir ⁷⁻¹⁰.

Genellikle NSAİİ veya benzer şekilde mideye zarar veren ilaçların kullanımına bağlı olarak koruyucu olarak verilen mide ülseri önleyen ilaçların (antiasitler, H2 pompası inhibitörleri, H2 antagonistleri gibi) yetersiz etkinlik gösterebilmelerinin yanı sıra aşırı duyarlılık reaksiyonları, ilaç etkileşimleri, artralji, iktidarsızlık, aritmi ve hematopoetik değişiklikler gibi bazı yan etkilere de neden olabilmektedirler. Özellikle NSAİİ ilaçların kullanımına bağlı olarak ortaya çıkan mide ülserinde tedavi alternatifleri geliştirmek için yapılan literatürde çok sayıda çalışma yapılmıştır ve yapılmaktadır ¹¹. Bu çalışmalarda kullanılan deneysel modellerden biri indometazinle oluşturulmuş ülser modelidir. Bu model ile kısa bir süre içerisinde deneysel hayvanlarda ülser oluşumunun önlenmesi takip edilebilir.

Tarih boyunca insanlar hastalıklara karşı doğadan topladığı bitkilerle hastalıklara çözüm aramışlar. Mevcut ilaç tedavisi ile ilişkili yan etkiler nedeniyle daha iyi koruma

sağlamak, nüks riskini azaltmak ve daha etkili tedavi sağlamak amacıyla alternatif tedavi arayışları devam etmektedir. Günümüzde kimyasal-ilaç endüstrisindeki gelişmelere rağmen bitkilerin hastalıkların tedavisindeki rolü inkar edilemez bir gerçektir. Bitkilerle yapılan çalışmaların artması bunu desteklemektedir ¹²⁻¹⁵. Bu bitkilerden birisi de halk arasında potuk, madımak, solucanotu olarak bilinen *Polygonum cognatum* Meissn.'dir. Bu bitkiden elde edilen ağız gargarasının; ağız içi yaralar, diş eti iltihabı, ağız ülserleri ve boğaz ağrısına karşı tedavi edici etkileri vardır ¹⁶. *P.cognatum*'la ilgili literatürde sağlık üzerine yapılan çok sayıda çalışma olmakla birlikte mide ülserine koruyucu etkilerine dair yapılan herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada deneysel mide ülser modelinde *Poligonum cognatum* (PC) bitki ekstresinin etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. *P.cognatum* bitkisi Azerbaycanda Gence ve Karabağ bölgelerinde, Türkiye'de ise Batı, Orta, Doğu, Güney ve Güneydoğu Anadolu'da bulunur ve gıda olarak halk arasında kullanımı vardır. Bundan başka Kafkasya, İran, Afganistan, Pakistan, Suriye bölgelerinde de yayılım göstermiştir ¹⁷. Çoğunlukla yetiştiği bölgelerde besin olarak kullanılır.

Bu çalışmada, *Polygonum cognatum* Meissn'in etanol ekstraktının total fenolik içeriği, indirgeyici güç düzeyleri ve sıçanlarda indometazin ile indüklenen mide ülseri modelinde artan konsantrasyonlarında (125 mg/kg, 250 mg/kg, 500 mg/kg) gastroprotektif etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Midenin Yapısı ve Anatomisi

Mide, önemli fonksiyonları olan, yemek borusu ile oniki parmak bağırsak arasında yerleşmiş bir sindirim sistemi organıdır ¹⁸. Mide anatomik olarak dört bölümden oluşur ¹⁹.

- Kardiyak
- Fundus
- Mide gövdesi (Korpus)
- Pilonis

Mide fibromüsküler yapıdadır. Midenin iç yüzü epitelle örtülüdür. Bu yapı absorpsiyon veya salgı görevlerinden dolayı farklılıklar gösterir ^{19, 20}. Midenin histolojik yapısında başlıca olarak yer alan tabakalar dıştan içe doğru aşağıda gösterildiği gibidir;

- Seroza
- Longitudunal
- Sirküler
- Submukoza
- Mukoza ²⁰

Sıçanların mide yapısı yarım ay şeklindedir ve ağırlığı 3.90 g ile 8.50 g arasında değişir. Mide dokusu insan vucut ağırlığının %1.8'i kadardır ²¹. Mide beş bölüm olarak incelenmektedir. Bunlar kardiya, fundus, mide gövdesi, antrum, pilora bölümleri olarak adlandırılır ²².

2.2. Midenin Görevleri

Midenin en temel fonksiyonları mide salgılarını ve besinleri karıştırmak, mideye gelen gıdayı kullanılabilir hale gelinceye kadar depo etmek ve kullanıldıktan sonraki atık içeriği ince bağırsağa boşaltmaktır ²³.

Mide mukozası ksenobiyotiklere karşı koruyucu bir bariyerdir. Ancak toksik maddeler tarafından çok kolay hasar alabilir. Bu tür hasarlar ciddi şekilde ülserasyon, kanama ve perforasyona neden olabilir. Ülser, hidrolitik ve proteolitik sindirime sebep olan faktörler arasındaki dengenin bozumasıyla oluşur²⁴⁻²⁶.

2.3. Peptik Ülser

Peptik ülser, mide ve duodenum ülserleri için kullanılan ortak adlandırmadır. Peptik ülser gastrik dokunun asit ve pepsinle temas eden bölgelerinde daha sık görülür²⁷⁻²⁹. Mide ülseri prevalansı ve insidansı son yıllarda azalmasına rağmen, gastrointestinal yolda meydana gelen yaygın, kronik ve tekrarlayan bir hastalık olarak devam etmektedir. Önemli fizyolojik görevleri olan mide, istemsiz olarak çok sayıda eksojen ve endojen etkenlere maruz kalması sonucu etkilenen organlarımızdan biridir. Bundan dolayı mide koruyucu özelliklere sahip olan maddelerin hem insan, hem de hayvanlar üzerinde denemeleri ve araştırmaları devam etmektedir³⁰. Ülser genellikle mukozal savunma faktörleri ile gastrik agresif faktörler arasındaki dengesizlik sonucu olarak ortaya çıkmaktadır³¹. NSAİİ, *Helicobacter pylori* enfeksiyonu, stresli yaşam tarzı, alkol, diyet vb. gibi nedenlerden dolayı duodenal veya gastrik mukoza alanda ülser odakları oluşur³². Ortaya çıkan olumsuzlukları tedavi etmek maksadı ile birçok çalışmalar yapılmış, bazı farklı tedavi yöntemleri ve teknikleri geliştirilmiştir. Günümüzde antiasitler, proton pompa inhibitörleri, H₂-reseptör antagonistleri, kolesistokinin-2 reseptör antagonistleri, K⁺ uygulaması ve diğer ilaçların kombinasyonu gibi farklı ilaç sınıfları ile gastrik ülser tedavisi yapılmaktadır. Bununla birlikte, ilaç tedavilerinde yetersiz etkinlik, kronik böbrek hastalığı, bilişsel düşüş, aşırı duyarlılık reaksiyonları, ilaç etkileşimleri, artralji, iktidarsızlık ve tekrarlayan ülser kanaması gibi bazı olumsuz etkiler de vardır^{33, 34}. Toplumda yaş ilerledikçe peptik ülserin görülme oranı da artış göstermektedir. Gastritte inflamatuvar hasar yüzeysel olarak görülür, ülserde ise kas tabakasına kadar hasar görülebilir²⁷. Gastrik hasar bikarbonat, mukus, sitoprotektif

prostaglandin (PG) gibi koruyucu faktörlerle mide dokusundaki agresif faktörler arasında olan denge bozulması sonucu oluşur. Agresif faktörler ikiye ayrılır : ^{28, 29, 35}

- Doğal faktörler (asit, safra asitleri, pepsin)
- Doğal olmayan faktörler (stres, sepsis, travma, hemorajik şok, yanıklar, sigara kullanımı, alkol, rezerpin ve steroid ve nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar)

NSAİİ'ler sık reçetelenen ilaçların başında gelmektedir ³⁶. İndometazin, aspirin ve diklofenak gibi NSAİİ 'ler analjezik, antiinflamatuvar ve antipiretik özellikleri için yaygın olarak kullanılmaktadır ³⁷. Bu ilaçların özellikle mide mukozası üzerinde ciddi olumsuz etkileri ülserin en önemli etiyolojilerinden birini oluşturur ³⁸. Bu nedenle toplumda NSAİİ kullanımından dolayı ülser görülme insidansı yüksektir. Tarihsel veriler semptom veren ülserlerin toplumun yaşam boyu %10'unu etkilediğini göstermiştir. ABD'de bir yıl içinde 4.5 milyon kişide peptik ülser görülmektedir. Toplumumuzun %10'unda ise hayatlarının bir bölümünde duodenal ülser hikayesi mevcuttur ³⁹. NSAİİ'lerin gastrik hasar oluşturma mekanizmaları prostaglandin (PG) sentezinin inhibisyonu, bölgesel tahriş ile doku rejenerasyonunun engellenmesi ve lokal kan akımındaki azalma şeklindedir ⁴⁰. Aspirin ve indometazin gibi NSAİİ'lerin siklooksijenaz (COX) enzim sistemini bloke etmesiyle gastrik mukozal bariyer bozulur, PG biyosentezi baskılanır ve sonuçta gastrik hasar oluşur ⁴¹. COX inhibisyonundan kaynaklı olarak araşidonik asit metabolizmasının 5- lipooksijenaz yolunda bir artış görülür. Lipooksijenaz yolunda oluşan lökotrienlerin yanı sıra 4 hidroperoksid eikozatetranoik asitin oksijeninden gastrotoksik oksijen radikallerinin oluşumuna yol açmaktadır ²⁸. NSAİİ'lerin gastrik hasar oluşturma nedenlerinin başında PG miktarının düşmesinden başka, serbest oksijen radikallerinin (SOR) miktarının artmasını da söyleyebiliriz. SOR'ların gastrik ve duodenal mukozadaki hasar oluşturuvcu etkileri hayvanlar ve insanlar üzerinde geniş bir şekilde araştırılmıştır ^{42, 43}.

2.4. Ülser ve Ülserin Nedenleri

Ülser; sindirim sistemi hastalıkları içerisinde en yaygın olan hastalıklardan biridir ⁴⁴. Gastrik mukozanın aşınması sonucu oluşan bir lezyondur. Yani dış etkiler sonucu mide duvarında oksidatif ve nekrotik hasarlar meydana gelir ve bunun sonucunda da kas tabakası ve alt mukoza da kanama olur ⁴⁵. Ülser oluşumunda aşağıda yazılan faktörler büyük etki gösterir: ⁴⁶

- Steroid olmayan ağrı kesiciler (aspirin, indometazin, ibuprofen gibi)
- Stres
- Alkol
- Sigara
- Artan yaş
- Pepsin
- Helicobacter pylori (H.pylori) enfeksiyonu ⁴⁷

Stres

Stres nedeniyle gastrik mukoza ve mast hücrelerinde degranülasyonun artması sonucunda gastrik ülser oluşumu gözlemlenmiştir ⁴⁸.

Alkol

Alkol tüketimi midede asit salgısını artırır. Yüksek dozda mideye alınan alkol veya alkollü yiyecek ve içecekler mukozal bariyere negatif etki gösterir ve mukozal kanama sonucu ülsera sebep olur ^{49, 50}.

Sigara

Yapılan çalışmalar sonucu sigara kullanımının ülser iyileşmesi sürecinde büyük olumsuz etkisinin olduğu görülmüş ve ayrıca ağır ülser tedavisi sürecini yavaşlatmıştır, lezyonların tekrardan ortaya çıkabileceği, sigaranın mide dokusunda oksidatif stresi artırdığı düşünülmüştür ⁵¹.

Yaş

Araşidonik asidin prostaglandine dönüşümündeki azalma sonucu yaşlılarda prostaglandin miktarı azalır ve gastrik mukoza kanaması sonucu ülser oluşur^{52,53}.

***Helicobacter pylori* (H.pylori)**

Dünyada ülser oluşumunda en yaygın neden H.pylori olarak tespit edilmiştir. Bu bakteri spiral şekilli ve gram-negatif bir bakteridir. H.pylori gastrik inflamasyona sebep olmaktadır⁵⁴.

Bilhassa NSAİİ ilaçların kronik kullanımını insanda peptik ülser, kronik gastrit ve pekçok mide hastalıklarının oluşumuna yol açmaktadır. Bu hastalıkların varlığı, onlar için etkili ilaçlı tedavilerinin gelişimine yol açmıştır. Bundan başka son dönemlerde farklı çeşitli bitkilerden izole edilen ekstraktlar hazırlanması, aynı zamanda biyolojik aktif bileşiklerin tedavi maksadı ile kullanılması önemli oranda ilgi noktası olmuştur.

2.5. Non- Steroid Anti-İnflamatuar İlaçlar (NSAİİ)

2.5.1. NSAİİ'nin Kısa Tarihi

Non- Steroid Anti- inflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) genellikle heterojen olan organik asit yapısındadır. Heterojen yapıda olmalarına rağmen homojen yapılu organik asit yapısındaki ilaçlara benzer terapötik etki ve yan etki göstermektedirler. NSAİ ilaçlar ateş düşürücü, ağrı kesici ve anti-inflamatuar etkiye sahiptirler. Bu grup ilaçlara aspirini örnek verebiliriz^{55,56}. NSAİİ'ler kolşisin olarak ilk defa 1820'de, 1860'da ise salisilik asit olarak tanımlanmıştır. İlk kez olarak Aspirin tabletini sentezleyen 1897'de F.Hoffman olmuştur. 1971'de NSAİİ'lerin etki mekanizmaları konusunda yaptığı çalışmalar sonucu Nobel ödülü alan John R. Vane ilk defa siklooksijenaz (COX) enzimini tanımlamıştır⁵⁷. Bundan sonra ise 1976'da prostoglandin endoperoksit sentetaz (siklooksijenaz) enzimi ilk defa olarak bulunmuştur. Bu konuda yapılan çok sayıda araştırmaların sonucu olarak 1990'da COX' un tek bir molekül değil, her birinin farklı işlevlerinin olduğu bilinen birden fazla izomerlerinin olduğu

bulunmuştur ⁵⁸. Mide ülserinde semptomatik iyileşme sağlayan bu ilaç grubu dünya genelinde mide ülserinde reçete edilen ilaçların çoğunluğunu kapsamakta ve dünya genelinde kullanılan tüm ilaçların %5'ini oluşturmaktadır ⁵⁹.

2.5.2. NSAİİ'lerin Sınıflandırması

Klinik uygulamada kısa etkili olan NSAİİ'ler akut olarak ağrı kesiciye gerek duyulan gut atağı, spora bağlı travma gibi durumlarda kullanılır. Etkisi uzun olan NSAİİ'ler ise artrit gibi kronik iltihabi durumlarda etkilidir ⁶⁰. NSAİİ ilaçlar COX enzimini inhibe ederek etki gösterirler. Böylece inflamasyona neden olan COX ürünlerinin üretimini azaltırlar. NSAİİ'lerin COX enzimini inhibe etmesi ile anti-inflamatuar etkileri arasında güçlü bir ilişki vardır. Anti-inflamatuar etkisi daha güçlü olan glukokortikoidler ise fosfolipaz-A2 enzimini inhibe edip araşidonik asit sentezini azalttığı için hem COX ürünlerinin hem de lipooksijenaz (LO) ürünlerinin üretimini azaltırlar ⁶¹. Daniel L Simmons 1991 yılında araştırmaları sonucunda COX-2 enzimini tanımlamış ve COX enziminin en az iki formu vardır fikrini öne sürmüştür;

COX-1: Yapısal olan bu enzim birden fazla fizyolojik durumda düzenleyici role sahiptir. COX-1 tarafından sentez edilen prostanoidler PG ve tromboksanın fizyolojik etkilerinden sorumludur.

COX-2: İnflamasyonda sorumlu bir enzimdir. NSAİİ'lerin günümüzdeki terapötik kullanımlarının çoğunun etki mekanizması bu enzimin inhibisyonu ile gerçekleşir. NSAİİ ilaçların bahsedilen 2 enzim üzerindeki selektiviteleri arasında büyük farklar mevcuttur ⁶². ⁶³.

Yapılan çalışmalarda, COX-2/COX-1 oranı düşük olan ilaçların yan etkilerinin diğerleri ile kıyaslandığında daha az oranda olduğu gözlemlenmiştir. COX-2 inhibitörleri yan etki yapmadan inflamasyonu baskılar. Bu yaklaşımla COX inhibitörleri aşağıdaki gibi sınıflandırılmaktadır ^{63, 64}.

1. Spesifik COX-1 inhibitörleri: COX-2'yi inhibe etmeden COX-1 inhibisyonu yapanlar (düşük doz aspirin gibi).
2. Non-spesifik COX inhibitörleri: COX-1 ve COX-2'yi birlikte inhibe ederler.
3. Spesifik COX-2 inhibitörleri: Tedavi edici dozlarda daha çok COX-2 inhibisyonu yaparlar. Bu grup ilaçlar ikiye ayrılır:
 - a. Yüksek dozlarda COX-1 inhibisyonuna sebep olanlar (meloksikam, etodolak, nimesulid gibi).
 - b. Çok yüksek dozda bile klinik olarak anlamlı COX-1 inhibisyonuna sebep olmayan selektif COX-2 inhibitörü ilaçlar (rofekoksib, selekoksib gibi).

COX-2 enzimini tanımlayan Simmons 2002 yılında COX-3 enzimini de bulmuştur. Çalışmasında yeni olan bu enzimle parasetamol arasındaki ilişkiyi araştırmış ve bu ilacın ateş düşürücü ve analjezik etkisinde COX-3 enzimi inhibisyonunun görev aldığı ileri sürmüştür ⁶⁵.

2.5.3. NSAİİ'lerin Farmakokinetik Özellikleri

NSAİİ'ler zayıf asidik olduğu için mide-bağırsak mukozasından iyi emilirler. Ancak bu süreç gıda alımıyla yavaşlayabilir. Bundan dolayı günümüzde kullanılan NSAİİ'ler enterik kaplı tabletler veya devamlı salınım preparatları halindedir. Plazma proteinlerine yüksek oranda (>95) bağlanırlar. Çeşitli hastalıklarda ve hipoalbuminemili bireylerde NSAİİ'lerin plazma proteinlerine bağlanma oranı azalır. NSAİİ'lerin klirensi ilk olarak inaktif metabolitlerin oluşma oranına bağlıdır. Bu da hepatik biyotransformasyon yolu ile gerçekleşir. Karaciğerde metabolize olur ve idrarla vücuttan atılırlar ⁶⁶. NSAİİ'ler sinovyal sıvıya daha yavaş geçerler, bazılarının ise sinovyumda sekrete olma özellikleri vardır ⁵⁵. Bu tür ilaçlar prostaglandin (PG) sentezine engel olarak ağrı kesici etki sağlarlar. PG; bradikardin, serotonin gibi hormonlar yangılı durumlarda salgılanır ve ağrı oluşumunda

görev alırlar. NSAİİ'ler COX etkinliğini bloke edip, PG sentezlenmesini azaltırlar. Sonuç olarak ateş düşürücü, ağrı kesici ve yangı önleyici etki gösterirler ⁶⁷. Ateş düşürücü etkileri ekzojen ve endojen maddelerin hipotalamustaki ısı kontrol merkezini (termoregülatör bölge) etkilemeleri ile oluşur. Bu merkezin araziidonik asitten PG sentezini engellediği ve vücut ısısını düşürdüğü kabul edilmektedir ⁶⁸.

2.5.4. NSAİİ Kullanım Alanları

NSAİ ilaçlar genellikle inflamasyon, bunun yanı sıra ağrının olduğu akut ve kronik durumların tedavisinde tavsiye edilir ve kullanımı gereklidir. Kolorektal kanserlerin engellenmesi, kardiyovasküler hastalıklar gibi diğer durumların tedavisinde profilaktik potansiyelleri ile alakalı çalışmalar ise devam etmektedir ⁶⁹.

2.5.5. NSAİİ'lerin Yan Etkileri

2.5.5.1. NSAİİ'lerin Gastrointestinal Sistem (GİS) Yan Etkileri

NSAİİ'leri kullanan hastaların yaklaşık olarak % 25'inde GİS'e ait yanma, yaygın karın ağrısı ve dispepsi gibi yan etkiler görülür. Bundan başka ülserle bağıli komplikasyon (kanama, perforasyon), ülser oluşumu riski de son dönemlerde önceki dönemlere göre artmıştır. Yapılan farklı çalışmalarda bu riskin 3-10 kat arasında arttığı bildirilmektedir. Bu ilaçların kullanımı sonucu GİS mukoza lezyonları oluşur. Gastrik ve duodenal mukozada oluşturdukları etkiler sebebiyle yüzeysel hasarlar ve gizli kanamalara hatta epitelin zedelenmesine ve şiddetli akut kanamalara yol açabilirler. Bu etkilerinin nedeni COX enzimini inhibe ederek koruyucu etkili PG'lerin sentezini azaltmalarıdır. Bu PG'ler bikarbonat salınımını artırır ve zedelenmeye karşı epitel direncini artırır. Böylece mukozal kan akımını artırarak ve mukozal yenilenmeyi sağlayarak koruyucu etki gösterirler. NSAİ ilaçlar bu mide mukozasını koruyucu mekanizmaları da inhibe ederler ⁷⁰⁻⁷².

2.5.5.2. NSAİİ'lerin Renal Yan Etkiler

NSAİİ'ler prostaglandin E2 (PGE2) ve böbrekte vazodilatatör etkili olan prostasiklin sentezini inhibe eder, böylece glomerüler filtrasyon hızı (GFR) ve renal kan akımında azalmaya sebep olurlar. Su ve tuz atılımını da azaltarak sıvı retansiyonnuna neden olurlar. Böylece hipertansif hastalarda kan basıncını yükseltebilirler. Yaşlılarda yüksek doz NSAİİ alımında akut böbrek yetmezliğine neden olabilirler. NSAİİ'ler seyrek olarak nefrotik sendrom, interstisyel nefrit, akut tübuler nekroz, akut böbrek yetmezliği gibi daha ciddi renal hastalıklara da neden olabilirler ^{59, 72}.

2.5.5.3. NSAİİ'lerin Hematolojik Sistem Yan Etkileri

Tromboksan A2 sentezini inhibe ederek hemostazda yavaşlamaya, antitrombotik etkiye, kanama süresinde uzamaya ve daha nadir olarak da aplastik anemi, trombositopeni, ve agranüloitoza sebep olabilirler. Aplastik anemi yüksek ölüm oranına sahiptir ⁵⁹.

2.5.5.4. NSAİİ'lerin Kardiyovasküler Sistem Yan Etkileri

NSAİİ'ler yüksek dozlarda kullanıldığında kalp atış hızını ve dolaşan kan hacmini artırabilir ve hiperkalemiye bağlı olarak elektrokardiyografi (EKG) değişikliklerine neden olabilirler. Damarlarda ortaya çıkan ateroskleroz inflamatuvar bir süreçtir. COX-2 inhibitörleri, inflamasyonu inhibe ederek anti-aterojenik etki gösterirler. Aterosklerozlu hastalarda prostosiklin yapımı hem COX-1 hem de COX-2 yolağıyla gerçekleşir. Bu nedenle tromboz ve myokard infarktüsü riski nonselektif NSAİİ'lerle karşılaştırıldığı zaman selektif COX-2 inhibitörleriyle de artabilir ⁷³.

2.5.5.5. Alerjik ve Solunum Sistemi Yan Etkileri

Bronkospazm oluşum sebeplerinden biri PG sentezinin inhibe olmasıdır. Bu duruma aspirine hassasiyeti olan hastalarda daha sık rastlanır. Bronkodilatatör etkili PG sentez inhibisyonu histamin gibi vazoaktif aminlerin salınımına, mast hücre stabilizasyonunun

bozulmasına ve bu da ürtiker, astım nöbetleri, anjioödem meydana gelmesine veya serum hastalığına neden olabilir. Lipooksijenaz yolu ürünleri olan Lökotrein C4 (LTC4) ve Lökotrein B4 'ün (LTB4) etkileri bunların gerçekleşmesinde rol oynar⁶⁵. NSAİİ ve aspirinle alakalı birçok farklı allerjik reaksiyonlar vardır. En sık olarak şişlik ve kaşıntı gibi deri semptomlarına, astım ve rinit semptomları gibi solunum sorunlarına ve anafilaksiye neden olabilirler. Genel populasyonda NSAİİ allerjisinin yaklaşık %1 oranda olduğu düşünülmektedir. Astım hastalarının yaklaşık olarak %10'unda NSAİİ kullanımı astım semptomlarına kötü yönde etki etmektedir. Astımı olan hastanın aynı zamanda kronik sinüzit/ nazal polibi olduğunda NSAİİ'lere bağlı allerji gelişme olasılığı %40 olur ve deri reaksiyonlarını kötüleştirebilir^{73, 74}.

2.5.5.6. NSAİİ'lerin Dermatolojik Yan Etkileri

NSAİİ ile sık gözlenen yan etkilerden biri de fotosensitivitedir. Bundan başka vezikülobüllöz erüpsiyonlar veya morbiliform, ekfoliyatif eritrodermi, eritema multiforme, ürtiker, toksik epidermal nekrolizis, Steven-Johnson sendromu gibi yan etkiler de görülebilir^{62, 65}.

2.5.5.7. NSAİİ'lerin Santral Sinir Sistemi (SSS) Yan Etkileri

Yapısal olarak SSS'nin bazı bölgelerinde COX enzimi bulunur. SSS'ye sınırlı geçişe rağmen, NSAİİ ilaçları kullananlarda baş dönmesi, başağrısı, sersemlik, konfüzyon, depresyon, halusinasyonlar, tinnitus gibi durumlar meydana gelebilir⁷⁵.

2.5.5.8. NSAİİ'lerin Eklem Kıkırdağı Üzerine Yan Etkileri

NSAİİ'ler proteoglikan kaybını glikozaminoglikan sentezini bozarak artırabilir. Proteoglikan kıkırdak matriksinin temel maddesidir. Ancak NSAİİ'nin her kıkırdak üzerinde aynı etkiye sahip değildir. Örnek olarak indometazin eklem kıkırdağında proteoglikan sentezini bozar. Hatta kondroprotektif olduğu düşünülür⁷⁶.

2.5.5.9. NSAİİ'lerin Gebelikte Kullanımı

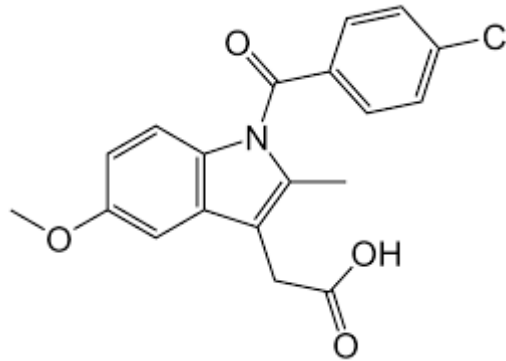
Bu ilaçların gebelik esnasında, özellikle de hamileliğin 27-40 haftaları arasında kullanılması tavsiye edilmez. NSAİİ'lerin kullanımı renal yan etkilere ve fetüste fetal duktus arteriosusun erken kapanmasına neden olabilir. Ayrıca bu grup ilaçların kullanımı prematür doğuma da yol açabilir. Anti-fosfolipid sendromu olan gebelerde ise heparin ile beraber düşük doz aspirin kullanımı tavsiye edilir ^{77,78}.

Bu grup ilaçlar uzun süre ve yüksek dozda kullanıldığında yan etkiler oluşturabilmektedir. İstenmeyen etkilere neden olabilecek faktörlere ilacın türü, dozu, kullanım süresi gösterilebilir. Bundan en çok hasar gören organlardan biri de mide- bağırsak (duodenum) dokusudur. Yan etki olarak kusma ve bulantı görülebilmektedir. Hatta ülser yapabilecek kadar mide ve barsak hasarına yol açabilirler ⁷⁹.

İndometazin -metilli bir indol asetik asit türevi NSAİİ'dir. Aspirinden yaklaşık 10 kat daha güçlü bir etkiye sahiptir. İndometazin gastrik asit sekresyonunda meydana getirdiği asit artışıyla gastrointestinal toksisiteye sebep olur ⁸⁰. Bunun yanı sıra, indometazin nötrofillerin gastrik endotele yapışmasına neden olur ve kılcak damar tıkanmasına neden olarak kan akışı azaltır. Bunun neticesinde ülserasyona neden olur ⁸¹. Prostaglandin (PG) sentezini güçlü bir şekilde inhibe eder. İndometazin sindirim sistemi üzerinde bulantı, kusma, karın ağrısı, ülser ve mide kanaması gibi istenmeyen etkilere neden olabilmektedir ⁸². Yapılan çalışmalarda indometazin ile indüklenmiş mide ülserinin patogeneğinde reaktif oksijen türleri (ROT) ve lipid peroksidasyon oluşumu ile glutatyon (GSH) azalmasının önemli rol oynadığı ve bu değişikliklerin mide mukoza hücrelerinde oksidatif hasardan sorumlu olduğu bildirilmiştir ⁸³. Bu çalışmada NSAİİ'lerden ülser modelini oluşturmak için yan etkiler bakımından istenilen tüm özellikleri sergileyen ve kısa sürede (6 saat) ülser modelini oluşturmasından dolayı indometazin tercih edilmiştir.

2.6. İndometazin

İndometazin, metilli bir indol asit gurubu NSAİ ilaçtır. Renk olarak beyaz-sarı, kristal, suda çözünemeyen, alkolde kısmen (20 mg/ml) çözünen toz halinde olan, pKa değeri 4,5 olan bir ilaçtır⁸⁴. Sindirim kanalında hızlıca emilir, idrar ve dışkı ile atılır⁸⁵. NSAİİ grup ilaçların en önemlilerinden olan indometazin antipiretik, anti-inflamatuvar ve analjezik etkiye sahiptir⁵⁶. Ciddi akut solunum yolları sendromu (SARS) tedavisinde kullanılabilir⁸⁶. Ankilozan spondilit, osteoartrit, romatoid artrit, gut artriti, bursit, tendinit, travmatik sinovit ve diğer inflamasyonlu hastalıkların tedavisinde, kullanılmaktadır⁸⁷. İndometazin COX-1 ve COX-2 enzimlerini bloke ederek prostoglandin sentezine engel olur⁸⁸. İndometazinin antiinflamatuvar etkisinden COX-2 enzim inhibisyonu sorumludur. Gastrointestinal toksik etkilerinden ise sorumlu olan enzim COX-1 dir⁸⁹. Nonsteroid antiinflamatuvar olması yanı sıra yalnız baş ağrısı (migren) ve eklem ağrıları (romatoid artrit) için değil, bundan başka patent duktus arteriozus, polihidramniyoz tedavisinde ve prematür doğumun geciktirilmesinde de büyük etkiye sahiptir⁹⁰. İndometazin yeni doğan bebeklerde gecikmiş patent duktus arteriosus (PDA) tedavisinde- bebeklerde açık kalan duktusu kapatmak için kullanılan bir ilaç türüdür⁹¹. Tokolitik ilaçlar grubuna aittir. İndometazin 30-90 dakika arasında plazma doruk konsantrasyonuna ulaşır. Bu sürenin değişim göstermesi gıda alımına bağlı olarak değişebilir⁹². En önemli özelliklerinden biri de yan etkilerinden dolayı deneysel çalışmalar için en çok ülser modellerinde kullanılmasıdır^{93,94}.



Şekil 2.1. İndometazinin moleküler yapısı.

2.7. İndometazin Yan Etkileri

İlacın istenmeyen yan etkileri %35-50 oranındadır. İndometazinin günlük artan dozuna bağlı olarak toksik etki insidansını ve şiddeti artan yönde değişim göstermektedir. Yan etkileri olarak santral sinir sisteminde kognitif disfonksiyon, frontal baş ağrısı, konfüzyon, depresyon, psikoz, halüsinasyon gibi durumlara yol açtığı bilinmektedir ⁸⁷. Zorunlu yüksek doz alınımında alınan hasarlar sonucu hastaların 1/3'ünde tedavinin kesilmesi gerekmektedir ⁹⁵. İndometazinin kondrotoksik etkisi proteoglikan sentezini inhibe ederek gerçekleştirir. Başka bir çalışma sonucunda, indometazinin intaklara göre artritli sıçanlarda şiddeti daha yüksek olan gastrik hasar oluşturduğu görülmüştür ⁹⁶. Bunun yanı sıra indometazin serebral kan akımına etki eder ve azaltır ⁹⁷. Başka bir çalışmada da indometazinin psikoz oluşmasına neden olduğu belirlenmiş ve bunun sebebi molekül yapısının serotonine benzemesi bildirilmiştir. Bundan dolayı indometazinin yaşlılarda doktor kontrolü altında ve daha düşük dozlarda kullanılması tavsiye edilir ^{87, 98}. 20-25 yaş arası kadınlarda daha sık görülen ve daima aynı tarafta şiddetli baş ağrısı yapan paroksizmal hemikranya tedavisinde kullanıldığı halde, santral sinir sistemine bağlı olarak en sık görülen yan etkisi frontal baş ağrısı olarak bilinmektedir. Bu ilacı kullanan hastaların yaklaşık % 25-50'sinde raslanmaktadır ⁹⁹. Bir başka çalışmada indometazin yan etkileri arasında renal fonksiyon bozuklukları görüldüğü bildirilmiştir ¹⁰⁰. Bundan başka indometazin glomerulonefriti olan hastalarda geçici potasyum yükselmesine sebep olabilmektedir ¹⁰¹. Hipertansiyonlu hastalarda ise kan basıncını yükselttiği gözlemlenmiştir ⁸⁷.

Çocuk kemik gelişiminde kemik iliğini baskıladığı için hasara yol açabilmektedir ¹⁰². Yapılan başka bir çalışmada, hasar almış diz eklemine osteoartritlik kondrosit kültürlerinde selekoksibin nitrik oksit üretimini inhibe ettiği bildirilmiştir. İndometazinin ise nitrik oksid (NO) üretiminde inhibitör etkisi olmadığı belirtilmiştir ¹⁰³.

Total kalça artroplastisi ameliyatı sonrası oluşan ektopik kemikleşme insidansını azalttığı da bilinmiştir ⁸⁷. Hem furosemid ve tiyazid diüretiklerinin natriüretik ve antihipertansif etkisini antagonize eden indometazin başka ilaçla birlikte kullanıldığında mide kanaması riskini artırır. Ayrıca indometazin β reseptör antagonistleri, anjiyotensin-1 reseptör antagonistleri ve anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE) inhibitörlerinin etkisini ortadan kaldırma etkisine sahiptir ¹⁰⁴. İndometazin kullanımı sakıncalı olan durumlar aşağıdaki belirtilmiştir ¹⁰⁴.

- Gebelik
- Emzirme
- Aktif mukoza lezyonu bulunmak
- Epilepsi ve parkinson olgularında
- Afektif bozuklukları olanlarda
- Peptik ülser
- Renal yetmezlik
- Enterokolitler
- Trombositopeni

Bu nedenle tedaviden başka bu ilacın ülser modeli oluşturulmasında kullanıma yararlı olduğu fikri ortaya çıkmıştır. Yapılan birçok çalışma sonucunda aç kalan (24 saat) sıçanlara 25-48 mg/kg dozlarda oral yolla indometazin uygulanmış ve ülser modeli oluşumu belirtilmiştir ^{105, 106}. İndometazinin akut böbrek hasarı, baş ağrısı ve dönmesi, serebral iskemi, bulantı ve kusma ve mide barsak bozuklukları gibi yan etkileri de vardır ^{107, 108}. Yaptığı yan etki nedeniyle de midede ülser neden olur.

2.8. Bitkisel Tedavinin Önemi ve Ülserdeki Yeri

Farklı türlerden olan yenilebilir yabani bitkiler, tarihi boyunca insan beslenmesi için önemli role sahip olmuştur. Yiyecek olarak kullanılmasının yanı sıra çoğunlukla taze halde

salata veya yemek olarak gıdalarla tüketilmektedir. Bunlardan başka, geleneksel olarak pek çok hastalıkların tedavisinde de kullanılmaktadır. İnsan ve hayvan sağlığı için kullanılan birden fazla ilacın hammaddesini oluşturmaktadır. Bu bitkilerin insan hayatında çeşitli hastalıklarda kullanılması son derece önemlidir. Reçetelenmiş ilaçlardan daha ucuz temin edilmesi ve halk sağlığı için daha doğal kaynak olması da tercih nedeni olmuştur. Çeşitli çalışmalarda hastalıkların önlenmesi için farklı bitki türleri kullanılmıştır^{109,110}. Yapılan bir çalışmada bitkilerin *H.pylori* üzerinde olan antimikrobiyal aktivitesi değerlendirilmiştir. Bunun için 5 bitki türünün farklı kısımları kullanılmıştır. Bitkiler farklı çözücüler (su, etanol, kloroform, aseton ekstraktları) ile ekstrakte edilmiştir. Bu ekstraktların *H. pylori* ve diğer mikroorganizmalar üzerinde olan etkileri, agar diffüzyon yöntemiyle bakılıp incelenmiştir¹¹¹. Bizim çalışmamızda da ise mide ülseri tedavisi için doğal olarak yetişen, halk arasında sıklıkla besin olarak kullanılan *Polygonum cognatum* Meissn. seçildi.

2.8. *Polygonum cognatum* Meissn

Tablo 2.1. *P.cognatum*'un bitki sistematigi

Alem	: Bitkiler
Şube	: Kapalı tohumlular
Sınıf	: İki çenekliler
Takım	: Karanfilgiller
Familya	: Polygonaceae
Cins	: Polygonum
Tür	: Polygonum cognatum ¹¹²

Polygonum cognatum Polygonaceae ailesinin bir üyesidir. Polygonaceae familyasına ait yaklaşık 48 cins ve 1200 tür vardır (*Polygonum aviculare*, *Polygonum amphibium*; *Polygonum persicaria*; *Polygonum bistorta*; *Polygonum vulgare* vb.). Kuzukulağgiller (Polygonaceae) familyasından olan *P.cognatum* yaprakları yeşil, kenar kısımları beyaz, ufak

pembe çiçekli, pembe ya da kırmızı renkli, yuvarlak bir bitkidir. Polygonum ismini Yunanca'dan “çok” anlamını taşıyan “Poly” ve “boğum” manasına gelen “gonu” sözcüklerinden almıştır ¹¹³. Mayıs-aralık ayları arasında çiçek ve meyve verir. Genel olarak toprağın üst kısmında yatık vaziyette olan tek veya çok yıllık otsu bitkidir. Zarımsı yaprak kımı gövdeyi sarar. Yaprakları eliptik biçiminde, kısa saplı ve ekseri sivri uçlu, kenarları bütün ve değişken sıra ile dizilmiştir. Pembe veya kırmızımsı renkli çiçekleri yaprakların koltuğunda kümeler halinde ve 4–5 mm boyunda olup 2-5 adedi bir aradadır. ¹¹⁴ Dünya çapındaki dağılımına bakıldığında kuzey iklimi en yoğun olarak yetiştiği bölgedir. İran-Turan fitocoğrafyası elementidir ¹¹⁵. Rusya, Orta Asya ve Kafkasya'da (Azerbaycan'da) yetişmektedir. Türkiye ve Azerbaycan'da 720-3000 m ¹¹⁶⁻¹¹⁸ yüksekliklerde yol kenarlarında, tarla sınırları, uçurumlar, yamaçlarda ve kayalarda yetişir. *P.cognatum*, özellikle Türkiye ve Azerbaycan'da sık tüketilen gıdalar arasında terapötik etkilere sahip bitki olarak tanınır ve kullanılır ^{119, 120}. Anadolu'da kozmopolitan bir dağılıma sahip, kendiliğinden yetişen bu bitki halk mutfağında besin olarak kullanılan, çiğ halde “madımak salatası” olarak ya da pişirilerek “cacığı, madımak aşısı, mıhlaması, yahnisi, çorbası, böreği, bükmesi, gözlemesi” yapılarak tüketilir. İlk başlarda sadece köylerde rağbet gören, ilkbaharda yemek için toplanan madımak köylerden şehirlere yapılan göçler sonucu şehirlerde de çok aranır olmuş, bundan dolayı büyük şehirlerde de pazarlarda satılmaya başlamıştır ¹¹³. Diğer pek çok etnobotanik bitki gibi *P.cognatum*da günlük hayatta besin olarak kullanılan ve insan sağlığı için çeşitli kısımlarının birkaç basit işlemle geçirilerek etnofarmakolojik olarak halk arasında tedavi maksadı ile yaygın olarak kullanılan bitki haline gelmiştir. Türkiye'de bu bitki yerel olarak “solucanotu, madımak, eşek madımağı, kuşekmeği, madımalak, madımak pancarı, badımalak, badımak, mercimenek, mercimelek, çobandeğeneği” ¹¹² olarak bilinir. Bu bitki yüksek miktarda flavonoidlerden kumarin, fitoteroller, K ve D vitaminleri, vitamin E (α -tokoferol), fenolikler ve doymamış yağ asitleri

(catechol, gentisic asit, gallik asit, chlorogenic asit, catechin, P- kumarik asit, kafeik asit, epikateşin, t-sinamik asit, sinapik asit, quersitrin) içerir ^{113, 121}. Bundan başka *P.cognatum* 86.21 mg/100 g'lık askorbik asit içeriği ile aynı zamanda bir C vitamini kaynağıdır. Bu bitki içeriğinde bulunan organik asitlerden dolayı hafif ekşi bir tada sahiptir ve 100 gr yenebilir kısımda 1.4 gr protein, 0.4 gr yağ, 25 mg sodyum, 55 mg kalsiyum ve 6 mg fosfor bulunmaktadır ¹²². Bununla birlikte madımak bitkisinin birçok kültür bitkisine oranla mineral içeriğinin oldukça zengin olduğu tespit edilmiştir ¹²². Besin harici Türkiye'de yapraklarından sarı rengin elde edilmesi için de kullanılır ¹²³.

Her zaman insanlar doğayı ilaç geliştirmek için bir doğal kaynak olarak görmüşler. Bu nedenle, insanlar yüzyıllar boyunca hastalıklara çare üretmek amacıyla bitkileri kullanmışlar. Günlük hayatta besin olarak kullanılan ve insan sağlığı için önemli bileşenler içeren bitkilerden biri de *Poligonum cognatum* Meissn'dir. *P.cognatum*'un tedavi amaçlı kullanılan kısımları bitkinin yer üstünde kalan kısımları, yaprağı ve tohumlarıdır. Çiçekleme zamanı bitkinin bu kısımları toplanır. Taze olarak yemeği yapıldığı gibi aynı zamanda açık havada kurutularak kullanıma hazır hale getirilir ¹²⁴. Genel olarak literatüre bakıldığında yapılan çalışmalarda *P.cognatum*'un şeker hastalığında kan şekeri düşürücü, idrar artırıcı, damar büzücü olmasından dolayı uzun süreli kanamalarda ve hemoroidlerde kullanılması belirtilmiştir ¹¹². Bunların yanı sıra kusmada ve ishalde, böbrek taşı düşürmede de büyük etkiye sahip olduğu da bilinmektedir ¹²⁵. Tohumları ise bronşitin tedavisi için kullanılmaktadır ¹²⁶. Türkiye' de farklı yörelerde halk arasında tedavi maksadı ile çeşitli şekillerde kullanılır. Örneğin, Burdur'da egzema, diyabet hastalığı ve guatr tedavisinde kullanılmıştır ¹²⁶. Erzurum'da jinekolojik hastalıklar için kullanılırken ¹²⁷, Tunceli'de ise romatizma hastalığı için tavsiye edilir ¹²⁸. Bunlardan başka antiproliferatif, diüretik, antidiyabetik ¹²⁹, dizanteri, iltihaplı yaralar, karın ağrısı, kanamalarda ve anemi gibi hastalıklarda kullanıldığı belirtilmiştir ¹¹⁴. Madımak, içerdiği fenolik birleşikler nedeni ile

diğer bitkilerin gelişimini engelleyen fitotoksik özelliğe sahip bitkidir. Genel olarak bakıldığında madımak bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde olunmuş ekstrenin inhibitör etkisi toprağın altında olan kısımlarından elde edilen ekstreya göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ¹¹³.

Yapılan bir çalışmada, *Polygonum cognatum* Meissn'in toprak üstü kısımlarından alınan ekstraktların antelmintik aktivitesi araştırılmış, çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, metanolik ekstraktın [S. Obvelata (% 66,8) ve A. Tetraptera (% 73,4)] oosit sayısını azalttığı bulunmuştur. Metanolik ekstresinde toplam fenolik bileşik (GA 48.75 ± 0.82 mg / ekstrenin g) ve tannin (30.04 ± 0.22 mg TA / ekstrenin g) yüksek bir miktarda bulunmuştur ¹³⁰. *P.cognatum* üzerinde yapılan başka bir çalışmada, antioksidan, antimikrobiyal ve antifungal; bundan başka böcek öldürücü aktivitesi ortaya koyulmuştur ^{131, 132}. Bir başka farmokolojik araştırmada *P.cognatum* bitki ekstrelerinin antibakteriyel aktivitesinin fenolik bileşiklerden kaynaklı olduğu tesbit edilmiştir ¹²⁹. Başka bir farmokolojik araştırmada ise madımağın eter ve etanollü ekstreleri *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus subtilis* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. Ancak sulu ekstresi hiçbir aktivite göstermemiştir ¹¹⁶. Başka bir çalışmada Sivas yöresinden toplanan halk arasında tıbbi amaç için çeşitli hastalıkların tedavi edilmesinde kullanıldığı bilinen *P.cognatum*'un besin elementleri konsantrasyonlarının ve in vitro antikanserojen aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Araştırmada, madımak bitkisinin meme kanseri hücre hattı (MCF-7) kullanılarak sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir. Sağlıklı hücreler üzerinde olan etkileri insanda olan epiteliyal hücreler (HUVEC) kullanılarak karşılaştırılmıştır. Araştırma bulguları besin elementleri konsantrasyonları bakımından değerlendirildiğinde, Madımak bitkisinin % 3.9 K, % 3.5 N, % 0.259 P, 144.7 mg/kg Fe, % 0.51Ca, % 0.44 Mg, 7.5 mg/kg Cu, 30.1 mg/kg Mn ve 40.3 mg/kg Zn konsantrasyonlarına sahip olduğu belirlenmiştir ¹³³. Aynı zamanda, madımak bitkisinin insan sağlıklı epitelyal hücreleri üzerinde sitotoksik

etkisi gözlenmezken, MCF-7 hücreleri üzerinde kuvvetli sitotoksik etkileri belirlenmiştir. Aynı zamanda antioksidan aktivitelerinin bulunduğu da tespit edilmiştir ¹²¹. Başka bir çalışmada da *Polygonum cognatum* Meissn. ve *A. alternata* ve üzerinde sentezlenen gümüş nanopartiküllerinin (AgNP) antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır. Antimikrobiyal etkinin araştırılmasında *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* bakteri türleri ile *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporium*, *Penicillium chrysogenum* mantar çeşitleri kullanılmıştır. Madımak ve *A. alternata* üzerinde sentezlenen AgNP'leri sadece *Fusarium oxysporium*'da antifungal etki göstermemiştir. Yine sentez sonucunda elde edilen AgNP'lerin çalışılan bütün bakteri türlerinde antibakteriyel etkisi olduğu tesbit edilmiştir ¹³⁴. Başka bir çalışmada ise; Elazığ yöresinden toplanan ve özellikle gıda olarak mevsiminde bolca tüketilen *Polygonum cognatum* Meissn (Madımak, Kuşekmeği) bitkisinin etanol, metanol, aseton ve hekzan ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri, fitokimyasal bileşenleri, antimikrobiyal ve in vitro antikanserojen aktivitelerinin araştırılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre, *P.cognatum* Meissn özütlerinin 2,2'-azino-bis 3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit radikal giderme aktivitelerinin 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) a kıyasla daha iyi sonuç verdiği görülmüştür. Elde edilen sonuçlar antioksidan ve antiproliferatif etki gösteren ve biyoaktif bileşikleri içeren *Polygonum cognatum* Meissn bitkisinin insanlar tarafından tüketilmeye devam edilebileceğini göstermiştir ¹³⁵. Başka bir çalışmada ise ekstraksiyon koşullarının serbest radikal süpürücü etki, toplam fenolik içerik ve indirgeme gücü, antioksidan özellikler üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Bu çalışmada folik asit için ideal optimizasyon koşulu 1 M NaOH ve suyun (1:99) çözücü karışımı ile, 40 °C sıcaklıkta, 60 dk boyunca, 1500 psi basınçta olduğu tespit edilmiştir. Elde edilmiş veriler antioksidan aktivite seviyelerinin çözücü bileşiminden etkilendiği belirlenmiş. Aynı şekilde de diğer optimizasyon parametrelerin değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir ¹³⁶.

Yapılan detaylı literatür çalışmalarında *P.cognatum*'un mide ülseri üzerinde olan etkilerini inceleyen bir yayına ulaşılamamıştır. Bu kapsamda bu çalışmanın yapılması planlanmıştır.

2.10. Antioksidanlar

2.10.1. Serbest radikaller

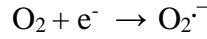
Herhangi bir molekülün veya atomun dış orbitallerinde olan bir ve birden fazla paylaşılmamış elektron bulunması, söz konusu kimyasal türün reaktivitesini artırır. Dış orbitallerinde paylaşılmamış elektron içeren bu türler serbest radikal (veya radikal) diye isimlendirilir ^{12, 58}. Hücre içinde normal metabolizma sonucunda oluşan, hücre dışı (ekstrasellüler) olarak iyonize radyasyon, kısaca ksenobiyotik etkiler veya (UV) ultraviyole radyasyon sonucu serbest radikal türlerinin maruziyeti altında kalırlar. Genel olarak ksijenden oluşan serbest radikallere reaktif oksijen türleri (Species) (ROS) denir. Hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$), süper oksit radikali ($\text{O}_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksidi (H_2O_2)'yi içerir. Azottan oluşan serbest radikallere ise reaktif nitrojen yürleri (Species) (RNS) denir ⁹. Başlıca RNS türleri arasında nitrik oksit ($\cdot\text{NO}$), nitrit ($\text{NO}_2^{\cdot-}$) ve nitrati ($\text{NO}_3^{\cdot-}$) sayılabilir. ROS'un hücre içi oksidatif modifikasyon yapacağı hedefler arasında DNA, lipit ve proteinler bulunur ¹³. Ayrıca, ROS'un üretim yeri oksitlenecek molekülün bağıl yeteneğine ve metal iyonlarının varlığı gibi birkaç faktöre bağlıdır. ROS, RNS ve diğer radikallerin saldırılarına karşı önlem için hücrelerde pekçok savunma sistemi vardır. En temel savunma moleküllerinden vitamin E ve C yi sayabiliriz. Bu ve benzeri moleküller hücrenel biyomoleküllere karşı zararı önlerler. Ayrıca daha kompleks yaklaşımları içeren enzim olarak etki gösteren SOD, CAT, Glutasyon Peroksidaz (GPx) gibi enzimler ise ROS'un miktarını yavaş bir şekilde sınırlandırabilir ^{9, 13}.

Biyolojik sistemlerdeki en büyük radikal kaynağı oksijendir. Oksijenli (aerobik) solunum yapan canlılar dışardan aldıkları besin maddelerini oksijeni kullanarak enerjiye

çevirirler. Dolayısıyla aerobik solunum yapan canlılar serbest radikallerin en fazla olduğu canlı grubudur. Bu yüzden aerobik solunum yapan canlılar serbest radikallerin etkilerine daha fazla maruz kalırlar ^{14, 134}.

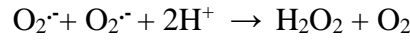
2.10.1.1. Serbest Radikal Çeşitleri

Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$). O_2 içerdiği iki elektrondan bir tanesini dışarıdan bir elektron olarak indirgenmesi sonucunda süperoksit radikali oluşur.



$O_2^{\cdot-}$ yaklaşık olarak bütün aerobik hücrelerde bulunduğundan monosit, eozinofil, nötrofil ve makrofaj gibi fagositik hücreler tarafından üretilmesi ve radikal oluşunu artırdığı bilinmektedir ¹⁴. $O_2^{\cdot-}$ radikali SOD enzimi ile yüksek hızda H_2O_2 çevrilmesinden dolayı çok az oksidatif hasara neden olurlar. Buna ilaveten asidik durumlarda H_2O_2 ve peroksil (HO_2^{\cdot}) radikallerini üreten spontan reaksiyona uğrar. $O_2^{\cdot-}$ radikallerinin başlıca zararı H_2O_2 kaynağı ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmaları nedeniyledir ¹⁵.

İki $O_2^{\cdot-}$ radikalinin bir araya gelmesinden sonuç olarak hidrojen peroksit oluşur.



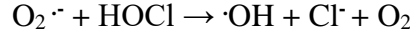
Peroksil radikali ve süperoksit radikali kendi aralarında reaksiyona girince biri indirgenirken diğeri okside olur. Oluşan dismutasyon reaksiyonu sonucu olarak ise oksijen ve hidrojen peroksit oluşur.



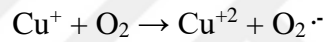
Süperoksit radikalinin nitrik oksit radikaliyle eşleşmemiş tek elektronlarını kovalent bağ yardımı ile bağlaması sonucu peroksinitrit oluşur ⁵⁵.



Hipoklorik (HOCl) asit oksijen metabolitleriyle reaksiyona girme özelliği taşıdığı için ilgi uyandırmıştır. HOCl asitin süperoksit radikali ile reaksiyonu sonucu olarak çok güçlü oksidan olan $\cdot\text{OH}$ radikalinin oluştuğu görülmüştür^{57,58}.

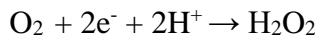
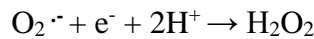


Süperoksit anyonu indirgeyici, aynı zamanda yükseltgeyici özellik taşır. Dopamin, askorbat, adrenalin ve hidroksilamini oksitler sitokrom c'yi ve nitrobluetetrazolium indirger. Redükten görevi yaptığında ferrisitokrom c'nin redüksiyonunda bir elektron kaybeder. Daha sonra oksijene okside olur. Oksidan olarak görev yaptığı zaman ise epinefrinin oksidayonunda bir elektron alır. Hidrojen peroksite indirgenir⁵⁸. Ayrıca geçiş metallerinin otooksidasyonu sonucu olarak $\text{O}_2\cdot^-$ radikali oluşabilmektedir⁶⁹.

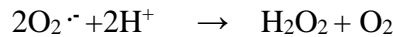


Geri dönüşümlü redoks reaksiyonları olan bahsedilen bu reaksiyonlar serbest radikal reaksiyonlarının hızlanması bakımından da büyük bir önem taşır^{58, 121, 134}.

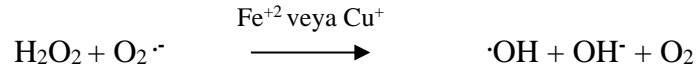
Hidrojen peroksit (H_2O_2). Hidrojen peroksitin meydana gelmesi süperoksit'in bir elektron alması ya da asidik ortamda moleküler oksijenin ortamda olan iki elektronu alması reaksiyonu sonucu oluşur^{59,70}.



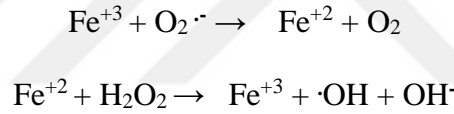
Biyolojik sistemlerde olan hidrojen peroksitin asıl kaynağı herhangi bir sistem tarafından üretilen süperoksit radikalinin dismutasyon reaksiyonu olduğu bilinmektedir. Bunun yanı sıra glukoz oksidaz, urat oksidaz ve D-aminoasit oksidaz gibi enzimler elektronunun ikisini oksijene vererek H_2O_2 oluştururlar^{59,69}.



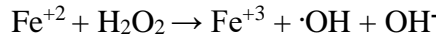
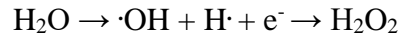
H₂O₂ kendi başına olduğu zaman zayıf oksidant özelliğine sahip olur. Bu ortaklanmamış elektron içermekten kaynaklıdır. H₂O₂ hücreler tarafından selenyum içeren glutatyon peroksidaz, belirli peroksidazlar, katalaz tarafından aradan kaldırılabilir. H₂O₂ serbest bir radikal olmasa bile, SOR içine girerek serbest radikaller içerisinde önemli bir role sahip olur. Çünkü Cu ve Fe gibi geçiş metalleri varlığında süperoksit ile reaksiyona girerek en zarar verici, aynı zamanda en reaktif serbest oksijen radikali sayılan hidroksil radikalini oluşturmak için kolay bir şekilde yıkılabilir^{15, 59}.



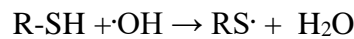
Haber-Weiss reaksiyonu adlandırılmış bu reaksiyon katalizörsüz veya katalizörlü olarak oluşabilir. Lakin katalizörsüz olduğu zaman çok yavaş ilerler. Bu reaksiyonda ilk başta Fe⁺³ süperoksit tarafından Fe⁺² indirgenir. Ardından Fe⁺² kullanılarak Fenton reaksiyonu ile ·OH ve OH[·] üretilir^{60, 61}. Reaksiyon aşağıdaki şekildedir^{69, 134}.



Hidroksil radikali (·OH). Hidroksil radikalleri, suyun yüksek enerji etkisi ile iyonlarına ayrılması, aynı zamanda fenton reaksiyonu sonucu ile oluşan reaktif oksidan radikaldir. ·OH radikali özellikle biyolojik moleküller üzerine saldırır, olduğu yerde pekçok hasara yol açan çok hareketli bir oksidandır⁶².



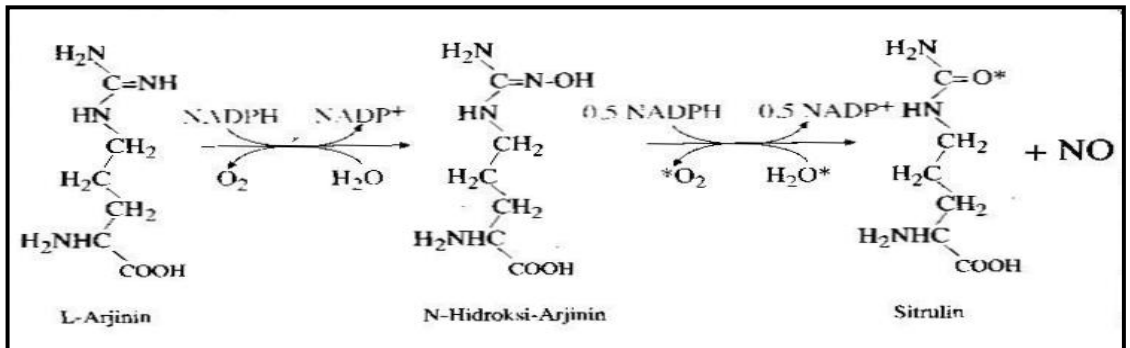
·OH radikali birden fazla biyolojik molekülden hidrojen atomu koparabilir. Bunlardan biri de tiollerdir.



Sülfür radikali de oksijenle reaksiyon sonucu birleşerek sülfenil (RSO[·]) ve tiyol peroksil (RSO₂) gibi oksisülfür radikallerini oluşturur.

Singlet Oksijen (1O_2). Singlet oksijen serbest radikal değildir. Bunun sebebi eşleşmemiş elektron veya elektronlara sahip olmamasıdır. Oksijenin eşleşmemiş elektronlardan birinin verilen enerji sonucu bulunduğu orbitalden başka bir orbitale geçmesi ya da ters yönde kendi spininin yer değiştirmesi sonucu oluşur. Fakat orbitalinde olan elektronların aynı yönlü olması 1O_2 'in diğer SOR ile okside olmasını artırmaktadır. 1O_2 başlıca olarak fotokimyasal reaksiyonlar için çok önemlidir ^{58, 62, 63}.

Nitrik oksit ($\cdot NO$). Nitrik oksit renksiz, gaz halinde, serbest radikal özelliği taşıyan basit yapıda olan bir moleküldür. *In vivo* olarak L-arginin (Arg) amino asitinden üretilir. $\cdot NO$ 'nun Arg'den sentezi nitrik oksit sentaz enzimi tarafından iki basamakla gerçekleşir. Tepkimede ilk basamak olarak Arg'in guanido azotu (Nw) hidroksillenir ve Nw-Hidroksi arjinin (N-OH-Arg) oluşur. İkinci aşamada enzime sıkı bağlı olan bu ara ürün NO'ya ve sitrülüne çevrilir. Enzimatik $\cdot NO$ sentezinin her iki aşaması da enzimin birer monooksijenaz aktivitesi sayesinde gerçekleşir. NOS tarafından 1 mol Arg'den 1 mol $\cdot NO$ sentezi için 2 mol O_2 ve 1.5 mol nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) kullanılır. Kullanılan oksijenlerin iki atomu suya indirgenirken diğer iki oksijen atomu, $\cdot NO$ ve sitrullin oluşumunda kullanılır ⁹ (Şekil 2.3). $\cdot NO$ yapısında olan oksijen atomunun kaynağı, ilk monooksijenaz aktivitesi ile Arg'e katılan atomdur. Sitrülündeki oksijen atomunun kaynağı ise ikinci monooksijenaz tepkimesi sırasında kullanılan oksijendir ^{9, 64, 65, 137}.



Şekil 2.2. Nitrik oksit sentaz tarafından katalizlenen argininden nitrik oksit oluşumu

Son zamanlarda, nitrik oksit radikali üzerine olan bilimsel araştırma yapılmıştır. $\cdot\text{NO}$ eşleşmemiş elektronları sayesinde tiyol grupları, süperoksit ve nitrojen dioksitle hızlı reaksiyonlar oluşturduğu gözlemlenmiştir. Diğer radikallerle beraber diabetes mellitus, kalp bozuklukları, septik şok, gastrik hasar oluşumunda ve Alzheimer hastalığında etkili olduğu düşünülmektedir ^{55, 59, 66}.

Nitrik oksit çok yönlü biyolojik haberci ve farklı biyolojik etkilere sahip bir kimyasal moleküldür. Başlangıçta çeşitli biyolojik fonksiyonların regülasyonunda görev alan, hücreler arası ve hücre içi haberci molekül olarak bilinmektedir ⁹. Bu görevlere örnek olarak damar düz kaslarının gevşemesine olan etkileri, sinir sistemindeki nörotransmitter fonksiyonu söylenilebilir. Lökositlerin endotel hücrelerine yapışmaları ve inflamasyonda olduğu dokuya göç etmesinde, trombosit agregasyonunun inhibisyonunda, damar permeabilitesinin kontrolünde, penil ereksiyonda, immün sistemin fonksiyonlarında, barsak ve böbreklerde tuz ve su emiliminde de NO 'un regülatör fonksiyonlara sahip olduğu gösterilmiştir ⁹. NO 'nun ayrıca hücreleri sitotoksik etkilere karşı koruyucu etkileri de tanımlanmıştır ⁹.

Diğer Serbest Radikaller: Serbest oksijen radikallerinin etkisi sonucu karbon merkezli radikaller ($\text{R}\cdot$), peroksil radikalleri ($\text{ROO}\cdot$), alkoksil radikalleri ($\text{RO}\cdot$), tiyol radikalleri ($\text{RS}\cdot$) gibi önemli serbest radikallerde oluşabilir. Bunlardan özellikle polidoymamış yağ asitlerinden meydana gelen peroksil radikali yarı ömrü uzun olan bir radikaldir. Tiyol radikalleri de tekrar oksijenle reaksiyona girerek sülfenil ($\text{RSO}\cdot$) veya tiyol peroksil ($\text{RSO}_2\cdot$) vb. gibi radikalleri oluşturabilirler ^{9, 134}.

2.10.2. Serbest radikal kaynakları

Serbest radikaller normal şekilde organizma yaşamını sürdürmesi için gereklidir. Organizmanın metabolik faaliyetini devam ettirmesi için önemli olan reaksiyonların sonunda oluşabildiği gibi aynı zamanda stress, radyasyon gibi çevresel faktörlerin etkisiyle

de oluşmaktadır. Bundan dolayı serbest radikal kaynakları eksojen ve endojen radikal kaynakları olarak ikiye ayrılır¹³⁴.

2.10.2.1. Eksojen radikal kaynakları

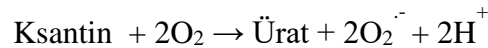
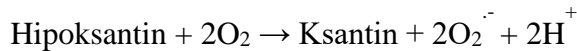
İlaç oksidasyonları, güneş ışığı, radyasyon, UV-ışınları sigara dumanı, egzoz gazları, çevresel ajanlar, kükürtdioksit ve stresdir^{58, 67, 68}.

2.10.2.2. Endojen radikal kaynakları

Küçük olan moleküllerin otooksidasyonu: Normal ortamda tiyoller, katekolaminler, hidrokinoonlar, tetrahidrobiyopterin, flavinler gibi birçok bileşik otooksidasyon reaksiyonları sayesinde serbest radikalleri oluşturur^{19, 69}.

Enzimler ve proteinler: Pekçok enzimin katalitik siklusları arasında da serbest radikaller açığa çıkar. Ksantin oksidaz, triptofan dioksijenaz ve aldehit oksidaz bu enzimlerden olup, serbest radikal oluşumuna sebep olurlar^{58, 138}.

Ksantin oksidaz normalde nikotinamid adenin dinükleotid (NAD)-bağımlı dehidrogenaz olarak etki eder. Herhangi bir serbest radikal üretimine de sebep olmaz. Ancak enzimin dehidrogenaz formundan oksidaz formuna dönüşmesine, in vivo olarak oluşturulan iskemi ve süperoksit radikalinin üretimine sebep olurlar. Ksantin oksidaz enzimi oksijen varlığında hipoksantini ksantini ürata veya ksantine oksitler. Oluşan bu reaksiyonda elektron alıcı ise moleküler oksijendir^{139, 140}.

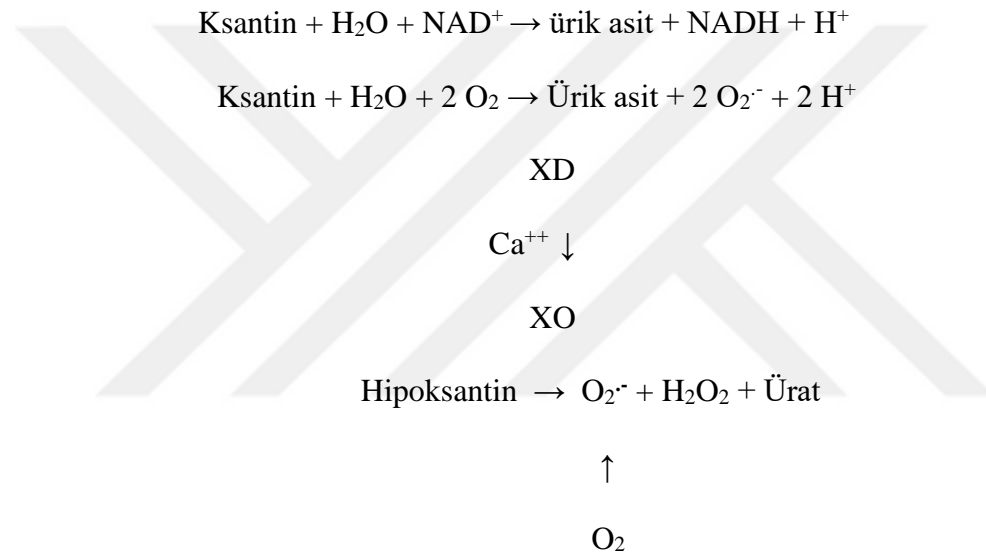


Hipoksantin ile ksantin arasındaki bu tepkimenin sonucu olarak oluşan süperoksitin yaptığı büyük hasar vasküler sistemdedir. Fakat yapılan araştırmalar ksantin oksidazın akciğer, karaciğer, böbrek gibi dokularda da hasara neden olduğu gözlenmiştir^{72, 141}.

Normalde NAD, bağımlı dehidrogenaz olarak etki eder. Herhangi bir serbest radikal oluşumunda role sahip olmaz. Fakat ilk iskemi atağından sonra hücre membranı sahte

sodyum-kalsiyum pompası oluşturma eğilimine girer. Hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artması proteazların miktarı artsa bile devam eder. Bu sırada hücre ksantin dehidrogenazın (XD) ksantin oksidaz (XO)'a dönüşümüne izin verir. Bu oluşan hücre içi olayların sonunda XD enzimi dehidrojenaz formundan oksidaz formuna dönüşür ve süperoksit (O_2^-) radikalinin üretimine neden olur. Oluşan süperoksit radikalleri hızlı bir şekilde hidrojen peroksite dönüşür. Hidrojen peroksit güçlü bir radikal olmasa da, Fe^{+2} varlığında fenton reaksiyonu oluşturarak güçlü bir radikal olan hidroksil radikalinin oluşmasına neden olur ¹².

70.



Aldehit oksidaz da yapı itibariyle ksantin oksidaza benzer ve substratlarının çoğunu da aynı şekilde kullanarak süperoksit radikali üretirler ⁷¹.

Mitokondriyal elektron taşınması: Hücrelerde büyük serbest radikal kaynaklarından biri elektron taşıma sisteminden (ETS) sızan elektronlardır. Mitokondriyal ETS'den elektronlar iki yerden sızmaktadır. İlk olarak nikotinamid adenin dinükleotid hidrojen fosfat (NADH)-dehidrogenaz basamağında. İkincisi ise koenzim Q veya ubikinon basamağında olan elektron sızmasıdır. ETS'nin son basamağında elektronların O_2 'ye taşınmasından sorumlu olan sitokrom oksidaz enzimi, oksijenin %97-99'unu harcayarak suya indirger. Ancak O_2 'nin %1-3'ü, elektron transport zincirinden sızan elektronlarla bir

araya gelerek süperoksit radikalinin üretimini artırır. Böylece NAD^+ bağlı substratlar, süksinat, adenozin di fosfat (ADP) ve oksijen gibi endojen faktörler oksidatif fosforilasyonu regüle ederek mitokondriyal radikal üretimine etki gösterir ⁷².

Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri:

Endoplazmik retikulum ve nükleer membranda ise serbest radikal üretimi membrana bağlı olan sitokromların oksidasyonundan kaynaklıdır. Membrana bağlı sitokrom P-450 ve sitokrom b₅, doymamış yağ asitleri, ksénobiyotikleri redükte ederken dioksijen ve diğer substratları ise okside ederler.

Peroksizomlar: Peroksizomlar önemli hücre içi hidrojen peroksit kaynağıdır. Bu organeldeki yağ asidi açıl- CoA oksidaz, D-aminoasit oksidaz, L-hidroksilizin oksidaz ve urat oksidaz gibi oksidazlar O_2^- üretmeden büyük oranda H_2O_2 üretimine neden olurlar. Fakat katalaz aktivitesi yüksek olduğundan dolayı organelden sitozole hangi miktarda H_2O_2 geçtiği bilinmemektedir ⁵⁸.

Plazma membranı: Plazma membranı serbest radikal üretimi için kritik bir yer oluşturmaktadır. Ekstraselüler olarak üretilen serbest radikaller diğer hücre komponentlerine ulaşmadan önce plazma membranını geçmesi gerekir. Bu geçiş zamanı membranda toksik reaksiyonların oluşumuna da neden olabilirler. Membranda yer alan fosfolipitler, gliseridler, glikolipitler ve membran proteinleri serbest radikallerden etkilenirler. Yapısal proteinlerin oksidasyonu veya lipit peroksidasyonu sonucu olarak membran permabilitesinde bozukluklar meydana gelmektedir ^{15, 60}.

Su gibi membranlardan kolay geçebilme özelliğine sahip hidrojen peroksit, lipitlerin hidrofobik kısımları ve proteinleri daha iyi parçalayabileceği, aynı zamanda toksik etkisinin daha çok olacağı düşünülmektedir. Serbest radikallerin nonfagositik hücre membranlarında NADPH-oksidadz aracılığı ile üretiminin serbest radikal oluşumunun önemli kaynağı olarak bilinmektedir ⁷².

2.10.3. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller etkilerini özellikle canlı hücreler için yaşamsal öneme sahip olan DNA, proteinlere ve yağlara saldırarak gösterirler. Mitokondride oksijenli solunum sonucunda meydana gelen serbest radikallerin alveolar epitel tabakada ve DNA'ya zarar vererek yapısal ve metabolik çeşitli hastalıkların oluşmasına neden olduğu düşünülmektedir ^{59, 73}.

2.10.3.1. Serbest Radikallerin Membran Lipitleri Üzerinde Olan Etkileri

Membranlar üzerindeki birçok bileşik ve molekülün serbest radikallerden etkilenmesine rağmen, radikallerin en belirgin etkileri yağ asitleri üzerine etki ederek Lipit peroksidasyonunu (LPO) başlatmaları olarak bilinir. LPO, polidoymamış yağ asitlerinin radikaller ile oksidasyonu sonucu başlayan, otokatalitik zincir reaksiyonları şeklinde devam eden pek çok biyolojik yapıda hasarlara sebep olan reaksiyon sürecidir. LPO membranlarda oluşturduğu yıkıcı etkisi genellikle reaksiyon sırasında açığa çıkan $\cdot\text{OH}$ radikalinin membran yağ asidi yan zincirlerine saldırmasıyla oluşur. LPO ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür ^{58, 65, 73}.

Lipit peroksidasyonu başlatan ilk hareket membran ya da polidoymamış yağ asitlerinin içerdiği metilen grubundan ($-\text{CH}_2-$) bir hidrojen ($\text{H}\cdot$) atomunun çıkartılması ile başlar. Böylece tek elektron içeren $\text{H}\cdot$ 'nin uzaklaştırması sonucu karbon merkezli $-\text{CH}-$ lipit radikali meydana gelir. Oluşan lipit radikali dayanıksız bileşiktir. Bir dizi değişikliğe uğrayarak molekül içi çift bağların pozisyonlarının değişmesiyle konjuge dien yapıları ve daha sonra lipit radikallerinin moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipit peroksil radikali meydana gelir. Lipit peroksil radikalleri, membran yapısındaki diğer poli doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek yeni karbon merkezli radikaller oluşturur. Aynı zaman içerisinde kendileri de açığa çıkan $\text{H}\cdot$ parçacığı ile birleşerek lipit hidroperoksitlerine

dönüşür. Böylelikle olay kendi kendine katalizlenerek devam eder ve zincir reaksiyonlarının başlamasına neden olur ^{59, 68}.

Lipit hidroperoksitlerinin membranlarda birikmesi sonucu olarak membran fonksiyonlarında bozukluklar oluşur. Bundan başka lipit hidroperoksitleri geçiş metalleri katalizörlüğünde yıkılması sonucu çoğu zararlı olan aldehitler oluşur. LPO sonucunda ortaya çıkan çeşitli aldehitlerden en iyi bilinenleri MDA ve 4-hidroksinonenal (HNE)'dir. MDA ölçümü ile LPO'nun değerlendirilmesi yapılabilmektedir. Bu bileşikler ya hücrel olarak metabolize olurlar veya başlangıçta etkili oldukları bölgeden diffüze olup hasarlı hücrenin diğer bölümlerine yayarlar. Lipit radikallerinin hidrofobik yapıda olmasından kaynaklanarak reaksiyonların pek çoğu membrana bağlı moleküllerde meydana gelir. Aldehitler ve peroksil radikalleri membran komponentlerinin çapraz bağlanması, aynı zamanda polimerizasyonuna sebep olarak membranlarda, membrana bağlı enzimleri ve reseptörleri inaktive etmekle membran proteinlerinde de ciddi hasarlar oluşturabilirler ^{75, 76}.

2.10.3.2. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerinde Olan Etkileri

Proteinler, lipitlerle kıyaslandığında serbest radikaller tarafından daha az oranda etkilenirler. Proteinlerin etkilenme derecesi içerdikleri aminoasit kompozisyonuna bağlı olduğu bilinmektedir. Doymamış bağ ve sülfür içeren amino asitlerden (tirozin, triptofan, fenil alanin, metiyonin, histidin, sistein gibi) oluşmuş proteinler serbest radikallerden çok daha çabuk etkilenirler. Proteinlerin radikaller ile reaksiyona girmesi sonucu sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller meydana gelir. Bu karbon merkezli radikallerden karbonillerin ölçülmesi ile proteinlerde meydana gelen oksidatif hasar ölçülebilir. Serbest radikallerin oluşturduğu hasar sonucu olarak çapraz bağlanmalar, proteinlerde parçalanmalar ve proteinlerin agregasyonu olabilir. Pek çok biyokimyasal yapının, özellikle de enzimlerin yapısında bulunan proteinlerin hasar görmesi sonucu olarak hücrenin normal fonksiyonlarında bozukluklara ve enzim aktivitelerinde aksaklıklar oluşabilir ^{58, 78}.

2.10.3.3. Serbest Radikallerin DNA Üzerine Etkileri

Genetik materyalin moleküler bütünlüğünde endojen veya ekzojen faktörlerin etkisiyle meydana gelen tüm değişiklikler “DNA hasarı” olarak adlandırılır⁸⁰. İnsan genomik DNA’sının bütünlüğü farklı DNA hasarlarına neden olan ultraviyole, kimyasal bileşikler, X-ışınları gibi çevresel faktörlerin etkisiyle, aynı zamanda hücre metabolizmasının yan ürünü olarak üretilen serbest radikaller gibi endojen ajanlar da DNA’da farklı mekanizmalar ile; tek ve çift zincir kırıklarına, baz ve şekerde lezyonlara, DNA-protein çapraz bağlanması gibi bir çok modifikasyonlara sebep olur^{56, 81-85}. Örnek olarak pürin kaybı ile apürinik alanların oluşması insan genomunda bir günde 10^4 kez meydana gelebilmektedir. Deaminasyon ile sitozinden urasil veya 5-metil sitozinden timin oluşabilir. İnsan vücudundaki her hücre DNA’sının gün içerisinde 10^3 kez oksidatif hasara maruz kaldığı fikrini ileri süren çalışmalar da vardır⁸⁶.

2.10.4. Antioksidan Savunma Sistemleri

Canlılar serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek için hücre içerisinde, aynı zamanda hücre membranında etki gösteren birçok mekanizma geliştirmişlerdir. Bu mekanizmalar hem radikal üretimini engelleyerek hem de oluşan radikallerin zararlı etkilerini ortadan kaldırmak maksadı ile tasarlanmıştır. Organizmaların oluşturduğu bu sisteme antioksidan savunma sistemi ya da antioksidanlar denilmektedir. Antioksidanlar ekzojen ve endojen kaynaklı olarak ikiye ayrılır. Bununla beraber serbest radikal oluşumunu engelleyen, mevcut radikalleri etkisiz hale getirenler veya enzim ve enzim olmayanlar olarakta sınıflandırılmaktadır.

2.10.4.1. Endojen (Doğal) Antioksidanlar

Primer Antioksidanlar (Enzimler)

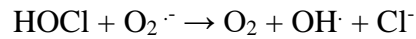
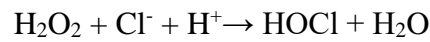
SOD Enzimi: Bu enzim süperoksitin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen bir enzimdir. SOD aktivitesi yaş artışıyla beraber paralel olarak

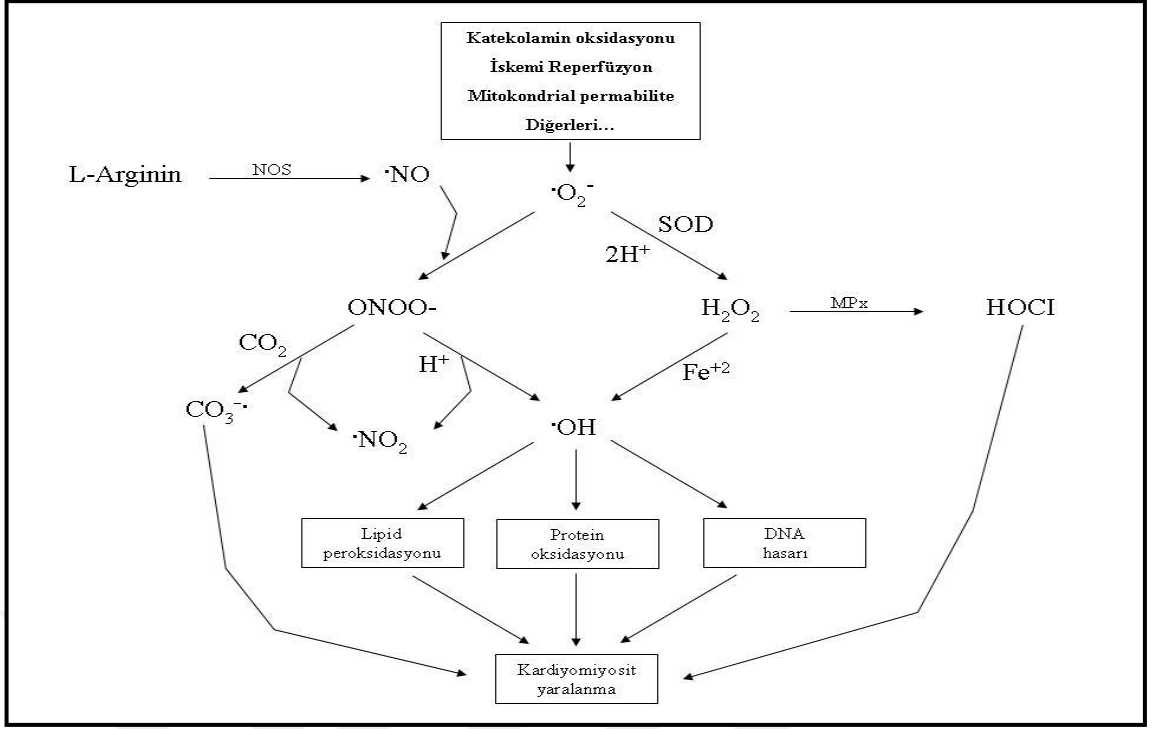
artar. SOD yaklaşık olarak tüm canlılarda vardır. Memelilerde üç tip SOD aktivitesi bulunmaktadır. Bunlar sitozolde bulunan ekstraselüler etki gösteren CuZn SOD, dimerik Cu ve Zn ihtiva eden Cu-ZnSOD ve mitokondri de bulunan tetramerik Mn ihtiva eden Mn-SOD izomerlerdir. SOD'nin Fe ihtiva eden izomeri Fe-SOD ise sadece bazı çeşit bitkilerde ve mikroorganizmalarda vardır. SOD'nin tüm çeşitleri süperoksitin dismutasyon reaksiyonunu katalizleyebilirler^{28, 29}.



Serbest radikallerin oluşturduğu yıkıcı etkinin önlenmesinde SOD enziminin katalaz enzimi ile birlikte incelenmesi gerektiği düşünülmektedir²⁹.

Miyeloperoksidaz Enzimi (MPx): Nötrofil granüllerde çok miktarda bulunan MPx enzimi H₂O₂'den hipoklorik asit (HOCl) oluşturmak üzere etkiye sahiptir. Asidik pH oluşumuna bağlı olarak MPx aktivitesi artmakta ve membranı kolayca geçen H₂O₂ bakteriye toksik etki yapmakta veya hidroksil (OH[·]) radikaline dönüşmektedir. Oluşan bu tepkimede ise HOCl yer almaktadır. H₂O₂ ile MPx Cl⁻ iyonlarını kullanarak H₂O₂'yi HOCl'ye dönüştürmektedir. Aşırı reaktif olan HOCl birçok biyolojik molekülü oksitleme görevine sahiptir^{65, 142}.



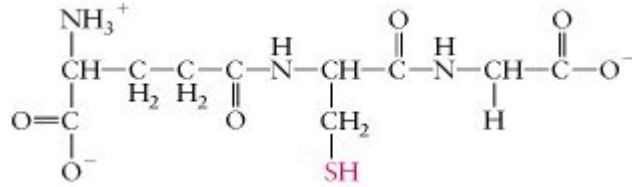


Şekil 2.3. Kardiyomiyositlerde ROS/RNS tarafından oluşan hasarın antioksidanlarla ilgili mekanizması

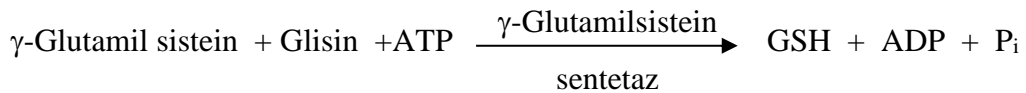
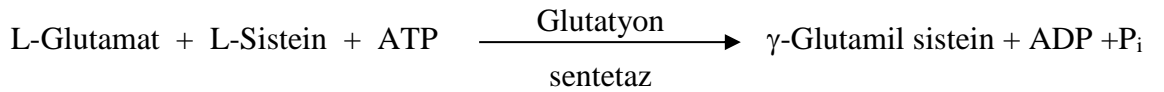
Sekonder Antioksidanlar

Glutatyon (GSH): GSH (şekil 2.4), birden fazla hücrede bulunan bir tripeptiddir.

GSH L-sistein, L-glutamat ve glisinden iki basamak sonra sentezlenir.



Şekil 2.4. Glutatyon'un molekül yapısı



GSH, hemoglobin ve diğer eritrosit proteinlerinde bulunan sistein rezidülerini indirgenmiş halde tutarak sülfhidril tamponu görevini görür. İndirgenmiş glutatyon yani GSH, aktif bölgesinde selenyum iz elementini içeren bir enzim olan GPx enzimi

katalizörlüğünde H_2O_2 ve organik peroksitlerle reaksiyona girerek antioksidan etki sergiler. Aynı zamanda H_2O_2 'yi alyuvarlardan uzaklaşmasına neden olur. H_2O_2 birikmesi hemoglobinin methemoglobine oksidasyon hızını artırarak alyuvarların yaşama süresini azaltabildiğinden bu tepkime önemlidir. Bundan başka alyuvarlarda hemoglobinin methemoglobine otooksidasyonu ile süperoksit oluşurken diğer dokularda ise bu sitokrom P 450 redüktaz ve ksantin oksidaz gibi enzimlerle oluşur^{49, 65}.

GSH, hidrojen peroksidi ya da organik oksitleri kimyasal olarak detoksifiye edebilir. GSH peptid bağından dolayı düşük enerjili bileşikler arasında kabul edebiliriz. GSH, hücre proteinlerini indirgemiş şekilde tutan disülfid-sülfidril değişimi tepkimelerinde etki sağlar. Belirli oksidaz tepkimeleriyle oluşan hidrojen peroksidi uzaklaştıran enzim GPx'e substratlık yaparak proteinlerin sülfidril gruplarını da korur. GSH yokluğunda hidrojen peroksit birikir. GSSG, GR tarafından devamlı GSH'ye indirgenerek GSH miktarı düzenlenir⁵¹.

Moleküler oksijenden türeyen oksidatif radikaller iki mekanizmayla uzaklaştırılır. Birincisi, toksik radikallerin enzimatik inaktivasyonudur. Örneğin GPx ve CAT, reaktif oksijen ara ürünlerini suya indirger. İkinci mekanizma ise oksijen radikallerini kimyasal olarak inaktive eden askorbik asit, α -tokoferol ve β -karoten gibi diyetle alınan antioksidanlarla ilgilidir¹¹¹.

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı ve Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Moleküler Farmakoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

3.1. Kullanılan Kimyasallar

Laboratuvar deneylerimizde kullanılan tüm kimyasallar Sigma Chemical Co.firmasından (Münih, Almanya) satın alınmıştır. İndometazin (Endol 25 mg; 25 kap.) DEVA Holding A.Ş. (İstanbul, Türkiye); Esomeprazol (Nexium 40 mg sekmesi) AstraZeneca Company (İstanbul, Türkiye); Tiyopental sodyum IE Ulagay A.S. (İstanbul, Türkiye) temin edilmiştir.

3.2. Kullanılan Cihazlar

Bu çalışmanın yapılabilmesi için Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji anabilim dalında bulunan;

Soğutmalı santrifüj	: Hettich Zentrifugen 320 R, Almanya
Elisa Reader	: Epoch Microplate Spectrophotometre, BioTek, ABD
pH metre	: SCHOTT Instruments Lab 850, Almanya
Hassas terazi	: Shimadzu ATX224, ABD
Etüv	: Memmert WNB 7-45, Almanya
Doku Homejenizatörü	: Tissue Lyser II Qiagen, Almanya
Otomatik Multikanal pipet	: Eppendorf Research Plus
Buzdolabı(-80)	: Nuaire NU-9483E, ABD
Magnetik karıştırıcı	: Wisd WiseStir MSH-20A, Almanya

Deneyler ayrıca farklı boyutlarda deney tüpü, balon joje, beherler, eppendorf tüpleri, cerrahi makas, cerrahi eldiven vb tüm malzemeler steril bir şekilde çeşitli laboratuvar işlerinde kullanıldı.

3.3. *Polygonum cognatum* Meissn (PC) Ekstraktının Hazırlanması

Polygonum cognatum Meissn Nisan 2019'da Khoshbulag'dan (Gence Eyaleti, 50 km, 1600 m, Azerbaycan) toplanmıştır. Bitkiler kurutulularak sıvı azot ile homojenize edildi, 50 °C'de etanol (% 70 EtOH) ile özü çıkarıldı. EtOH özü süzüldü ve buharlaştırıldı. Kuru ekstrakt su içinde süspanse edildi ve sırasıyla n-heksan ve kloroform (CHCl₃) ile ekstrakte edildi. Organik fazlar ekstraktan ayrıldı ve atıldı. Ekstraktın sulu fazı daha sonra liyofilizatör ile uzaklaştırıldı. Liyofilize ekstrakt, in-vivo ve in-vitro deneyler için belirtilen dozlarda su ile çözündürülerek hazırlandı.

3.4. Deneyde Kullanılan İlaçların Hazırlanması

Indometazin: 25 mg Endol tableti uygun dozlarda her bir sıçan için 1 ml olacak şekilde saf su içinde hazırlandı.

Esomeprazol: 40 mg ESO tableti uygun dozlarda her bir sıçan için 1 ml olmakla hesaplandıktan sonra saf su içinde dağıtıldı.

Tiyopental sodyum: Çalışmada intraperitoneal (i.p) olarak 50 mg/kg tiyopental sodyum verilerek sıçanlar sakrifiye edildi.

3.5. Kullanılan Hayvanlar

Bu çalışmada Atatürk Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde (ATADEM) üretilen ağırlıkları 220-240 gram arasında toplam 36 adet erkek Wistar albino sıçanlar kullanıldı. Hayvanların kullanımı ve bakımı ilgili ulusal düzenlemelere uygun olarak gerçekleştirilmiş ve Atatürk Üniversitesi yerel hayvan bakım komitesi tarafından (26.09.2019 tarihinde) onaylanmıştır (93722986-000-E.1900265450). Deneysel amaç için kullanılacak sıçanlar, 220 ila 240 g ağırlığındaydı ve deneyden önce oda sıcaklığında (22 ± 2°C) ayrı partiler halinde beslendi. Sıçanlar ad libitum beslendi.

3.6. Total Fenolik Madde (TFM) İçeriği Belirlenmesi

Deney Prensibi:

0,25-8 mg/ml PC ekstralarındaki total fenolik madde (TFM) miktarı, standart olarak gallik asit kullanılarak daha önce yayınlanan yöntem (Slinkard ve Singleton) ¹⁴³ göre belirlendi.

Kullanılan Reaktifler:

1. Gallik asit %70'lik metanol içinde 1 mg/ml çözelti hazırlandı.
2. Numune PC ekstraktı: 8 mg ekstrakt 10 ml saf suda çözüldü.
3. Folin ciocalteu's reaktifi: 1:10 su ile seyreltilerek folin reaktifi hazırlandı.
4. Na₂CO₃ çözeltisi %7.5: 7.5g Na₂CO₃ tartıldı ve 90ml suda çözüldü. Daha sonra su hacmi 100 ml'ye tamamlandı.

Deneyin Yapılışı:

1. PC ekstraktları tekrarlı olmak üzere eppendorf tüplerine eklendi.
2. 125 µL Folin-Ciocalteu reaktifi eklendi.
3. 5 dakika 30 C'de inkübe edildi. Sonra karışım plate kuyucuklarına eklendi.
4. 10 µL Na₂CO₃ (% 7.5) plate kuyucuklarına eklendi.
5. 90 dakika 30 C'de inkübe edildi. 765 nm'de ölçüm alındı.

Total Fenolik Madde (TFM) içeriği Hesaplanması

Elisa Reader ile 765 nm'de ölçüldü. Sonuçlar, ekstraktların miligramı başına miligram gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak ifade edildi. (mg GAE/g lyophilisate)

3.7. İndirgeyici Güç Tayini (İGT):

Deney Prensibi:

İndirgeme güç tayini (İGT), Yen ve Chen (1997) yöntemine göre belirlenmiştir ¹⁴⁴.

Kullanılan Reaktifler:

1. Numune PC ekstraktı: 8 mg ekstrakt 10 ml saf suda çözüldü, ardışık seyreltme ile 0.25 mg/ml'ye kadar 8 numune hazırlandı.
2. Fosfat Tamponu 0.2M pH=6.6: 2.72 gr KH_2PO_4 tartıldı ve 90 ml saf suda çözüldü. pH 6.6'ya ayarlandı ve son hacim 100 ml'ye tamamlandı.
3. Potasyum Ferrisiyanid $[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$ % 1: Potasyum Ferrisiyanid çözeltisi 0.5 g tartıldı ve 40 ml saf suda çözüldü. Son hacim 50 ml'ye tamamlandı.
4. Trikloroasetik asit çözeltisi (TCA) % 10: TCA 5 g tartıldı. 40 ml saf suda çözüldü. Son hacim 50 ml'ye tamamlandı.
5. FeCl_3 % 0.1: 0.1 g FeCl_3 tartıldı. 90 ml saf suda çözüldü. Son hacim 100 ml'ye tamamlandı.

Deneyin Yapılışı:

1. PC ekstraktları tekrarlı olmak üzere eppendorf tüplerine eklendi.
2. 125 μl Fosfat tamponu eppendorf tüplerine eklendi.
3. 125 μl Potasyum Ferrisiyanid eppendorf tüplerine eklendi.
4. 30 dakika 50 C'de inkübe edildi.
5. 125 μl TCA plate kuyucuklarına eklendi.
6. 3000 Rpm'de 10 dakika santrifüj edildi.
7. 125 μl süpernatantlardan plate eklendi.
8. 25 μl FeCl_3 eklendi. 700 nm'de ölçüm alındı.

İndirgeyici Güç Tayininin (İGT) Hesaplanması:

Absorbanslar 700 nm'de ölçüldü. Reaksiyon sonucu oluşan absorbans artışı artan indirgeme gücü olarak ifade edildi.

3.8. Sıçanlarda İndometazin-Ülserinin Oluşturulması ve PC'nin Verilmesi

Çalışma öncesi, sırası ve sonrasında deney hayvanlarının bakımına ilişkin yürürlükteki yasal uygulamalara özen gösterildi. Sıçanlar rastgele altı gruba ayrıldı (n=6). Deneysel gruplar; Grup-1 Kontrol (tamamen sağlıklı), Grup-2 ESO 20 mg/kg + indometazin 25 mg/kg, Grup-3 İND kontrol, Grup-4 PC 125mg/kg + indometazin 25 mg/kg, Grup-5 PC 250mg/kg + indometazin 25 mg/kg, Grup-6 PC 500mg/kg + indometazin 25 mg/kg olarak isimlendirildi ve gruplandırıldı. Tüm deneysel gruplar ilaç uygulamasından 16 saat önce aç bırakıldı. Çalışmaya 3 gün süreli adaptasyon süreci sonrasında başlandı. Bu süre zarfında sıçanlara verilecek olan kimyasal maddelerin miktarları hesaplandı. ESO 20 mg/kg, PC 125, 250, 500 mg/kg ve musluk suyu yukarıda belirtilen doz ve miktarlarda oral olarak verildikten 5 dakika sonra da indometazin 25 mg/kg yine aynı şekilde oral yol ile verildi ¹⁴⁵. Sıçanlara oral yolla verilen ilaçlar kimyasal özelliklerine uygun çözücülerde eritilerek uygulandı. 16 G kalınlığında eğri gavaj (Harvard Apparatus) kullanılarak ilaçlar uygulandı. Uygulamalardan 6 saat sonra yüksek dozda anestezi madde (thiopental sodium, 50 mg/kg) kullanılarak hayvanlar sakrifiye edildi ve sıçanların mideleri çıkarıldı. Mideler büyük kuvartur boyunca açılarak serum fizyolojik ile yıkandı ve makroskopik olarak mide incelendikten sonra mide dokuları biyokimyasal incelemeler için -80 °C'de saklandı. PC'nin ülser koruyucu etkileri, makroskopik ve biyokimyasal analizlere dayandırılmak suretiyle belirlendi. İND, ESO ve PC gruplarından elde edilen sonuçlar ve kontrol grubu ile mukayese edildi.

3.9. İndometasine Bağlı Ülser Modelinin Deneysel Tasarımı

Sıçanlar, her biri altı ayrı sıçandan oluşan altı gruba ayrıldı:

Tablo 3.1. Sıçanların gruplara ayrılması ve deney kurgusu.

GRUPLAR	1-3.gün	4-5.gün (16 saat)	6.gün 0.saat	6.gün 0.saat +5 dk	6. gün 6.saat
1 Sağlıklı Kontrol	Normal beslenme	Beslenme yok	Oral Su 1ml	Oral Su 1ml	
2 ESO + İND	Normal beslenme	Beslenme yok	Oral ESO (20 mg/kg)	Oral İND (25 mg/kg)	
3 İND Kontrol	Normal beslenme	Beslenme yok	Oral Su 1 ml	Oral İND (25 mg/kg)	
4 PC 125 + İND	Normal beslenme	Beslenme yok	Oral PC 125 mg/kg	Oral İND (25 mg/kg)	
5 PC 250 + İND	Normal beslenme	Beslenme yok	Oral PC 250 mg/kg	Oral İND (25 mg/kg)	
6 PC 500 + İND	Normal beslenme	Beslenme yok	Oral PC 500 mg/kg	Oral İND (25 mg/kg)	

i.P. Tiopental Disodyum-50 mg/kg

3.10. Mide Dokusunun İncelemeleri

3.10.1. Mide Dokusunun Makroskopik İncelenmesi

Gastrik lezyonların belirlenmesi için makroskopik değerlendirmeye alınan sıçan mideleri, büyük kuvartur boyunca açılarak serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra ülser sayısı ve alanları belirlendi. Alan genişlikleri ise milimetrik kağıt kullanılarak bir büyüteç yardımıyla tespit edildi.

3.10.2. Mide Dokusunun Biyokimyasal İncelenmesi

Sıçan mideleri makroskopik olarak incelendikten sonra mide dokuları biyokimyasal incelemeler için -80°C'de saklandı. Dokuların enzim aktivitelerini ölçmek için her sıçandan alınan tüm mide dokusu örnekleri, bir TissueLyser II öğütme kavanoz seti (Qiagen, Hilden, Almanya) kullanılarak sıvı azot içerisinde öğütüldü. Yaklaşık 100 mg öğütülmüş doku, Tissue Lyser II kullanılarak bir eppendorf tüpünde 1 ml PBS homojenat tamponu içinde homojenleştirildi (30 hz 3 dk) ve daha sonra santrifüjlendi. Her numune üst fazından ve

standartlarından süperoksit dismutaz aktivitesi (SOD)¹⁴⁵, glutasyon (GSH)¹⁴⁶, malondialdehit (MDA) seviyeleri¹⁴⁷ ve protein seviyeleri ELISA okuyucu¹⁴⁸ ile oda sıcaklığında literatürlere uygun metodlarla 96'lık well plate'e modifiye edilerek üç tekrar ölçüldü. Her numunenin ve standardın ortalama absorbansı hesaplandı. Standart bir eğri çizildi ve denklem standartların absorbansından elde edildi. Doğrusal SOD, GSH, MDA konsantrasyonları, TFI ve İG tayini bu denkleme göre hesaplandı. Dokulardaki SOD, GSH ve MDA seviyelerinin sonuçları, sırasıyla U/mg protein, nmol/mg protein ve nmol/ mg protein olarak ifade edildi. Tüm veriler mg protein başına ortalama \pm standart sapma (SD) olarak verildi.

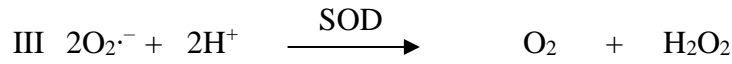
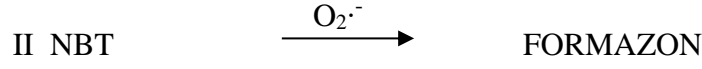
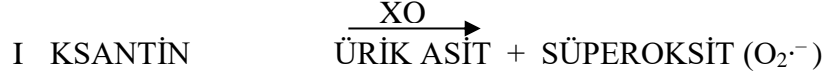


Şekil 3.1. Deneyde kullanılan doku homojenizatörü ve bilyeli öğütücü

3.10.2.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivite Tayini

Deney Prensipli: Sun ve ark. ının geliştirmiş olduğu yöntem esas alınarak gerçekleştirildi.¹⁴⁹ Bu metodun prensibi nitroblue tetrazolium' un (NBT) süperoksit üreticisi olan ksantin-ksantin oksidaz sistemi tarafından indirgenmesi esasına dayanmaktadır. Yöntemin esası, ksantin oksidaz ile ksantin oksidasyonu sırasında açığa çıkan O_2^- nin nitroblue tetrazolium (NBT)' u redükleyerek, farmazon oluşturma esasına dayanmaktadır.

SOD aktivitesi yükseldikçe, NBT ile reaksiyona giren O_2^- miktarı azalacak ve formazon oluşumu azalacaktır.



Kullanılan Reaktifler

1. Homojenat tamponu olarak PBS kullanıldı.
2. Ölçüm karışımı içerisinde 0.3 mM ksantin, 0.6 mM EDTA, 150 μ M NTB, 0.4 M Na_2CO_3 ve 1.2 g/L BSA maddeleri bulunur.
3. Ksantin oksidaz.
4. 50 mM pH: 0.8 Tris-HCl.
5. SOD standart.

Deneyin Yapılışı

Doku homojenizasyonu;

1. Dokular sıvı azot altında homojenize edildi.
2. Dokular kandan uzaklaştırmak için PBS ile yıkandı.
3. Doku başına 1 ml PBS olacak şekilde Qiagen Tissue Lyser II homojenizatörü ile homojenize edildi (30 hz 3 dk).
4. +4 °C' de 1500 g' de 15 dakika süreyle santrifüj edildi.
5. Süpernatant alınarak ölçüm yapıldı.

Çalışma 96 kuyucuklu plate' lerde gerçekleştirildi. Ölçüm aşağıdaki basamaklara göre yapıldı;

1. Kuyulara 50 µl numune ve standartlar eklendi.
2. 50 µl homojenat tamponu plate' in kör kısmına konuldu.
3. Ölçüm karışımı tüm kuyulara 200 µl eklendi.
4. Tüm kuyulara ksantin oksidaz 20 µl eklendi.
5. İlk kuyulara ksantin oksidaz eklendikten sonra 25°C'de 20 dakika boyunca inkübasyona bırakıldı.
6. İnkübe edildikten sonra 560 nm' de Elisa okuyucuda absorbans değerleri okutuldu.

SOD Enzim Aktivitesinin Hesaplanması:

Oluşan mavi-mor rengindeki formazon boyasındaki absorbans miktarları 560 nm' de 96' lık well plate kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan SOD stok çözeltisi ile oluşturulan standart grafikten yararlanarak ölçümler hesaplandı. Numunelerin SOD aktivitesi, U/mg protein olarak tarif edildi. Her bir doku faktörünün etkisi 3 kez tekrar yapılarak belirlendi.

$$\text{EU/mg doku} = \left(\frac{A_{\text{Kör}} - A_{\text{numune}}}{A_{\text{Kör}}} \right) \times 100$$

3.10.2.2. Total Glutasyon (GSH) Aktivite Tayini

Deney Prensi: Sedlak ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntem esas alınarak gerçekleştirildi ¹⁵⁰. Ölçüm ortamındaki DTNB 5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) disülfid bir kromojendir ve sülfhidril gruplu bileşikler tarafından kolayca indirgenir. Meydana gelen sarı renk 412 nm spektrofotometrik olarak ölçülebilir.

Kullanılan Reaktifler

1. Homojenat tamponu PBS kullanıldı.
2. Ölçüm tamponu; 0.2 mM EDTA içeren 200 mM Tris-HCl, pH: 8.2
3. 10 mM DTNB, metanol
4. Standart GSH stok

Deneyin Yapılışı

Doku homojenizasyonu;

1. 0.1 g (100 mg) dokuya 1 ml PBS ilave edildi.
2. Karışım, Qiagen Tissue Lyser II homojenizatörü ile homojenize edildi (30 hz 3 dk).
3. Homojenatlar, +4 °C' de 12000 rpm' de 15 dk santrifüj edildi.
4. Oluşan süpernatantlar GSH ölçümü için kullanıldı.

Ölçüm 96 kuyucuklu plate'te aşağıdaki gibi yapıldı;

1. Kuyulara 25 µl numune ve standartlar eklendi.
2. 25 µl homojenat tamponu plate'in kör kısmına konuldu.
3. Ölçüm tamponu tüm kuyulara 150 µl eklendi.
4. Tüm kuyulara DTNB 10 µl pipetlenerek karıştırıldı.
5. Plate'e gerekli yüklemeler yapıldıktan sonra 37°C'de 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
6. Daha sonra 412 nm de Elisa okuyucuda absorbans ölçümü yapıldı.

GSH Miktarının Hesaplanması:

Oluşan sarı renk miktarları 412 nm'de 96'lık well plate kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan GSH stok çözeltisi ile oluşturulan standart grafikten yararlanarak ölçümler hesaplandı. Numunelerin GSH miktarları, nmol/mg protein olarak tarif edildi. Her bir doku faktörünün etkisi 3 kez tekrar yapılarak belirlendi.

3.10.2.3. Malondialdehit (MDA) Analizi

Deney Prensipleri: Ohkawa ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntem esas alınarak ölçüm gerçekleştirildi¹⁵¹. Malondialdehit (MDA) miktarı, lipid peroksidasyonun göstergesi olarak belirtilmektedir. Lipid Peroksidasyon miktarı, tiyobarbitürik asit reaktif türlerinin konsantrasyonuna göre ölçüldü. Malondialdehit, tiyobarbitürik asit ile 90-95 °C’de reaksiyona girerek pembe renkli kromojen oluşturur.

Kullanılan Reaktifler

1. Homojenat tamponu PBS kullanıldı.
2. Ölçüm tamponu; % 8 SLS, % 0.08 TBA ve % 20 Asetik asit.
3. 1,1,3,3-Tetraethoxypropane (MDA) stok standart.

Deneyin Yapılışı

Doku homojenizasyonu;

1. 100 mg dokular kapalı tüplere alınarak içine 1 ml PBS konuldu.
2. Tüplerdeki karışım, Qiagen Tissue Lyser II ile homojenize edildi (30 hz 3 dk).
3. Oluşan homojenat +4 °C’ de 4000 rpm’ de 15 dk santrifüjlenir.
4. Tüpteki sıvı kısım (süpernatant) MDA ölçümü için kullanılır.

96 well plate’ te ölçüm şu şekilde yapıldı;

1. Kuyulara 50 µl numune ve 10 µl standartlar eklendi.
2. 10 µl homojenat tamponu plate’in kör kısmına konuldu.
3. Ölçüm tamponu tüm kuyulara 190 µl eklendi.
4. Karışım, 100 °C’ de 1 saat inkübasyona bırakıldı.
5. İnkübasyondan sonra plate’in biraz soğuması beklendi.
6. Daha sonra 532 nm de Elisa okuyucuda absorban ölçümü yapıldı.

MDA Miktarının Hesaplanması:

100 mM stok standart çözeltilisinden değişik konsantrasyonlarda hazırlanan standartlar, numunelerle aynı şartlarda çalışıldı ve oluşan pembe renk miktarları 532 nm' de 96' lık well plate kullanılarak Elisa'da okundu ve elde edilen sonuçlar ile standart grafiği çizildi. Bu grafikten elde edilen eğim sabiti numunelere uygulanarak MDA miktarı yaş gram doku başına nanomol olarak hesaplandı. Daha sonra numunelerin MDA miktarları, nmol/mg protein olarak tarif edildi. Her bir doku faktörünün etkisi 2 kez tekrar yapılarak belirlendi.

3.10.2.4. Protein Tayini

Deneyin Prensi: Ticari protein standartları [Total protein kiti-TP0300-1 KT; Sigma Chemical Co.(Münih, Almanya)] kullanılarak mide dokusunda protein tayini yapılması Lowry yöntemiyle belirlenmiş ve bu metoda göre ölçüm yapılmıştır. Bu yöntemle göre peptik bağları ile alkali bakır tartarat ayırıcı kompleks oluşturur. Bakır ile işleme tabi tutulmuş karışıma fenol ayırıcı eklendiğinde renk oluşumunun mor-mavi olduğu gözlemlenmektedir. Sonda elde edilen bu renk 650 nm dalga boyunda okutulmuştur.

Kullanılan Reaktifler

1. Lowry Reagent Solüsyonun Hazırlanması: Bir şişe Lowry Reagent içine 40 ml saf su eklenerek solüsyon hazırlanır ve iyice karıştırılır.
2. Folin & Ciocalteu's Phenol Reagent (Working) Solüsyonun Hazırlanması: 450 µl Folin & Ciocalteu's Phenol Reagent 4.75 ml saf su eklenerek hazırlanır.
3. Protein Standart Solüsyonun Hazırlanması: 32 mg BSA 20 ml saf su ile çözülerek hazırlanır.

Deney Prosedürü

Standartlar hariç tüm kuyulara 95 µl saf su konur.

1. Numuneler kuyulara (well) 5 µl eklenir. Standartlar 100 µl eklenir.
2. 10 dakika plate'i shaker ile sallayarak inkübe edilir.

3. 50 µl Lowry Reagent solüsyonu her kuyuya karıştırılır (standart ve kör dahildir).
4. 20 dakika oda sıcaklığında inkübe edilir.
5. 50 µl Working solüsyonu tüm kuyulara eklenir.
6. 30 dk oda sıcaklığında inkübe edilir.
7. 750 nm'de (optimum değer) Elisa'da ölçüm yapılır.

Dokuda Protein Hesaplanması:

$$\mu\text{g protein / ml} = (\text{Örnek Abs. / Std. Abs.}) \times \text{Std. Konsantrasyonu}$$

3.11. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler ve karşılaştırmalar SPSS 20.0 software programı kullanılarak yapıldı. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak verildi ve 0.05' in altındaki P değerleri, istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi. Gruplar arası farkın önemlilik derecesi One-Way ANOVA testinde Post Hoc çoklu karşılaştırmalı testlerinden Duncan testi ile yapıldı. Her bir farklı harf diğer gruptan istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir. Aynı harfler gruplar arasındaki farklılığın anlamsız olduğunu göstermektedir.

4. BULGULAR

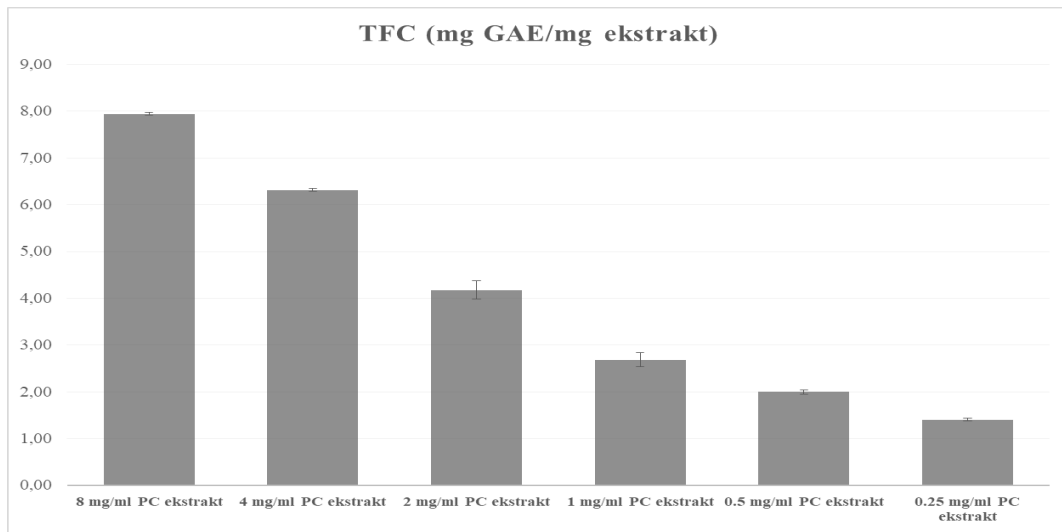
Yapmış olduğumuz çalışmadan elde olunan veriler grafik, tablo ve şekiller halinde aşağıda verilmiştir.

4.1. Total Fenolik Madde Sonuçları

Materyal&metod kısmında belirtilen hazırlanmış ekstreden, ön denemeler sonucunda karar verilmiş 8 mg/ml'lik stok su ekstresi hazırlanmıştır. Elde edilen stok ekstreden sıralı % 50 dilüsyonla 8 mg/ml'den 0,25 mg/ml'ye değişen dozda PC ekstraktlarının toplam fenolik madde içerikleri (TFM) Tablo 4.1'de ve Şekil 4.1'de gallik asit eşdeğerleri (GAE) olarak ölçüldü. Tablo 4.1'de ve Şekil 4.1'de den görüldüğü gibi, PC ekstraktlarının düşük dozdan yüksek doza doğru yüksek TFM'ye sahiptir.

Tablo 4.1. PC Total fenolik madde içeriği

Ekstrakt dozları	mg GAE/mg ekstrakt
8 mg/ml PC	7.94 ± 0.03
4 mg/ml PC	6.32 ± 0.03
2 mg/ml PC	4.18 ± 0.20
1 mg/ml PC	2.68 ± 0.15
0,5 mg/ml PC	2.00 ± 0.04
0,25 mg/ml PC	1.41 ± 0.03



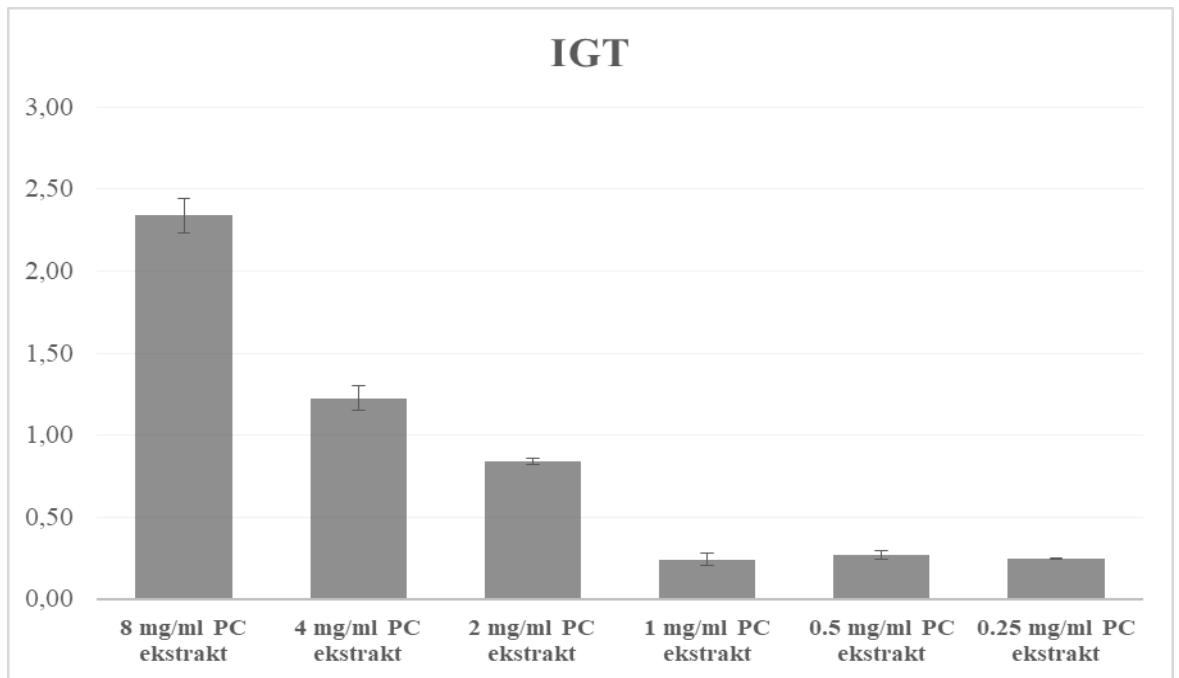
Şekil 4.1. PC Total Fenolik Madde içeriği

4.2. İndirgeyici Güç Tayini Sonuçları

Materyal&metod kısmında belirtilen hazırlanmış ekstreten, ön denemeler sonucunda karar verilmiş 8 mg/ml'lik stok su ekstresi hazırlanmıştır. Elde edilen stok ekstraden sıralı % 50 dilüsyonla 8 mg/ml'den 0,25 mg/ml'ye azalan dozda PC ekstraktlarının indirgeyici güç tayini (İGT) Tablo 4.2, Şekil 4.2'deki gibi ölçüldü. Tablo 4.2, Şekil 4.2'den görüldüğü üzere, PC ekstraktlarının düşük dozdan yüksek doza doğru yüksek indirgeyici güce sahip olduğu belirlenmiştir.

Tablo 4.2. PC İndirgeyici Güç Değerleri

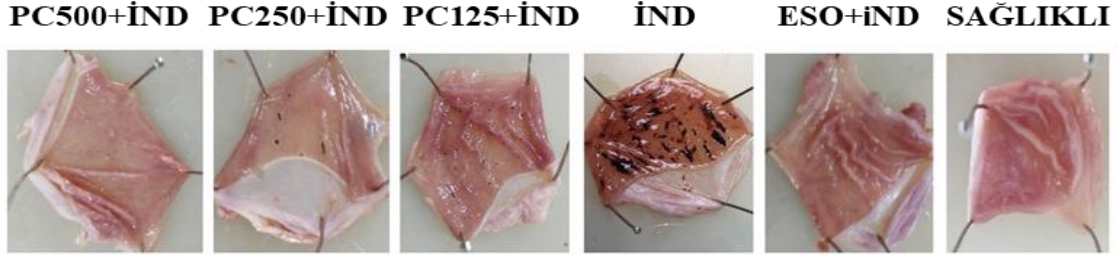
Ekstrakt dozları	İndirgeyici Güç Değerleri mg/ml
8 mg/ml PC	2,34 ± 0,10
4 mg/ml PC	1,23 ± 0,08
2 mg/ml PC	0,84 ± 0,02
1 mg/ml PC	0,24 ± 0,04
0,5 mg/ml PC	0,27 ± 0,03
0,25 mg/ml PC	0,25 ± 0,00



Şekil 4.2. PC İndirgeyici Güç Tayin'i Sonuçları.

4.3. İndometazine Bağlı Ülser Alanlarının Değerlendirilmesi

İn-vivo deney protokolü tamamlandıktan sonra siçanların midelerinden elde edilen dokulardaki ülser alanları Tablo 4.3 ve Şekil 4.4 ve makroskopik resimleri Şekil 4.3 gösterilmiştir.



Şekil 4.3. İndometazine bağlı ülser alanlarının makroskopik görüntüleri.

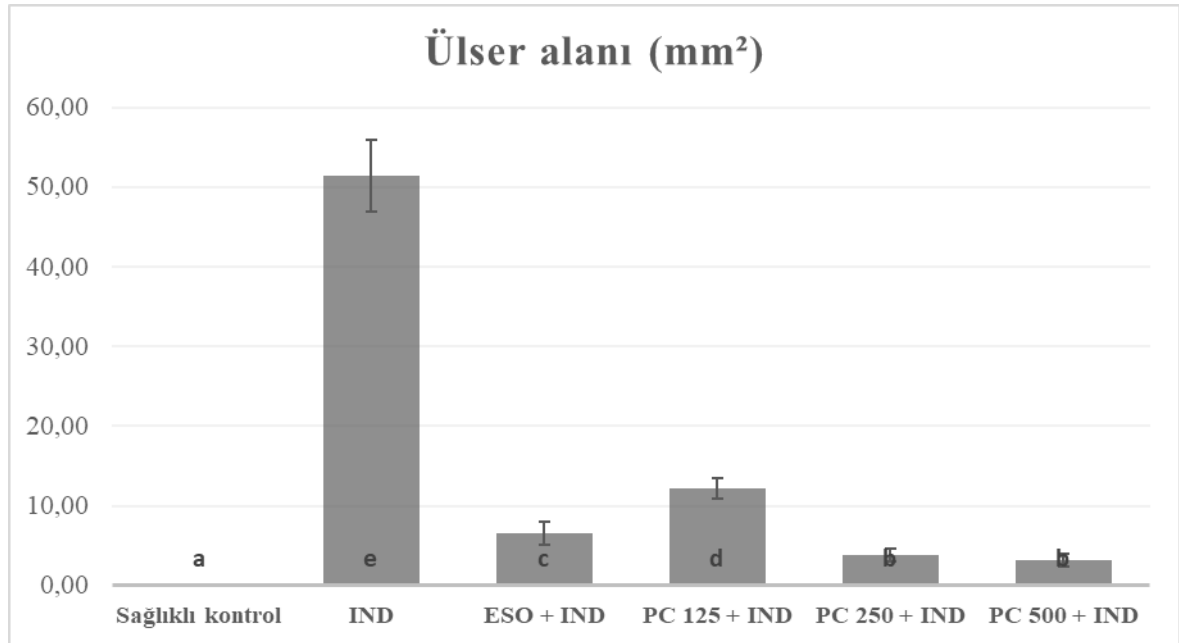
Numunelerin ülser alanları, mm^2 olarak tarif edildi. Tablo 4.3’de ve Şekil 4.4’de görüldüğü üzere ülser alanı sağlıklı kontrol grubunda 0.00 ± 0.00 , ESO + İND grubu midelerinde 6.60 ± 1.43 , İND grubunda 51.43 ± 4.47 ve PC ’nın 125, 250, 500 mg/kg dozları ile muamele edilen gruplarda ise sırası ile 12.20 ± 1.23 , 3.80 ± 0.79 ve 3.20 ± 0.79 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar bize ülser alanında sağlıklı kontrol grubuna göre İND grubunun istatistiksel olarak önemli oranda daha fazla olduğunu göstermiştir ($P < 0.05$). İND grubuna göre ekstre uygulanmış PC 125, 250 ve 500+İND grubunlarında ise ülser alanlarının istatistiksel olarak daha düşük olduğu belirlenmiştir. PC 250+İND ve PC 500+İND grupları ESO+İND kontrol grubuna göre kıyaslandığında ülser alanı bir birine eşit olmakla beraber ESO kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha güçlü ülser koruyucu etki olduğu belirlenmiştir. PC 125+İND grubuna göre ise ESO kontrol grubu daha güçlü koruyucu etki göstermiştir ($P < 0.05$).

Tablo 4.3. Deney gruplarının ülser alanları

Uygulamalar	Doz mg/kg	N	Ülser Alanı		
			mm ²	% Kontrol	P
Sağlıklı kontrol		6	0.00 ± 0.00	0	P<0.05
İND	25	6	51.43 ± 4.47	-	
ESO + İND	20	6	6.60 ± 1.43	87	P<0.05
PC + İND	125	6	12.20 ± 1.23	76	P<0.05
PC + İND	250	6	3.80 ± 0.79	92	P<0.05
PC + İND	500	6	3.20 ± 0.79	94	P<0.05

Antiülser etki (%)= İG - DG / İG X 100

(İG; İND grubu ülser alanıdır. DG ise deney gruplarının ülser alanıdır.)



Şekil 4.4. Deney gruplarının ülser alanları

***Sağlıklı kontrol: Sağlıklı, ESO: Esomeprazol, İND: İndometazin, PC: polygonum cognatum.

Grafikteki her bir sütundaki değişik harflerle belirtilen sonuçlar arasında One-way Anova Post Hoc Duncan testine göre istatistiksel açıdan anlamlı fark olduğunu göstermektedir (p<0,05)

4.4. Biyokimyasal Sonuçlar:

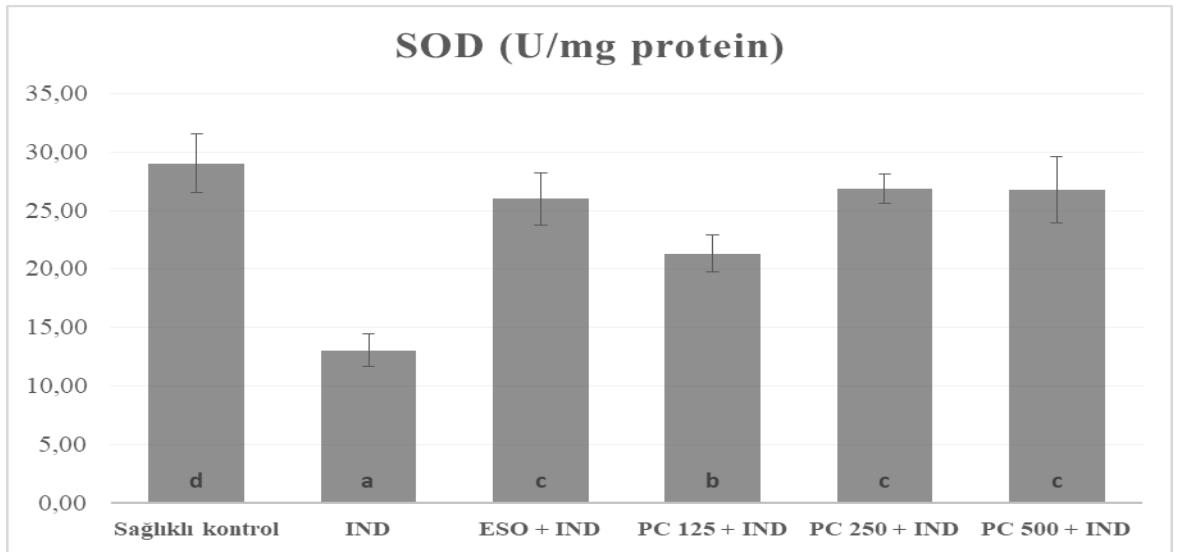
4.4.1. Süperoksit Dismutaz Aktivitesi Üzerine PC'nin Etkileri

Bitki ekstresi halinde uygulanan PC (150, 250, 500 mg/kg), ESO, İND ve kontrol gruplarının mide dokularındaki SOD aktivitelerini gösteren sonuçlar Tablo 4.4. ve Şekil 4.4' de gösterilmiştir. SOD aktiviteleri kontrol grubunda 29.00 ±2.50, ESO+İND grubu midelerinde 25.99 ±2.24, İND grubunda 13.06 ± 1.37 ve İND ile birlikte uygulanan PC'nin

125, 250, 500 mg/kg dozları ile muamele edilen gruplarda ise sırası ile 21.33 ± 1.61 , 26.86 ± 1.27 , 26.78 ± 2.81 olarak tespit edilmiştir. Tablo 4.4. ve Şekil 4.4' den de görüleceği gibi sağlıklı kontrol grubu ile mukayese edildiğinde en güçlü İND grubu olmak üzere tüm gruplarda önemli oranda SOD aktivitesinin azaldığı belirlenmiştir ($P < 0.05$). İND kontrol grubuna göre ESO+İND grubunda artmış SOD aktivitesinin PC 125, 250 ve 500 gruplarında da istatistiksel olarak arttığı belirlenmiştir ($P < 0.05$). Diğer yandan PC 250 ve 500 mg/kg gruplarındaki artmış SOD aktivitesi ESO+İND grubuna istatistiksel olarak eşdeğer olmuştur. SOD aktivitesi, seyrelme faktörleri dikkate alınarak U/mg doku olarak tanımlanmıştır.

Tablo 4.4. PC'nin SOD aktivitesi üzerinde olan etkileri.

Uygulamalar	Doz mg/kg	N	SOD aktivitesi		
			U/mg	% Kontrol	P
Sağlıklı kontrol		6	29.00 ± 2.50	122	$P < 0.05$
İND	25	6	13.06 ± 1.37	-	
ESO + İND	20	6	25.99 ± 2.24	99	$P < 0.05$
PC + İND	125	6	21.33 ± 1.61	63	$P < 0.05$
PC + İND	250	6	26.86 ± 1.27	105	$P < 0.05$
PC + İND	500	6	26.78 ± 2.81	105	$P < 0.05$



Şekil 4.5. Sıçan serumundaki SOD aktivitesinin grafikte gösterilmesi

***Sağlıklı kontrol: Sağlıklı, ESO: Esomeprazol, İND: İndometazin, PC: polygonum cognatum. Grafikteki her bir sütundaki değişik harflerle belirtilen sonuçlar arasında One-way Anova Post Hoc Duncan testine göre istatistiksel açıdan anlamlı fark olduğunu göstermektedir ($p < 0,05$)

4.4.2. Glutasyon Üzerine PC'nin Etkileri

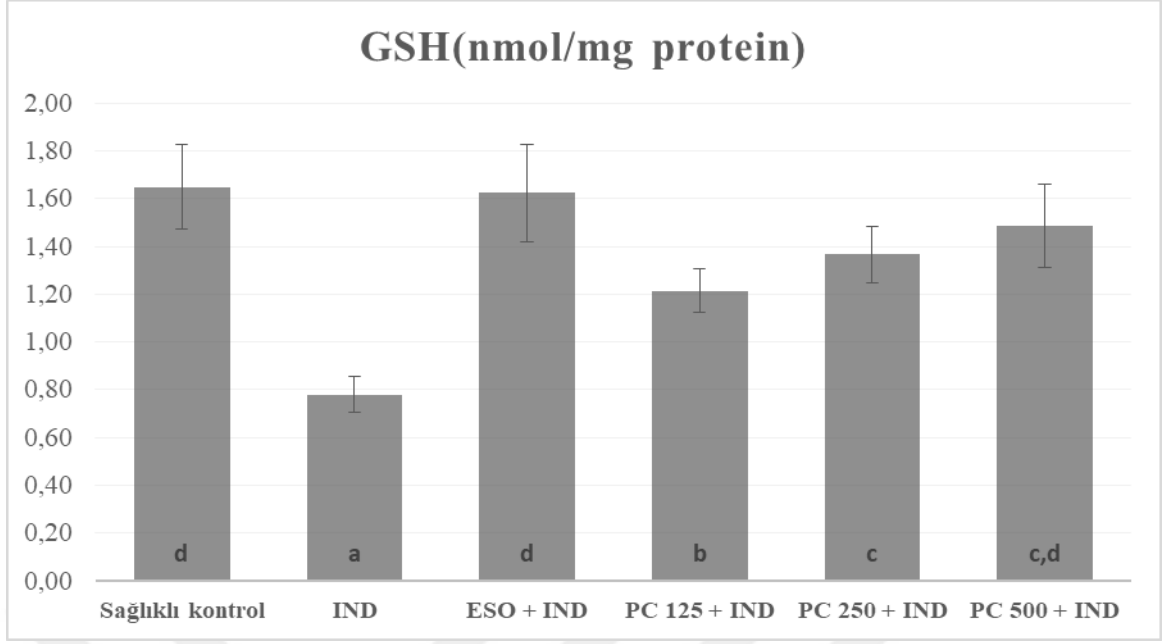
Bitki ekstresi halinde olan PC (125, 250, 500 mg/kg), ESO+ İND, İND ve sağlıklı kontrol gruplarının mide dokularında belirlenen GSH miktarlarını gösteren sonuçlar Tablo 4.5. ve Şekil 4.5. gösterilmiştir. Tablo 4.5. ve Şekil 4.5'dan görüldüğü üzere GSH miktarları sağlıklı kontrol grubunda 1.65 ± 0.17 , ESO+ İND grubu midelerinde 1.62 ± 0.20 , İND grubunda 0.78 ± 0.08 ve PC'nin 125, 250 ve 500 mg/kg dozları ile muamele edilen gruplarda ise sırası ile $1,21 \pm 0.09$, $1,37 \pm 0.12$ ve $1,49 \pm 0.18$ olarak tespit edilmiştir.

Tablo ve şekilden de görüleceği gibi sağlıklı kontrol grubu ile mukayese edildiğinde en güçlü İND grubu olmak üzere ESO+İND ve PC+500 grupları hariç olmak üzere tüm gruplarda önemli oranda GSH seviyesinin azaldığı belirlenmiştir ($P < 0.05$). İND kontrol grubuna göre ESO+İND grubunda artmış GSH seviyesinin PC 125, 250 ve 500 gruplarında da istatistiksel olarak arttığı belirlenmiştir ($P < 0.05$). Diğer yandan PC 500+İND gruplarındaki artmış GSH seviyesi ESO+İND grubuna istatistiksel olarak eşdeğer şekilde olmuştur. GSH seviyesi seyrelme faktörleri dikkate alınarak *nmol/mg protein* olarak tarif edildi.

Gulutasyon Miktarı:

Tablo 4.5. PC'nin GSH üzerinde olan etkileri.

Uygulamalar	GSH miktarı				
	Doz mg/kg	N	nmol/mg	% Kontrol	P
Sağlıklı kontrol		6	1.65 ± 0.17	111	$P < 0.05$
İND	25	6	0.78 ± 0.08	-	
ESO + İND	20	6	1.62 ± 0.20	107	$P < 0.05$
PC + İND	125	6	1.21 ± 0.09	55	$P < 0.05$
PC + İND	250	6	1.37 ± 0.12	75	$P < 0.05$
PC + İND	500	6	1.49 ± 1.18	91	$P < 0.05$



Şekil 4.6. Sıçan serumundaki GSH seviyesinin grafikte gösterilmesi.

***Sağlıklı kontrol: Sağlıklı, ESO: Esomeprazol, İND: İndometazin, PC: polygonum cognatum. Grafikteki her bir sütundaki değişik harflerle belirtilen sonuçlar arasında One-way Anova Post Hoc Duncan testine göre istatistiksel açıdan anlamlı fark olduğunu göstermektedir ($p < 0,05$)

4.4.3. Malondialdehit Aktivitesi Üzerine PC'nin Etkileri

PC (125, 250, 500 mg/kg), ESO + İND, İND ve sağlıklı kontrol gruplarının mide dokularında belirlenen MDA aktivitelerini gösteren sonuçlar Tablo 4.6 ve Şekil 4.6'da gösterilmiştir. Tablodan görüldüğü üzere MDA aktiviteleri kontrol grubunda 0.86 ± 0.07 , ESO+İND grubu midelerinde 0.92 ± 0.19 , İND grubunda 1.71 ± 0.17 ve İND ile birlikte uygulanan PC'nin 125, 250, 500 mg/kg dozları ile muamele edilen gruplarda ise sırası ile 1.12 ± 0.14 , 0.92 ± 0.14 ve 0.94 ± 0.10 olarak tespit edilmiştir.

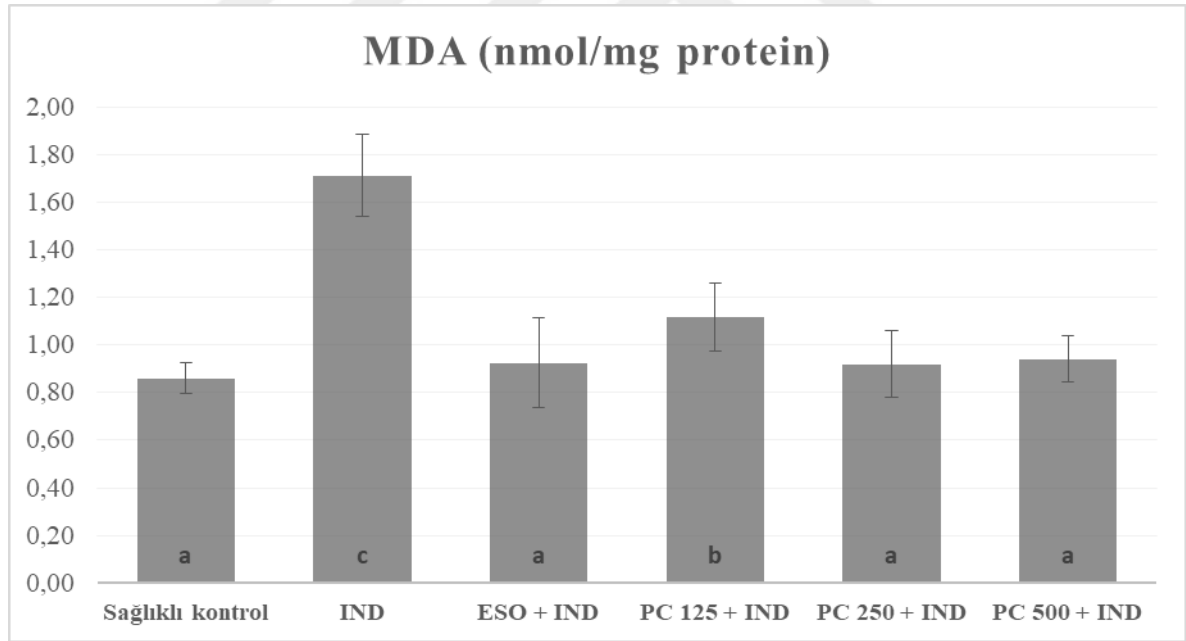
Tablo 4.6. ve Şekil 4.6' dan da görüleceği gibi sağlıklı kontrol grubu ile mukayese edildiğinde İND grubunun çok daha önemli oranda ve PC+125 grubunun ise önemli oranda olmak üzere MDA seviyesinin arttığı belirlenmiştir ($P < 0.05$). İND kontrol grubuna göre azalmış ESO+İND MDA seviyesinin PC 125, 250 ve 500 gruplarında da istatistiksel olarak azaldığı PC 250 ve PC 500 gruplarında ise kontrole eşdeğer olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$). Diğer yandan PC 250 ve 500 mg/kg gruplarındaki azalmış MDA seviyesi ESO+İND ve

sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak eşdeğer olmuştur. MDA seviyesi, seyrelme faktörleri dikkate alınarak alınarak *nmol/mg protein* olarak tarif edildi.

Malondialdehit Aktivitesi:

Tablo 4.6. PC'nin MDA aktivitesi üzerinde olan etkileri.

Uygulamalar	Doz mg/kg	N	MDA aktivitesi		
			nmol/mg	% Kontrol	P
Sağlıklı kontrol		6	0.86 ± 0.07	49	P<0.05
İND	25	6	1.71 ± 0.17	-	
ESO + İND	20	6	0.92 ± 0.19	46	P<0.05
PC + İND	125	6	1.12 ± 0.14	34	P<0.05
PC + İND	250	6	0.92 ± 0.14	46	P<0.05
PC + İND	500	6	0.94 ± 0.10	45	P<0.05



Şekil 4.7. Sıçan serumundaki MDA miktarının grafikte gösterilmesi

***Sağlıklı kontrol: Sağlıklı, ESO: Esomeprazol, İND: İndometazin, PC: polygonum cognatum.

Grafikteki her bir sütundaki değişik harflerle belirtilen sonuçlar arasında One-way Anova Post Hoc Duncan testine göre istatistiksel açıdan anlamlı fark olduğunu göstermektedir (p<0,05)

5. TARTIŞMA

Bu çalışma, *Polygonum cognatum* Meissn'in etanol ekstraktının total fenolik içerik, indirgeyici güç düzeyleri ve *P.cognatum* ekstraktının artan konsantrasyonlarında (125 mg/kg'dan 500 mg/kg'a) gastroprotektif koruyucu etkisi sıçanlarda indometazin ile indüklenen mide ülseri modelinde referans ilaç olan esomeprazol ile kıyaslanarak araştırdık ve *Polygonum cognatum* Meissn'in etanol ekstraktının kullanılan her dozunda mideyi indometazin ülserinden koruması yanında özellikle 250 ve 500 mg/kg dozunda esomeprazoldan daha iyi koruduğunu buldu.

Yapılan bir çalışmada, sıçanlarda indometazin tarafından üretilen mide ülserleri, konum ve histoloji açısından bir insan mide ülserini taklit ettiği belirtilmiştir¹⁶. Bu nedenle, indometazine bağlı sıçan modeline sahip mide ülseri, yeni geliştirilen ilaçların, tıbbi bitkilerin, aktif bileşenlerin ve birçok yeni terapötik koruyucu etkileri belirlemek için en popüler ve sık kullanılan yöntemdir. Yapılan literatür taramasından bitkilerden elde edilen çeşitli pekçok bitki ekstraktının ve aktif bileşenlerin indometazine bağlı olarak gelişen ülser üzerine koruyucu etki gösterdiği belirlenmiştir^{16, 32, 132, 152, 153}.

Tıp ve veterinerlikte insanların ve hayvanların sağlığını korumak için kullanılan kimyasal etkin maddeler ve ilaçlar bazen yan etkiler oluşturabilmektedir. Bundan dolayı da doktorlar ve veteriner hekimler hem hastalıkların tedavisi için hem de koruyucu hekimlikte yaptıkları araştırma ve çalışmaların pek çoğunda bitkisel ürünlerin kullanımını daha üstün tutmaktadırlar¹⁵⁴. Günümüzde tıbbi bitkiler dünya çapında mide ülseri ve pekçok hastalıkların tedavisi için yaygın olarak kullanılmaktadır. Daha az yan etkisi olması ve aynı zamanda besleyici ve destekleyici bir potansiyele sahip olması nedeniyle sentetik ilaçlarla kıyaslanıldığında bitkisel ürünler daha çok tercih edilmektedir¹⁵⁵. Bu bitkilerden biri de ülkemizde çoğunlukla yüksek kesimlerde dağ yamaçlarında bulunan *P.cognatum*'dur. Ülkemizde ve Azerbaycanda pek çok isimle adlandırılan genellikle madımak olarak bilinen

P.cognatum, Polygonum cinsinden yenilebilir bir ot bitkisi olup tıbbi maksatla da kullanılır. *P.cognatum* Türkiye ve Azerbaycan halkı tarafından sıkça gıda olarak tüketilen bir bitkidir. Literatürde ve halk hekimliğinde bu bitkinin toksik veya yan etkisi olduğu bildirilmemiştir. *P.cognatum*, Türk halk hekimliğinde diüretik, böbrek taşı, diş eti iltihabı, diyabet tedavisi ve bunun yanı sıra solucanlar aleyhine çeşitli tedavi maksatlarıyla kullanılmaktadır^{14, 116, 117, 120, 156}. Literatür taramalarından *P.cognatum*, bitkinin antioksidan, antimikrobiyal, antifungal, antihelmintik potansiyel, MCF-7 kanser hücreleri çizgileri üzerinde olumlu etkilerinin olduğu tespit edilmiştir¹²¹. İçeriğinde kumarin, salisilik asit, kuersitrin, kateşin, klorojenik asit, kafeik asit, epikateşin, p-kumarik asit, sinapik asit ve t-sinamik asit fenolikleri (tanenler, flavonoid glikozitler steroller, triterpenler, poliyuronitler ve saponinler)^{113, 132} barındırdığı bundan başka içerisinde bulunan gallik asit, katekol, gentisik asit¹⁵² nedeniyle böcek öldürücü aktivitelere sahip olduğunu ortaya gösterilmiştir^{131, 132}. İçeriğinde barındırdığı antioksidan moleküllerin çokluğu nedeniyle *P.cognatum*'un fizyolojik ve farmakolojik etkileri olması şaşırtıcı değildir. Son araştırmalarda bitkilerin antioksidan-oksidan durumu ile ilgili çalışmalar dikkat çekmeye başlamıştır. Bu çalışmalar da, in-vivo çalışmalardan başka bitkilerin antioksidan kapasitesi, total fenolik içerikleri ve indirgeyici güç analizleri yapılarak bitkilerin potansiyeli hakkında geniş bir bilgi verilmektedir^{135, 157}. Bu çalışmada da *P.cognatum*'dan elde edilen etanol akstraktında toplam fenolik içeriği ve indirgeyici güç tayini belirlendi. Daha önce yapılan çalışmalarda *P.cognatum* içeren pek çok ekstrenin ve içeriğindeki bileşenlerin antioksidan aktivite, total fenolik içerik ve indirgeyici güç kapasiteleri bakımından seviyeleri bildirilmiştir. Bu çalışmada da *P.cognatum* etanol ekstresinin 0.25 mg/ml'den 8 mg/ml'ye kadar artan dozlarda hem fenolik içerik bakımından hem de indirgeyici güç bakımından seviyelerinde artış olduğu belirlenmiştir. Bu artış literatür taraması zamanı Pekdemir ve arkadaşları¹³⁵, Arslan ve arkadaşları¹⁵⁸, Arakça ve arkadaşlarının¹⁵⁹, Kanter ve arkadaşlarının¹⁶⁰ yaptığı çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

Ekstrelerimizdeki bu etki doza ve içeriğinde barındırdığı antioksidan maddelerden, fitoteroller, fenolikler, doymamış yağ asitleri, ^{113, 121} C vitamini, organik asitler, protein, kalsiyum ve fosfordan ¹²² kaynaklandığını düşünüyoruz. Aynı zamanda bitki ekstresinin yüksek etkinliğinin tek bir moleküle bağlı olmadığını, içindeki farklı bileşenlerin sinerjik etkisinden kaynaklandığını düşünüyoruz. İn-vivo yapılan deneyler sonucunda çıkan doza bağlı ülser koruyucu etki ile total fenolik içerik ve indirgeyici güç paralelik göstermektedir ^{135, 158-160}.

Daha önce bahsedildiği gibi indometazin ile oluşturulan ülser modeli standart bir yöntem olarak yerini almış ve günümüz pekçok ülser koruyucu etkisi tahmin edilen etkin madde, molekül, bitki ekstraktlarının koruyucu potansiyeli araştırılmaktadır ¹⁶¹⁻¹⁶³. Bu çalışmaları ^{135, 158 159, 160} destekler nitelikte olan çalışmamızda da İND ile indüklenen ülser modeli incelenmiştir. Bizim çalışmamızda da halk arasında mide üzerine koruyucu etkisi olduğu söylenen *P.cognatumun* mide üzerine koruyucu potansiyeli araştırılmıştır. Her bir grupta olan sıçanlara sırasıyla (sağlıklı grup hariç) İND (25 mg/kg), ESO+İND, PC125+İND, PC250+İND, PC500+İND ve musluk suyu oral yoldan gavaj yardımıyla verilmiştir. Bu uygulamalardan 6 saat sonra sonra mideleri çıkarılarak ülserli alanların sayısı ve boyutları makroskopik olarak incelendi. Yapılan tez çalışmasında indometazin ile muamele edilen sıçan midelerinde meydana gelen ülserli doku hasarı sonuçları (Tablo 4.4, Şekil 4.4.) gösterilmiştir. Sağlıklı kontrol grubunda ülser oluşmazken, ESO'nun İND ile oluşturulan ülseri önemli oranda azalttığı görüldü ($p<0.05$). PC'nin 125, 250, 500mg/kg dozlarında İND tarafından yapılan hasarı sırasıyla %76, 92, 94 oranlarında azalttığı gözlenmiştir ($p<0.05$). Standart tedavide kullanılan ESO ise İND ile oluşturulan ülseri %87 oranında ($p<0.05$) azalttığı gözlemlenmiştir. PC'nin uygulanan dozlar arasında etkili dozları 250 ve 500 mg/kg olarak uygulanan dozlar olup hatta ESO ile mukayese edildiğinde ülser önleyici etkisi daha fazla olduğu belirlendi. Literatürde yapılan bilhassa indometazin ile

oluşturulan mide ülseri modelinde fenolik içeriğe ve indirgeyici güce sahip antioksidan molekülleri barındıran etkin madde ve ekstraktların ülser koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir ¹⁶⁴⁻¹⁶⁶. Bizim ekstremizde içeriğindeki fenolik içeriğe ve indirgeyici güce sahip antioksidan molekülleri aracılığıyla bu etkiyi gösterdiğini düşünüyoruz. Bu şekliyle *P.cognatumun* ülser koruyucu etki göstermesi literatürü destekler niteliktedir ¹⁶⁷.

Yukarıda da söylenildiği gibi İND ile oluşturulan ülser modelinde gastrik ülser oluşumunun yanısıra oksidan ve antioksidan sistem arasındaki dengeyi bozarak serbest radikallerin oluşumunu artırdığı ifade edilmiştir ¹⁵². İND' nin etkisiyle oksidatif strese bağlı olarak mide mukoza tabakalarında reaktif nitrojen türleri, reaktif oksijen türleri ve lipid peroksidasyonu oluşur ¹⁶⁸. Başta hidroksil radikali olmakla diğer radikaller de doymamış yağ asitlerinin yıkılmasına yol açar ve lipid peroksidasyonunu başlatabilirler. Bunun sonucunda ise hücresel hasar oluşabilir ^{169, 170}. Hücre membranlarındaki lipid bariyerinin fonksiyonel ve yapısal bütünlüğüne bağlı olan hücresel homeostasis; hücrede membranında oluşan hasarlardan dolayı olan birçok patolojik olayın başlamasına sebep olurlar. Yapılan çalışmalar da mide dokusundaki sitoprotektif prostaglandinlerin sentezini inhibe edilmesi ¹⁷¹, lipid peroksidasyonunu artırması, SOD enzim aktivitesini ve aynı zamanda GSH seviyesini azaltması ¹⁷²⁻¹⁷⁶, doku glukoz seviyesini azaltması²⁰⁰ indometazinin yaptığı oksidatif stresden kaynaklandığı ve gastrik hasar oluşturmasının sebepleri arasında olduğunu göstermiştir. İndometazinin, etanol ve diğer ajanlar ile oluşturulan mukozal hasarlarının reaktif oksijen molekülleri ile ilişkili olduğu başka bir çalışmada da öne sürülmüştür ¹⁷⁷. Vücudumuzda oluşan reaktif oksijen türlerinin meydana getirdiği hasarların önlenmesi amacıyla enzimatik olan (CAT, SOD, GSH-Px vb.) ve enzimatik olmayan (GSH, vitamin vb.) antioksidan savunma sistemleri vardır. Bu sistemler, ROS'ları toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe eder ve ya da peroksidasyon zincir reaksiyonunu engellerler ¹⁷⁸. Bu olay antioksidanlar ve oksidatif stres prooksidanlar arasındaki denge yönünün

prooksidanlara dönmesi sonucu oluşur.¹⁷⁹ Bu oluşan antioksidan savunma sistemleri, hücre ve dokuları oksidatif hasara maruz kalmaktan korur.¹⁷⁹ Bizim çalışmamızda da *P.cognatum*'un antioksidan kapasitesini ve koruyuculuğunu araştırmak için indometazin ile oluşturulan ülser modeli kullanıldı. Çalışmamızda İND ile indüklenen sıçan modelinde bozulmuş enzim aktivitelerinin ve ülser önleyici aktivite mekanizması üzerine olan etkisini araştırmak için ülserli dokularda SOD enzim aktiviteleri ile GSH ve MDA miktarları ölçülerek belirlenmeye çalışıldı.

İndometazin toksisitesine bağlı olarak oluşan mide ülseri hasarında oksidatif stresden sorumlu parametrelerden biri de süperoksit radikalidir. Hücreleri süperoksit radikallerinin lipid peroksidasyonu gibi hasar verici etkilere karşı korumak SOD'un başlıca görevidir. SOD, hem mitokondrilerde, hem de sitozolde bulunan süperoksitin oksijen ve hidrojen peroksitide dismutasyonunu katalizleyen, ayrıca hücreleri süperoksit radikalinin tüm zararlı etkilerinden koruyan bir enzim ailesidir¹⁸⁰. SOD neredeyse oksijene maruz kalan tüm hücrelerde vardır. Bunun için anahtar bir antioksidan sayılan SOD hücrede önemli role sahiptir. Bununla birlikte süperoksit lipid peroksidasyonunu da inhibe ederek oksijen radikallerinin hücreye yapabileceği zararlarını da bloke eder.¹⁸¹ Kurt ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada¹⁸² SOD aktiviteleri karşılaştırıldığında, ülseratif kontrol ve Human papillomavirus enfeksiyonu (HPV) ön tedavisi almış ülser grubunun SOD aktivitesi kontrole göre anlamlı oranda yükseldiği belirlenmiştir ($p < 0.05$). Yapılan başka bir çalışmada indometazin ile indüklenen ülserler ile SOD seviyeleri ilişkili bulunmuştur^{183,184}. Literatürde indometazinin mide dokusunda SOD seviyesini azalttığını¹⁸³, değiştirmediyini¹⁸⁵ veya artırdığını¹⁸⁶ bildiren çalışmalar da mevcuttur. Bizim çalışma bulgularımızda genel literatüre uyumlu olarak İND ile muamele gören grupta oluşan mide ülserli sıçan midelerinde SOD aktivitesini azaldığı, bunun yanı sıra tedavi gruplarında ise SOD aktivitesinin kontrol grubuna göre % 122 oranında arttığı belirgin bir şekilde artış gösterdiği,

bulunmuştur. Özellikle en güçlü etkinin PC250+İND ve PC500+İND gruplarında olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bu değerlerin ESO+İND grubuna yakın olduğu, İND grubuna göre ise istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemediğini belirlenmiştir. (Tablo 4.4. ve Şekil 4.5.). Bu da *P.cognatum*'un midede oluşan oksidatif stresin azalmasını SOD enziminin aktivitesini artırmak suretiyle olumlu etkisinin olduğuna ve antioksidan özellik gösterdiğine işaret etmektedir.

GSH organizmanın bütün hücrelerinde bulunur ve hücrelerin protein yapısı dışındaki sülfidril grubu içeriğinin %90 kadarını oluşturur. Aynı zamanda zararlı bileşiklerin etkisizleştirilmesinde önemli rol oynar. Suda çözünebilen bir tiyol olan GSH birçok hücrede çok yüksek konsantrasyonlarda bulunur. GSH'nin en önemli görevi biyolojik membranları enzimatik olarak lipid peroksidasyonuna karşı korumaktır¹⁸⁷. GSH, hem radikal kaynaklı hasarı önler hem de antioksidan enzimlere substrat olarak görev yapar. GSH; oksidatif strese karşı detoksifiye edici enzimlerin kofaktörü olarak, plazma membranındaki aminoasit transportunda rol oynayarak, hidroksil radikalleri ve tek oksijeni temizleme hidrojen peroksit ve lipid peroksidazları detoksifiye ederek ve önemli antioksidanların (C ve E vitamini) aktif formlarına dönüşmesini sağlayarak antioksidan etki gösterir.¹⁸⁸ Ayrıca GSH yükseltgenmesiyle oluşan GSSG miktarı oksidatif stres sırasında artar. Bu bileşiğin aktif bir şekilde hücre dışına çıkarılması ise GSH tükenmesine sebep olur. GSH tarafından oluşturulan önemli antioksidanların kapasitesi glutatyon/glutatyon-disülfid (GSG/GSSH) çiftinin redoks durumuna bağlıdır.¹⁸⁹ Yapılan in vivo ve in vitro deneylerde, endojen GSH'ın çeşitli hasarlarda mide mukozası bütünlüğünün korunmasında önemli bir rolü olabileceği belirtilmektedir¹⁹⁰. Klinik olarak yapılan bir çalışmada normal insan ile peptik ülserli insanlar karşılaştırılmış ve sağlıklı insanlarda mukozal GSH düzeylerinin ülserli insanlara göre daha çok olduğu belirtilmiştir. GSH'daki azalmanın bu sebebi ise serbest radikallerin ülserli bölgede artan nötrofil faaliyeti sonunda GSH'ın fazla tüketilmesi ile ortaya

çıkabileceği öne sürülmüştür¹⁹⁰. Tüm bu çalışmalara paralel olarak bizim çalışmamızda da elde edilen bulgulara göre, İND uygulanan grupta oluşan mide ülserinin GSH seviyesini azalttığı, bunun yanı sıra İND uygulanan gurubuna göre *P.cognatum* uygulanan gruplarda 125, 250, 500 sırası ile ise GSH seviyesinde belirgin bir artış gösterdiği, ama en yüksek artışın ESO+İND gurubunda olup sağlıklı kontrol grubu ile benzerlik gösterdiği gözlemlenmiştir.

Yağ asiti oksidasyonunun spesifik veya da kantitatif bir indikatörü olmayan MDA, aynı zamanda lipit peroksidasyonunun derecesi ile iyi bir korelasyon gösterir. Lipit peroksidasyonla oluşan MDA son aldehit ürünlerinden olup, çarpaz bağlanarak membran bileşenlerinin polimerizasyonuna yol açmaktadır¹⁷⁸. MDA'nın iyon transportu, hücre membranının şekil değiştirebilme, enzim aktivitesi, hücre yüzey bileşenlerinin bütünlüğünün korunması gibi intrinsik özellikleri değiştirdiği, protein sentezini inhibe etme, kemotaksise neden olduğu ve makrofaj hareketlerini durdurduğu bildirilmektedir¹⁷⁸. Ayrıca MDA difüzyon özelliğine sahip olduğu, DNA'nın azot bazları ile de reaksiyon verdiği ve bu özelliklerinden dolayı lipit peroksidasyonu göstergesi olduğu için MDA ölçümü biyolojik olarak önemli yere sahip olduğu bilinmektedir¹⁷⁸. Bundan dolayı da organizmada oluşan LPO düzeyini ölçmek için MDA seviyelerinin ölçümü, sıkça kullanılan bir metottur¹⁹¹. Birçok çalışmada sonucunda çeşitli stres faktörlerinin, ROS'ların oluşumunu hızlandırdığı belirlenmiş ve lipit peroksidasyonuna yol açtığı belirtilmiştir³⁶⁷. Yapılan klinik bir çalışmada sağlıklı insanlarla gastrik ülserli insanlar karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada ülserli insanlarda mukozal MDA düzeylerinin sağlıklı insanlarla kıyaslandığında sonuç olarak anlamlı derecede arttığı tespit edilmiştir. MDA düzeylerinin yüksek olması sebebi ise serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir¹⁹⁰. Yapılan çalışmalar başka çalışmalarda da¹⁹²⁻¹⁹⁴ ilişkili olarak indometazin ile indüklenen ülser modelinde mide dokusundaki MDA seviyelerinin arttığı gözlemlenmiştir. Bizim

çalışmamızda da benzer şekilde, İND uygulanan grupta oluşturulan gastrik hasarda oksidatif stresten dolayı MDA seviyesi istatistiksel olarak anlamlı şekilde artırılmıştır. İND uygulanan grupla kıyaslandığında *P.cognatum* uygulanan gruplarda ise MDA seviyesinin belirgin bir şekilde azaldığı tespit edilmiştir. PC250+İND, PC500+İND ve ESO+İND gruplarında benzer sonuçlar oluşturmuş ve belirtilen MDA seviyelerinin sağlıklı gruba benzerlik gösterdiği bulunmuştur. MDA değerlerindeki bu düşüşün sebebi olarak, *P.cognatum*'un oluşan oksidatif strese karşı lipid peroksidasyonunu inhibe etmesi ve koruyucu etki göstermesini bağlayabiliriz.

Özet olarak bakıldığında İND grubunun midesindeki SOD aktivitesi (Şekil 4.5.) ve GSH (Şekil 4.6.) seviyeleri önemli ölçüde azalırken, MDA seviyeleri (Şekil 4.7.) sağlıklı gruba kıyasla anlamlı olarak artmıştır. SOD aktivitesi ve GSH düzeyleri, tüm tedavi gruplarında İND grubuna göre daha yüksek ve MDA seviyeleri daha düşük olduğu belirlenmiştir. PC 125 + İND, PC 250 + İND ve PC 500 + İND grupları arasında belirtilen SOD, GSH ve MDA miktarlarında, PC'nin en etkili dozu 250 ve 500 mg / kg. Ölçülen antioksidan ve oksidan parametrelerden, PC 250 + İND ve PC 500 + İND grupları arasında anlamlı bir fark olmuştur. ESO tedavisi, İND grubuna göre MDA seviyesini düşürmüş ve SOD aktivitesini ve GSH seviyesini artırmıştır. Bununla birlikte, PC 250 + İND ve PC 500 + İND gruplarının bu parametreleri sağlıklı gruptaki gibi tamamen geri kazanmaları neredeyse mümkün olmuştur. *P.cognatum*'un sıçanların mide dokularındaki lokal oksidatif stres parametreleri üzerindeki etkilerini ülser koruyucu bir mekanizma olarak değerlendirdik. Bu nedenle çalışmamızda *P.cognatum*'un, MDA seviyelerini azaltarak, SOD aktivitesini ve GSH seviyelerini artırarak indometazin kaynaklı ülser oluşumunu önleyebilir ve bu da mide duvarının oksidatif durumunun iyileşmesine neden olabilir. Bu çalışmada oksidatif parametreler, *P.cognatum*'un indometazin kaynaklı mide hasarı üzerindeki koruyucu etkilerine işaret etmiştir. ^{195, 196}

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Polygonum cognatum Meissn, insanlar arasında güvenli bir şekilde tüketilen bir bitkidir. Doğal olarak, bu bitkiyi yaz aylarında birçok yerde, hatta yerel pazarda bulabilirsiniz. Özellikle Türkiye ve Azerbaycan'da düşük fiyatlarla alış-satışını yapabilirsiniz. Bunun yanı sıra bu bitkinin herkes tarafından kolayca temin edilebilmesi de diğer bir avantajdır. Yüzyıllardır halk tarafından güvenli bir şekilde tüketilen bu bitki, hem besleyici hem de içeriğinde barındırdığı fitoterapotik potansiyelinden dolayı mide şikâyetleri ve mide ülseri olan kişilere önemle tavsiye edilebilir. *P.cognatum* bitkisinin bol bol tüketilmesiyle içeriğindeki fenolik ve indirgeyici güce sahip antioksidan moleküllerin potansiyeli aracılığıyla mide şikâyetleri ve mide ülserine koruyucu etkisi olduğu söylenebilir.

Çalışmamızda, İND ile oluşturulan mide ülseri modelinde sıçan mide dokusunda PC'nin total fenolik içeriği, indirgeyici güç üzerinden etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. Biyokimyasal parametrelerden SOD enzim aktivitesi, GSH ve MDA seviyesindeki olumlu etkileri *P.cognatum* indometazin kaynaklı ülserle karşı desteklenen ülser koruyucu etkileri gösterilmiştir. *P.cognatum*'un güçlü bir antioksidan ve ülser koruyucu potansiyele sahip olduğunu, mide mukozasında oluşan oksidatif hasarı azaltmasını, serbest radikalleri inhibe etmesi ve antioksidan düzeylerinin iyileştirerek daha etkin bir koruma sağladığını gözler önüne sermektedir.

P.cognatumun koruyucu etkisi ile yakın gelecekte günümüz tıbbında tedavi maksadı ile kullanılan diğer antiülser etkili ilaçlara eşdeğer olabileceğini ve potansiyel bir anti-ülser ajan olacağını söyleyebiliriz. *P.cognatumun* bitkisi üzerinde yapılacak detaylı izolasyon ve karakterizasyon çalışmalarıyla etkin moleküller karakterize edilebilir. Hatta günümüzde ülser rahatsızlıklarında sıklıkla kullanılanesomeprozol, famotidin ve proton pompası inhibitörleri gibi, ilaçlara yakın değerinde mide koruyucu doğal etkin madde özelliği

söylenbilir. Elde edilen bu etki etanol ve stres ülser modeli gibi farklı ülser modellerde farklı mekanizmalar üzerinden de daha detaylı araştırılabilir.

Yaptığımız deneysel hayvan modelinde doğrudan klinik uygulama yapmış olmasak da, çalışmamızın sonuçlarının gelecek için bu konuya ışık tutmasını ümitle bekliyoruz. Literatür taramasında *P.cognatum* 'un farklı modellerde, farklı çalışmalarla ifade edildiğini görsek bile bu çalışmamızla ilk defa *P.cognatum* 'un İND ile indüklenen mide ülserinde koruyucu etkisini literatüre biyokimyasal mekanizma açısından kazandırmış oldu. Ancak etki mekanizmalarını tanımlamak ve çalışmayı daha da geliştirmek adına bitkinin içeriğindeki molekülleri izole edilerek daha ayrıntılı bilimsel araştırmalar yapılmalıdır. Bu ve bunun gibi bitki çalışmaları bitkisel tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde ve ilaç dünyasında insanlığın faydasına sunulabilir.

KAYNAKLAR

1. Cho CH, Koo MW, Garg GP, Ogle CW. Stress-induced gastric ulceration: its aetiology and clinical implications. *Scand J Gastroenterol*, 1992, 27: 257-262.
2. Feldman M, Scharschmidt B, Sleisenger M. *Peptic ulcer and its complications. Sleisenger Fordtran's Gastrointestinal and Hepatic Disease: Pathophysiology, Diagnosis Management*. 6 Baskı. Philadelphia: Saunders, 2000: 620-678.
3. Chan FK, Leung WK. Peptic-ulcer disease. *Lancet*, 2002, 360: 933-941.
4. Cheng H-C, Yang H-B, Chang W-L, Yeh Y-C, Tsai Y-C, Sheu B-S. Weak up-regulation of serum response factor in gastric ulcers in patients with co-morbidities is associated with increased risk of recurrent bleeding. *BMC gastroenterology*, 2011, 11: 24.
5. Smith HW, Hirukawa A, Sanguin-Gendreau V, Zuo D, Muller WJ. Abstract B007: c-Src and PRC2 activity in ErbB2-driven mammary tumorigenesis and acquired resistance to ErbB2-targeted therapy. 2013.
6. Cheng HC, Yang HB, Chang WL, Yeh YC, Tsai YC, Sheu BS. Weak up-regulation of serum response factor in gastric ulcers in patients with co-morbidities is associated with increased risk of recurrent bleeding. *BMC Gastroenterol*, 2011, 11: 24.
7. Slomiany BL, Piotrowski J, Slomiany A. Omeprazole fails to suppress up-regulation of gastric mucosal endothelin-converting enzyme-1 by Helicobacter pylori lipopolysaccharide. *J Physiol Pharmacol*, 2000, 51: 421-431.
8. Musumba C, Pritchard DM, Pirmohamed M. Review article: cellular and molecular mechanisms of NSAID-induced peptic ulcers. *Aliment Pharmacol Ther*, 2009, 30: 517-531.
9. Lockrey G, Lim L, Jenkins N. Clinical Pharmacy: Peptic Ulcer Disease in Older People. *AJP: The Australian Journal of Pharmacy*, 2011, 92: 78.
10. Ang-Lee MK MJ, Yuan CS. Herbal medicines and perioperative care. *Jama-Journal of the American Medical Association*, 2001, (2): 208-216.

11. Levine RA, Nandi J, King RL. Nonsalicylate nonsteroidal antiinflammatory drugs augment prestimulated acid secretion in rabbit parietal cells: Investigation of the mechanisms of action. *Gastroenterology*, 1991, 101: 756-765.
12. Ang-Lee MK, Moss J, Yuan CS. Herbal medicines and perioperative care. *JAMA*, 2001, 286: 208-216.
13. Wagner H, Ulrich-Merzenich G. Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals. *Phytotherapy Research*, 2009, 23: 97-110.
14. Tomczyk M, Latté KP. Potentilla—A review of its phytochemical and pharmacological profile. *Journal of Ethnopharmacology*, 2009, 122: 184-204.
15. Klippel JH, Dieppe PA. NSAIDs. 2000: 3.5.1-6.
16. Begné MG, Yslas N, Reyes E, Quiroz V, Santana J, Jimenez G. Clinical effect of a Mexican sanguinaria extract (*Polygonum aviculare* L.) on gingivitis. *Journal of ethnopharmacology*, 2001, 74: 45-51.
17. Akten M. Isparta Ovasının Optimal Alan Kullanım Planlaması Üzerine Bir Araştırma. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. *Fen Bilimleri Enstitüsü, Orman Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora tezi, Isparta*, 2008.
18. Vdoviaková K, Petrovová E, Maloveská M, Krešáková L, Teleky J, Elias MZJ, Petrášová D. Surgical anatomy of the gastrointestinal tract and its vasculature in the laboratory rat. *Gastroenterology research and practice*, 2016, 2016.
19. Blechman WJ, Schmid FR, April PA. 1945.
20. Hall J. Guyton and Hall textbook of medical physiology: enhanced E-book: Elsevier Health Sciences. 2010.
21. Kang HC, Menias CO, Gaballah AH, Shroff S, Taggart MW, Garg N, Elsayes KM. Beyond the GIST: mesenchymal tumors of the stomach. *Radiographics*, 2013, 33: 1673-1690.

22. JE H. Guyton ve Hall Tıbbi Fizyoloji. *Nobel Tıp Kitapevi Ltd. Şti, İstanbul*, 2013.
23. Günes ML, Yazici E, Yazici AB, Ferah I, Çadirci E. Antidepresan ilaçların gastrik ülser üzerine etkileri/The effects of antidepressants on gastric ulcer. *Dicle Tıp Dergisi*, 2013, 40: 691.
24. Silen W, Merhav A, Simson JN. The pathophysiology of stress ulcer disease. *World journal of surgery*, 1981, 5: 165-172.
25. Desai JK, Goyal RK, Parmar NS. Pathogenesis of peptic ulcer disease and current trends in therapy. *Indian journal of physiology and pharmacology*, 1997, 41: 3-15.
26. Halpern SL. *Quick reference to clinical nutrition: a guide for physicians*. Baskı. Lippincott, 1979.
27. Guyton A, JE H. Tıbbi Fizyoloji, Türkçe. *Baskı, Yüce Yayınları & Nobel Tıp Kitap Evi, İstanbul, Türkiye*, 2001: 691-693.
28. Banerjee S, Hawksby C, Miller S, Dahill S, Beattie A, McColl K. Effect of *Helicobacter pylori* and its eradication on gastric juice ascorbic acid. *Gut*, 1994, 35: 317-322.
29. Davies G, Simmonds N, Stevens T, Sheaff M, Banatvala N, Laurenson I, Blake D, Rampton D. *Helicobacter pylori* stimulates antral mucosal reactive oxygen metabolite production in vivo. *Gut*, 1994, 35: 179-185.
30. Özbek H. “*Foeniculum vulgare L.* (rezene), *Pimpinella anisum L.* (anason) ve *Coriandrum sativum L.* (kişniş) uçucu yağ ekstraktlarının karaciğeri koruyucu etkisinin araştırılması” Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Van Farmakoloji Eğitiminde Kuşaklararası Bilimsel Etkileşme Seminerleri Programı Aksu, Antalya. 2007.
31. Chan FKL, Wong VWS, Suen BY, Wu JCY, Ching JYL, Hung LCT, Hui AJ, Leung VKS, Lee VWY, Lai LH. Combination of a cyclo-oxygenase-2 inhibitor and a proton-pump

inhibitor for prevention of recurrent ulcer bleeding in patients at very high risk: a double-blind, randomised trial. *The Lancet*, 2007, 369: 1621-1626.

32. Kazmi I, Saleem S, Ahmad T, Afzal M, Al-Abbasi FA, Kumar V, Anwar F. Protective effect of oleanoic acid 3 β -D-glucopyranoside in ethanol induced gastric ulcer by enhancing the prostaglandin E₂ level. *Journal of ethnopharmacology*, 2018, 211: 394-399.

33. Gunaydin C, Bilge SS. Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs at the molecular level. *The Eurasian journal of medicine*, 2018, 50: 116.

34. Sehajpal S, Prasad DN, Singh RK. Prodrugs of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): a long march towards synthesis of safer NSAIDs. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 2018, 18: 1199-1219.

35. Langman M. Epidemiologic evidence on the association between peptic ulceration and antiinflammatory drug use. *Gastroenterology*, 1989, 96: 640-646.

36. Hudson N, Hawthorne A, Cole A, Jones P, Hawkey C. Mechanisms of gastric and duodenal damage and protection. *Hepato-gastroenterology*, 1992, 39: 31-36.

37. Satoh H, Inada I, Hirata T, Maki Y. Indomethacin produces gastric antral ulcers in the refeed rat. *Gastroenterology*, 1981, 81: 719-725.

38. Ang-Lee MK, Moss J, Yuan C-S. Herbal medicines and perioperative care. *Jama*, 2001, 286: 208-216.

39. Kono Y, Okada H, Takenaka R, Miura K, Kanzaki H, Hori K, Kita M, Tsuzuki T, Kawano S, Kawahara Y. Does *Helicobacter pylori* exacerbate gastric mucosal Injury in users of nonsteroidal anti-inflammatory drugs? A multicenter, retrospective, case-control study. *Gut and liver*, 2016, 10: 69.

40. Sen T, Salam CA, Pal S, Sen S, Chaudhuri AN. Effect of dothiepin on gastric ulceration mediated by lipid derived eicosanoids. *Life Sciences*, 2000, 66: PL325-PL330.

41. Soll AH, Graham DY. Peptic ulcer disease. Textbook of gastroenterology. 2009, 5: 936-981.
42. Villegas I, La Casa C, de la Lastra CA, Motilva V, Herrerías JM, Martín MaJ. Mucosal damage induced by preferential COX-1 and COX-2 inhibitors: role of prostaglandins and inflammatory response. *Life sciences*, 2004, 74: 873-884.
43. Gupta PC, Rao CV, Sharma N. Protective effect of standardized extract of *Cleome viscosa* against experimentally induced gastric lesions in the rat. *Pharmaceutical biology*, 2013, 51: 595-600.
44. da Silva LM, Allemand A, Mendes DAG, dos Santos AC, André E, de Souza LM, Cipriani TR, Dartora N, Marques MCA, Baggio CH. Ethanolic extract of roots from *Arctium lappa* L. accelerates the healing of acetic acid-induced gastric ulcer in rats: Involvement of the antioxidant system. *Food and chemical toxicology*, 2013, 51: 179-187.
45. El-Moselhy M, Abdel-Hamid N, Abdel-Raheim S. Gastroprotective effect of nicorandil in indomethacin and alcohol-induced acute ulcers. *Applied biochemistry and biotechnology*, 2009, 152: 449-459.
46. Soll AH, Graham DY. Peptic ulcer disease. 2009.
47. Wong D, Ogle CW. Chronic parenterally administered nicotine and stress-or ethanol-induced gastric mucosal damage in rats. *European Journal of Pharmacology: Environmental Toxicology and Pharmacology*, 1995, 292: 157-162.
48. Chen P, Shen Y, Shi H, Ma X, Lin B, Xiao T, Wu F, Zhu J, Li Z, Xiao J. Gastroprotective effects of Kangfuxin-against ethanol-induced gastric ulcer via attenuating oxidative stress and ER stress in mice. *Chemico-biological interactions*, 2016, 260: 75-83.
49. Peterson WL, Barnett C, Walsh JH. Effect of intragastric infusions of ethanol and wine on serum gastrin concentration and gastric acid secretion. *Gastroenterology*, 1986, 91: 1390-1395.

50. Reynolds JC, Schoen RE, Maislin G, Zangari GG. Risk Factors for Delayed Healing of Duodenal Ulcers Treated with Famotidine and Ranitidine. *American Journal of Gastroenterology*, 1994, 89.
51. Wongrakpanich S, Wongrakpanich A, Melhado K, Rangaswami J. A comprehensive review of non-steroidal anti-inflammatory drug use in the elderly. *Aging and disease*, 2018, 9: 143.
52. Soll AH, Graham DY. Peptic ulcer disease. 1991.
53. Soll AH, Graham DY. Peptic ulcer disease. 1992.
54. Çubukçu, K. Gastrik biyopsilerden *Helicobacter pylori* izolasyonu ve virüsan genlerinin araştırılması. Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Trabzon. Karadeniz Teknik Üniversitesi, 1999.
55. Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature new biology*, 1971, 231: 232-235.
56. Thomas J, Gibson G, Darboe M, Weaver L, Dale A. Isolation of *Helicobacter pylori* from human faeces. *The Lancet*, 1992, 340: 1194-1195.
57. Ardoin SP, Sundry JS. Update on nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Current opinion in rheumatology*, 2006, 18: 221-226.
58. Stovitz SD, Johnson RJ. NSAIDs and musculoskeletal treatment: what is the clinical evidence? *The Physician and Sportsmedicine*, 2003, 31: 35-52.
59. Kawai S, Kojima F, Kusunoki N. Recent advances in nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Allergy International*, 2005, 54: 209-215.
60. Solomon DH, Furst D, Romain P. NSAIDs: Mechanism of action. *UpToDate*, June, 2007.
61. Green GA. Understanding NSAIDs: from aspirin to COX-2. *Clinical cornerstone*, 2001, 3: 50-59.

62. Şentürk T. Non-Steroid anti-inflamatuvar ilaçlar (NSAİİ). *İç Hastalıkları Derg*, 2014, 2: 490-495.
63. Martel-Pelletier J, Lajeunesse D, Reboul P, Pelletier J-P. Therapeutic role of dual inhibitors of 5-LOX and COX, selective and non-selective non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Annals of the rheumatic diseases*, 2003, 62: 501-509.
64. Chandrasekharan N, Dai H, Roos KLT, Evanson NK, Tomsik J, Elton TS, Simmons DL. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2002, 99: 13926-13931.
65. Vonkeman HE, van de Laar MA In *Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: adverse effects and their prevention*, Seminars in arthritis and rheumatism, (editör).^(editörler). Elsevier: 2010; 294-312.
66. Brooks PM. NSAIDs. 2000.
67. Kaya S, Pirinççi İ, Ünsal A. Veteriner Farmakoloji 2009.
68. Solomon DH. NSAIDs: Therapeutic use and variability of response in adults. *Retrieved January*, 2009, 4: 2010.
69. Björkman R. Central antinociceptive effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs and paracetamol. Experimental studies in the rat. *Acta anaesthesiologica Scandinavica. Supplementum*, 1995, 103: 1-44.
70. McCarthy D. Nonsteroidal anti-inflammatory drug-related gastrointestinal toxicity: definitions and epidemiology. *The American journal of medicine*, 1998, 105: 3S-9S.
71. Bombardier C, Laine L, Reicin A, Shapiro D, Burgos-Vargas R, Davis B, Day R, Ferraz MB, Hawkey CJ, Hochberg MC. Comparison of upper gastrointestinal toxicity of rofecoxib and naproxen in patients with rheumatoid arthritis. *New England Journal of Medicine*, 2000, 343: 1520-1528.

72. Solomon DH. Nonselective NSAIDs: Overview of adverse effects. *Retrieved January, 2009, 4: 2010.*
73. Simon RA. NSAIDs (including aspirin): Allergic and pseudoallergic reactions. *UpToDate. Waltham, MA: UpToDate Inc, 2009.*
74. Moore DE. Drug-induced cutaneous photosensitivity. *Drug safety, 2002, 25: 345-372.*
75. Klippel JH, Dieppe PA. Brooks PM. NSAIDs. 2000: 3.5.1-6.
76. Østensen ME, Skomsvoll JF. Anti-inflammatory pharmacotherapy during pregnancy. *Expert opinion on pharmacotherapy, 2004, 5: 571-580.*
77. Cervera R, Balasch J. The management of pregnant patients with antiphospholipid syndrome. *Lupus, 2004, 13: 683-687.*
78. Kurumbail RG, Kiefer JR, Marnett LJ. Cyclooxygenase enzymes: catalysis and inhibition. *Current opinion in structural biology, 2001, 11: 752-760.*
79. Matsui H, Shimokawa O, Kaneko T, Nagano Y, Rai K, Hyodo I. The pathophysiology of non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID)-induced mucosal injuries in stomach and small intestine. *Journal of clinical biochemistry and nutrition, 2011, 48: 107-111.*
80. Shim YK, Kim N. Nonsteroidal anti-inflammatory drug and aspirin-induced peptic ulcer disease. *The Korean Journal of Gastroenterology, 2016, 67: 300-312.*
81. OS K. Peptik ülser tedavisinde kullanılan ilaçlar. Ozdemir O. Topal G. Yıldırım A. Kayaalp O. eds. *Akılcı Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Ankara: Pelikan Kitabevi, 2012: 1409-1422.*
82. Park S, Hong H, Han Y, Kangwan N, Kim S, Kim E, Hahm K. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) sparing effects of glucosamine hydrochloride through N-

glycosylation inhibition; strategy to rescue stomach from NSAID damage. *J Physiol Pharmacol*, 2013, 64: 157-165.

83. Kaya S, Pirinçi İ, Ünsal A. Veteriner Farmakoloji. 2009.

84. Taşdemir B. Ratlarda indometazinle oluşturulan gastrik ülser üzerine silimarinin koruyucu etkilerinin araştırılması. Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2016.

85. Amici C, Di Coro A, Ciucci A, Chiappa L, Castilletti C, Martella V, Decaro N, Buonavoglia C, Capobianchi MR, Santoro MG. Indomethacin has a potent antiviral activity against SARS coronavirus. *Antiviral therapy*, 2006, 11: 1021.

86. Brandman S, Vandenburg M, Jenkins R, Currie W. The effect of non-steroidal antiinflammatory therapy on plasma neuropeptide concentrations in patients with osteoarthritis. *Rheumatology*, 1985, 24: 46-52.

87. Burke A, Smyth E, FitzGerald GA. Analgesic-antipyretic agents; pharmacotherapy of gout. *The pharmacological basis of therapeutics*, 2006, 1: 706.

88. Suleyman H, Demircan B, Karagoz Y. Anti-inflammatory and side effects of cyclooxygenase inhibitors. *Pharmacological reports*, 2007, 59: 247.

89. Prakash S, Husain M, Sureka DS, Shah NP, Shah ND. Is there need to search for alternatives to indomethacin for hemicrania continua? Case reports and a review. *Journal of the neurological sciences*, 2009, 277: 187-190.

90. Van Overmeire B, Smets K, Lecoutere D, Van de Broek H, Weyler J, De Groote K, Langhendries J-P. A comparison of ibuprofen and indomethacin for closure of patent ductus arteriosus. *New England Journal of Medicine*, 2000, 343: 674-681.

91. Süleyman H, Akçay F, Altinkaynak K. The effect of nimesulide on the indomethacin- and ethanol-induced gastric ulcer in rats. *Pharmacological research*, 2002, 45: 155-158.

92. Oberbauer R, Krivanek P, Turnheim K. Pharmacokinetics of indomethacin in the elderly. *Clinical pharmacokinetics*, 1993, 24: 428-434.
93. Suleyman H, Halici Z, Cadirci E, Hacimuftuoglu A, Keles S, Gocer F. Indirect role of α 2-adrenoreceptors in anti-ulcer effect mechanism of nimesulide in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 2007, 375: 189.
94. Emori H, Paulus H, Bluestone R, Champion G, Pearson C. Indomethacin serum concentrations in man. Effects of dosage, food, and antacid. *Annals of the rheumatic diseases*, 1976, 35: 333-338.
95. McCafferty D-M, Granger DN, Wallace JL. Indomethacin-induced gastric injury and leukocyte adherence in arthritic versus healthy rats. *Gastroenterology*, 1995, 109: 1173-1180.
96. Seideman P, von Arbin M. Cerebral blood flow and indomethacin drug levels in subjects with and without central nervous side effects. *British journal of clinical pharmacology*, 1991, 31: 429-432.
97. Hoppmann RA, Peden JG, Ober SK. Central nervous system side effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: aseptic meningitis, psychosis, and cognitive dysfunction. *Archives of internal medicine*, 1991, 151: 1309-1313.
98. Tharumaratnam D, Bashford S, Khan S. Indomethacin induced psychosis. *Postgraduate medical journal*, 2000, 76: 736-737.
99. Lin Y-J, Tsai Y-J, Chen J-S, Lin J-S, Wu J-M, Lin C-H, Yeh T-F. Renal effects and urinary excretion of prostaglandin following indomethacin therapy in premature infants with patent ductus arteriosus. *Zhonghua Minguo xiao er ke yi xue hui za zhi [Journal]*. *Zhonghua Minguo xiao er ke yi xue hui*, 1995, 36: 104-107.

100. Tan S, Shapiro R, Franco R, Stockard H, Mulrow P. Indomethacin-induced prostaglandin inhibition with hyperkalemia: A reversible cause of hyporeninemic hypoaldosteronism. *Annals of internal medicine*, 1979, 90: 783-785.
101. Brook RD, Kramer MB, Blaxall BC, Bisognano JD. Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs and Hypertension. *Journal of clinical hypertension (Greenwich, Conn.)*, 2000, 2: 319-323.
102. Matsuda K, Nakamura S, Matsushita T. Celecoxib inhibits nitric oxide production in chondrocytes of ligament-damaged osteoarthritic rat joints. *Rheumatology international*, 2006, 26: 991-995.
103. Zehetgruber H, Grübl A, Goll A, Schwameis E, Wurnig C, Giurea A. Prevention of heterotopic ossification after THA with indomethacin: analysis of risk factors. *Zeitschrift für Orthopädie und ihre Grenzgebiete*, 2005, 143: 631.
104. Ganguly K, Kundu P, Banerjee A, Reiter RJ, Swarnakar S. Hydrogen peroxide-mediated downregulation of matrix metalloprotease-2 in indomethacin-induced acute gastric ulceration is blocked by melatonin and other antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 2006, 41: 911-925.
105. Odabasoglu F, Halici Z, Cakir A, Halici M, Aygun H, Suleyman H, Cadirci E, Atalay F. Beneficial effects of vegetable oils (corn, olive and sunflower oils) and α -tocopherol on anti-inflammatory and gastrointestinal profiles of indomethacin in rats. *European journal of pharmacology*, 2008, 591: 300-306.
106. Godoy DA, Suarez PDG, Moscote-Salazar LR, Di Napoli M. Side Effects of Indomethacin in Refractory Post-traumatic Intracranial Hypertension: A comprehensive case study and review. *Bulletin of Emergency & Trauma*, 2017, 5: 143.

107. Türkyılmaz, İ. B. İndometazin ile Oluşturulan Gastrik Mukozal Hasarına Vitamin C, Vitamin E, β-karoten ve Selenyumun Etkileri. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans tezi, İstanbul: İstanbul Üniversitesi, 2009. .
108. Dursun N. Veteriner Anatomi II (11. baskı). *Medisan, Ankara*, 1996: 128-263.
109. Erdem S, Eren PA. Tedavi amacıyla kullanılan bitkiler ve bitkisel ürünlerin yan etkileri. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 2009: 133.
110. Şarışen Ö, Çalışkan D. Fitoterapi: bitkilerle tedaviye dikkat (!). *Sted*, 2005, 14: 182-187.
111. Kara AA, Algur ÖF, Köseoğlu MŞ. Bazı şifalı bitkilerin helicobacter pylori üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri. *Cumhuriyet Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi*, 2016, 37: 129-140.
112. Baytop T. *Türkçe bitki adları sözlüğü*. Baskı. Türk Tarih Kurumu, 2007.
113. Yılar M. Polygonum cognatum meissn.(madımak)'un allelopatik potansiyelinin belirlenmesi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2007.
114. Туманян С. К строению стебля и черешка некоторых видов рода Polygonum L. *ՀՄՄՌ ԳԱ Տեղեկագիրքը բիոլոգիական գիտություններին*, 1965, 18: 85-90.
115. Yurtseva OV, Levina MS, Severova EE, Troitsky AV. Morphology and taxonomy of Polygonum cognatum Meissn., P. alpestre CA Mey. and allied taxa from Central Asia and the Caucasus (Polygonaceae). *Wulfenia*, 2012, 19: 141-180.
116. Yıldırım A, Mavi A, Kara AA. Antioxidant and antimicrobial activities of Polygonum cognatum Meissn extracts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2003, 83: 64-69.
117. Yeşilada E, Honda G, Sezik E, Tabata M, Fujita T, Tanaka T, Takeda Y, Takaishi Y. Traditional medicine in Turkey. V. Folk medicine in the inner Taurus Mountains. *Journal of ethnopharmacology*, 1995, 46: 133-152.

118. Turan M, Kordali S, Zengin H, Dursun A, Sezen Y. Macro and micro mineral content of some wild edible leaves consumed in Eastern Anatolia. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B-Plant Soil Science*, 2003, 53: 129-137.
119. Töngel MÖ, İlknur A. Samsun ili çayır ve meralarında yetişen bazı zararlı bitkiler ve hayvanlar üzerindeki etkileri. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 2005, 20: 84-93.
120. Dereli FTG, İlhan M, Kozan E, Akkol EK. Effective eradication of pinworms (*Syphacia obvelata* and *Aspicularis tetraptera*) with *Polygonum cognatum* Meissn. *Experimental parasitology*, 2019, 196: 63-67.
121. Saraç H, Daştan T, Demırbaş A, Daştan SD, Karaköy T, Durukan H. Madımak (*Polygonum cognatum* Meissn.) Bitki Özütlelerinin Besin Elementleri ve In Vitro Antikanserojen Aktiviteleri Yönünden Değerlendirilmesi. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2018: 340-347.
122. Demir H. Erzurum’da yetişen madımak, yemlik ve kızamık bitkilerinin bazı kimyasal bileşimi. *Bahçe*, 35: 55-63.
123. Doğan Y, Başlar S, Mert HH, Güngör A. Plants used as natural dye sources in Turkey. *Economic Botany*, 2003, 57: 442-453.
124. Cevik O, Şener A, Özdemir KZ, Çetinel S, Altıntaş A, Oba R, Yegen BC, Yarat A. *Polygonum cognatum* Meissn sulu ekstraktının deneysel kolitte koruyucu ve terapötik etkileri *Marmara Eczanesi J.*, 2014, 18: 126 – 134
125. Üçer M. Sivas yöresinde yerel bitkilerden yapılan ilaçlar. *Bitkilerle Tedavi*, 2012: 29.
126. Özçelik H, Balabanlı C. Burdur ilinin tıbbi ve aromatik bitkileri. I. *Burdur Sempozyumu*, 2005, 2: 1127-1136.
127. Özgen U, Kaya Y, Houghton P. Folk medicines in the villages of Ilıca District (Erzurum, Turkey). *Turkish Journal of Biology*, 2012, 36: 93-106.

128. Doğan A, Tuzlaci E. Turkish folk medicinal plants, IX: Ovacık (Tunceli)| Türkiye'nin halk ilacı bitkileri, IX: Ovacık (Tunceli). 2010.
129. Velioglu S. Ekstraksiyon koşullarının siyah çayda ve mate çayında polifenol, antioksidan ve antimikrobiyal aktivite üzerine etkileri.
130. Yıldırım A, Mavi A, Kara A. Polygonum cognatum Meissn ekstraktlarının antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri *J. Sci. Gıda Tarım*, 2003 83: 64 - 69
131. Baytop T. *Türkiye'de bitkiler ile tedavi: geçmişte ve bugün*. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri, 1999.
132. Boushra AF, Elsayed AM, Ibrahim NA, Abdelwahed MK, Ahmed EI. A comparative study on the possible protective effect ofesomeprazole, spirulina, wheatgrass on indomethacin-induced gastric ulcer in male albino rats. *Molecular Biology Reports*, 2019, 46: 4843-4860.
133. Saraç H, Daştan T, Demirbaş A, Datan SD, Karakoy T, Durukan H. Madımak (Polygonum cognatum Meissn.) Bitki Özütlerinin Besin Elementleri ve In Vitro Antikanserojen Aktiviteleri Yönünden Değerlendirilmesi. *Ziraat Fakóltesi Dergisi*, 2018: 340-347.
134. Gürsoy N, Elagöz S, Gölge E. Polygonum cognatum Meissn. Ve Funguslu Ortamda Sentezlenen Gümüş Nanopartiküllerinin (AgNP) Antimikrobiyal Özelliklerinin Araştırılması. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 2020, 7: 221-230.
135. Pekdemir S, Çiftci M, Karatepe M. Elazığ'da Yetişen Polygonum cognatum Meissn (Madımak) Bitki Ekstraktlarının In vitro Biyolojik Aktiviteleri ve Bazı Fitokimyasal Bileşenlerinin Belirlenmesi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 2020: 368-378.
136. Ulusoy Hİ, Acıdereli H, Tutar U. Optimization of extraction parameters for fat soluble vitamins and major element analysis in Polygonum cognatum Meissn plant

- (Madimak). *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*, 2017, 4: 165-178.
137. Kutay F. Enzimler. İn: Onat T, Emerk K, Sözman EY, eds. İnsan biyokimyası. Ankara: Palme Yayıncılık, 2002: 197-220, 439.
138. Bujalska M. Effect of nitric oxide synthase inhibition on antinociceptive action of different doses of acetaminophen. *Pharmacological Reports*, 2004, 56: 605-610.
139. Botting R, Ayoub SS. COX-3 and the mechanism of action of paracetamol/acetaminophen. *Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids*, 2005, 72: 85-87.
140. Robak J, Wieckowski A, Gryglewski R. The effect of 4-acetamidophenol on prostaglandin synthetase activity in bovine and ram seminal vesicle microsomes. *Biochemical pharmacology*, 1978, 27: 393-396.
141. Bambai B, Kulmacz RJ. Prostaglandin H Synthase Effects Of Peroxidase Cosubstrates On Cyclooxygenase Velocity. *Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275: 27608-27614.
142. Smith C, Marks A.D, Lieberman M, Marks' Temel Tıbbi Biyokimyası İnal M.E, Atik U, Aksoy N, Haşimi A Güneş Tıp Kiyabevleri 2007 İkinci Baskı 862-879.
143. Slinkard K, Singleton V. Total phenol analysis comparison with automation and manual methods. *Am J Enol Vitic*, 1977, 28: 49-55.
144. Yen G-C, Chen H-Y, Peng H-H. Antioxidant and pro-oxidant effects of various tea extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1997, 45: 30-34.
145. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical biochemistry*, 1968, 25: 192-205.
146. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical biochemistry*, 1979, 95: 351-358.

147. Polat B, Halici Z, Cadirci E, Albayrak A, Karakus E, Bayir Y, Bilen H, Sahin A, Yuksel TN. The effect of alpha-lipoic acid in ovariectomy and inflammation-mediated osteoporosis on the skeletal status of rat bone. *European journal of pharmacology*, 2013, 718: 469-474.
148. Van Leerda M. Epidemiology of acute upper gastrointestinal bleeding. *Best practice & research Clinical gastroenterology*, 2008, 22: 209-224.
149. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem*, 1988, 34: 497-500.
150. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem*, 1968, 25: 192-205.
151. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, 1979, 95: 351-358.
152. Bayir Y, Odabasoglu F, Cakir A, Aslan A, Suleyman H, Halici M, Kazaz C. The inhibition of gastric mucosal lesion, oxidative stress and neutrophil-infiltration in rats by the lichen constituent diffractaic acid. *Phytomedicine*, 2006, 13: 584-590.
153. Karaođlan ES, Albayrak A, Kutlu Z, Bayir Y. Gastroprotective and antioxidant effects of *Eremurus spectabilis* Bieb. methanol extract and its isolated component isoorientin on indomethacin induced gastric ulcers in rats. *Acta chirurgica brasileira*, 2018, 33: 609-618.
154. Dattner AM. From medical herbalism to phytotherapy in dermatology: back to the future. *Dermatol Ther*, 2003, 16: 106-113.
155. Özer Z, Tursun N, Önen H. *Yabancı otlarla sağlıklı yaşam:(Gıda ve tedavi)*. Baskı. 4Renk Yayınları, 2001.
156. Saraç H, Daştan T, Demirbaş A, Daştan SD, Karaköy T, Durukan H. Madımak (*Polygonum cognatum* Meissn.) Bitki Özütlерinin Besin Elementleri ve In Vitro

Antikanserojen Aktiviteleri Yönünden Değerlendirilmesi. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2018: 340-347.

157. Murathan ZT. Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi ekolojik koşullarında yetişen bazı tıbbi bitkilerin biyokimyasal içeriği ve antioksidan özelliklerinin belirlenmesi. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2018, 20: 51-60.

158. Arslan SO, Gelir E, Armutcu F, Coskun O, Gürel A, Sayan H, Celik IL. The protective effect of thymoquinone on ethanol-induced acute gastric damage in the rat. *Nutr Res*, 2005, 25(7): 673-680.

159. Akarca G, Tomar O. Afyonkarahisar İli Çevresinde Yetişen ve Halk Tarafından Tüketilen Bazı Yabani Bitkilerin Antioksidan ve Antimikrobiyal Etkileri. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 2019: 259-268.

160. Kanter M, Demir H, Karakaya C, Ozbek H. Gastroprotective activity of Nigella sativa L oil and its constituent, thymoquinone against acute alcohol-induced gastric mucosal injury in rats. *World J Gastroenterol*, 2005, 11: 6662-6666.

161. Avcıoğlu M. Ratlarda İndometazin ile oluşturulan gastrik ülserde hypericum perforatum ekstraktının gastroprotektif etkisi. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2019.

162. Hamit U, USLU GA. Prunus laurocerasus L. Meyve Ekstraktının Sıçanlarda İndometazin ile İndüklenen Gastrik Ülsere Karşı Koruyucu Etkisi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 14: 64-70.

163. Gözcü L. Ratlarda İndometazİnle oluşturulan mide ülserlerinde hippophae rhamnoides l.(yabanİ iğde) yaprak ekstresinin antiülserojenik etkilerinin incelenmesi. 2014.

164. Doğan C, ÇelİK Ş, Doğan N. Siirt Bölgesi Melengiçlerin Toplam Fenolik Madde Miktarları ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 21: 293-298.

165. Uruk, T. Yaban mersini şarabı yapımı ve antioksidan aktivitesinin incelenmesi. Fen bilimleri enstitüsü. Gıda Mühendisliği. Yüksek lisans Tezi İstanbul, İstanbul Aydın üniversitesi, 2017.
166. Çakmak YS, Zengin G, Eskin B, Yıldırım K, Topal M, Aydın GH, Unlu E, Baydemir M, Erten K. Medicago rigidula (L.) ALL.'nın antioksidan ve enzim inhibisyon aktiviteleri ve fenolik bileşiminin incelenmesi. *Marmara Pharm. J*, 2017, 21: 522-529.
167. A. Y. İndometazın ile oluşturulan gastrik ülser modelinde oleuropeinin DNA hasarı ve oksidatif stres üzerindeki etkisi. 2020.
168. Horton AA, Fairhurst S. Lipid peroxidation and mechanisms of toxicity. *Crit Rev Toxicol*, 1987, 18: 27-79.
169. Wallace JL. Acetaminophen hepatotoxicity: NO to the rescue. *British Journal of Pharmacology*, 2004, 143: 1-2.
170. Laskin JD, Heck DE, Gardner CR, Laskin DL. Prooxidant and antioxidant functions of nitric oxide in liver toxicity. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2001, 3: 261-271.
171. Tegeder I, Neupert W, Gühring H, Geisslinger G. Effects of selective and unselective cyclooxygenase inhibitors on prostanoid release from various rat organs. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2000, 292: 1161-1168.
172. Yoshikawa T, Naito Y, Kishi A, Tomii T, Kaneko T, Iinuma S, Ichikawa H, Yasuda M, Takahashi S, Kondo M. Role of active oxygen, lipid peroxidation, and antioxidants in the pathogenesis of gastric mucosal injury induced by indomethacin in rats. *Gut*, 1993, 34: 732-737.
173. Naito Y, Yoshikawa T, Matsuyama K, Nishimura S, Yagi M, Kondo M. Effects of free radical scavengers on indomethacin-induced aggravation of gastric ulcer in rats. *Digestive diseases and sciences*, 1995, 40: 2019-2021.

174. Naito Y, Yoshikawa T, Matsuyama K, Yagi N, Arai M, Nakamura Y, Kaneko T, Yoshida N, Kondo M. Neutrophils, lipid peroxidation, and nitric oxide in gastric reperfusion injury in rats. *Free Radical Biology and Medicine*, 1998, 24: 494-502.
175. Takeuchi K, Ueshima K, Hironaka Y, Fujioka Y, Matsumoto J, Okabe S. Oxygen free radicals and lipid peroxidation in the pathogenesis of gastric mucosal lesions induced by indomethacin in rats. *Digestion*, 1991, 49: 175-184.
176. Djahanguiri B. The production of acute gastric ulceration by indomethacin in the rats. *Scand J Gastroenterol*, 1969, 4: 265-267.
177. Elliott SN, Wallace JL. Neutrophil-mediated gastrointestinal injury. *Canadian Journal of Gastroenterology*, 1998, 12.
178. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları No 38, Sağlık dizisi 5, Konya. 1995.
179. Yu LX, Nguyen HT. Plant Molecular Genetics Laboratory, Department of Plant and Soil Science and Institute for Biotechnology. *Texas Tech University*, 1994, 87: 668-672.
180. Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 2002, 18: 872-879.
181. Mates JM, Perez-Gomez C, Nunez de Castro I. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem*, 1999, 32: 595-603.
182. Kurt H, Özbayer C, Değirmenci İ. İndomethazine bağlı oluşan gastrik mukozal hasar üzerine hypericum perforatum yağının koruyucu etkisi. *Bozok Tıp Dergisi*, 2016, 6: 46-52.
183. Suleyman H, Cadirci E, Albayrak A, Polat B, Halici Z, Koc F, Hacimuftuoglu A, Bayir Y. Comparative study on the gastroprotective potential of some antidepressants in indomethacin-induced ulcer in rats. *Chemico-biological interactions*, 2009, 180: 318-324.
184. Franco L, Velo G. A copper-complex reduced gastric damage caused by acetylsalicylic acid and ethanol. *Prostaglandins*, 1996, 51: 331-338.

185. Vasiliauskas A, Keturkienei A, Leonavičienė L, Vaitkiene D. Influence of herb *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. tincture on pro-/antioxidant status in gastric tissue with indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Acta Med. Litu*, 2004, 11: 31-36.
186. Albayrak A, Alp HH, Suleyman H. Investigation of antiulcer and antioxidant activity of moclobemide in rats. *The Eurasian journal of medicine*, 2015, 47: 32.
187. Di Mascio P, Murphy ME, Sies H. Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *Am J Clin Nutr*, 1991, 53: 194S-200S.
188. Masella R, Di Benedetto R, Vari R, Filesi C, Giovannini C. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J Nutr Biochem*, 2005, 16: 577-586.
189. Pastore A, Federici G, Bertini E, Piemonte F. Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. *Clin Chim Acta*, 2003, 333: 19-39.
190. Demir S, Yilmaz M, Koseoglu M, Akalin N, Aslan D, Aydin A. Role of free radicals in peptic ulcer and gastritis. *Turk J Gastroenterol*, 2003, 14: 39-43.
191. Yılmaz S, Temizer O. Meme Kanserli Hastalarda Lipid Peroksidasyonu ve Bazı Enzim Aktiviteleri Arasındaki İlişki. *Türk Biyokimya Dergisi*, 2003, 28: 252-256.
192. Bilici M, Ozturk C, Dursun H, Albayrak F, Saglam MB, Uyanik A, Gulaboglu M, Tekin SB. Protective effect of mirtazapine on indomethacin-induced ulcer in rats and its relationship with oxidant and antioxidant parameters. *Digestive diseases and sciences*, 2009, 54: 1868-1875.
193. Demircan B, Çelik G, Süleyman H, Akçay F. Effects of indomethacin, celecoxib and meloxicam on glutathione, malondialdehyde and myeloperoxidase in rat gastric tissue. *The Pain Clinic*, 2005, 17: 383-388.

194. Pérez Y, Oyárbabal A, Mas R, Molina V, Jiménez S. Protective effect of D-002, a mixture of beeswax alcohols, against indomethacin-induced gastric ulcers and mechanism of action. *Journal of natural medicines*, 2013, 67: 182-189.
195. Hilário MOE, Terreri MT, Len CA. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: cyclooxygenase 2 inhibitors. *Jornal de pediatria*, 2006, 82: S206-S212.
196. Ardoin SP, Sundy JS. Update on nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Curr Opin Rheumatol*, 2006, 18: 221-226.



EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
Adı Soyadı: Nilufar RUSTAMOVA Doğum Tarihi: 27.05.1997 Doğum Yeri: Azerbaycan/ Mingeçevir Medeni Hali: Bekar Uyruğu: Azerbaycan Adres: Azerbaycan Respublikası Mingeçevir şehri Tel: +905525900116 +994518549131 Faks: - E-mail: nil.rustemova@gmail.com
Eğitim
Lise: Mingechevir/18 sayılı tam orta mekteb Lisans: Ganja/Azerbaijan State Agrarian University. Faculty of Pharmacy
Yabancı Dil Bilgisi
Türkçe: C2 İngilizce: A2 Almanca: B2 Rusça: A2
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
-
İlgi Alanları ve Hobiler
Kitap, Fitness, Yüzme, Bisiklet, Müzik, Dans, Kültürel geziler, Satranç, El işi.

EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Biyokimya ana bilim dalında Yüksek Lisans Tezi olarak Prof. Dr.Yasin BAYIR danışmanlığında sunulan “*Polygonum cognatum Meissn. Ekstresinin Sıçanlarda İndometazin İle İndüklenen Ülser Modelinde Koruyucu Etkilerinin Araştırılması*” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre yazıldığını, Sağlık Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	0	15
Genel Bilgiler	26	30
Materyal ve Metod	30	35
Bulgular	2	10
Tartışma	12	15

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz 06 / 03/ 2020

Öğrenci
Nılfar RUSTAMOVA

İMZA:

Danışman
Prof. Dr. Yasin BAYIR

İMZA:

* Tez ile ilgili YÖKTEZ’de yayımlanmasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun .../.../... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

Enstitü Yönetim Kurulunun .../.../... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Rektörlük



Sayı : 75296309-050.01.04-E.1900280628
Konu : HADYEK Kararı.

02.10.2019

ECZACILIK FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İlgi : 19.09.2019 tarihli ve 93722986-000-E.1900265450 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazınız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 26.09.2019 tarih ve 11 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 150 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, mevcut oy birliği ile karar verilmiş olup, çalışmanın Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülmesine ve taahhütname hükümlerine göre çalışmada kullanılan hayvanlara ait bilgilerin, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğünün, Hayvanları Koruma Bilgi Sistemi (HAYBİS)'ne girilebilmesi için ekte sunulan "HADYEK Sonuç Raporu"nun Başkanlığımıza gönderilmesi hususunda;

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Prof.Dr. Fikret ÇELEBİ
Kurul Başkanı

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi 25240 Erzurum
Tel: +90 442 2317222
Elektronik Ağ: <http://www.atauni.edu.tr/#!birim=veteriner-fakultesi>

Bilgi: Mehmet KOCA
Faks: +90 442 2317244
E-Posta: vetfak@atauni.edu.tr

Kep Adresi: atauni@hs01.kep.tr

1 / 2

Bu belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.
<https://ubys.atauni.edu.tr/ERMS/Record/Confirmation/Confirmation?code=DEC0B474AF5>



TOPLANTI TARİHİ : 26.09.2019

TOPLANTI SAYISI : 11

KARAR N0 150: Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığı, Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü, Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Yasin BAYIR'ın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülecek olan "**Polygonum cognatum Meissn. Ekstresinin Sıçanlarda İndometazin İle İndüklenen Ülser Modelinde Koruyucu Etkilerinin Araştırılması**" isimli araştırma çalışması ile ilgili Eczacılık Fakültesi Dekanlığının 19.09.2019 tarih ve 93722986-000-E.1900265450 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, çalışma sonucunun Başkanlığımıza bildirilmesine, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Ek : Sonuç Raporu. 1 Adet.

