

***MACLURA POMİFERA* BİTKİSİNDEN İZOLE EDİLEN
OSAJİN MADDESİNİN RATLARDA İNDOMETAZİN
İLE OLUŞTURULAN GASTRİK HASAR ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Hüseyin Serkan EROL

Veteriner Biyokimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Mesut Bünyami HALICI

Doktora Tezi – 2015

T.C
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***MACLURA POMİFERA* BİTKİSİNDEN İZOLE EDİLEN
OSAJİN MADDESİNİN RATLARDA İNDOMETAZİN İLE
OLUŞTURULAN GASTRİK HASAR ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Hüseyin Serkan EROL

**Veteriner Biyokimya Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Mesut Bünyami HALICI**

**ERZURUM
2015**

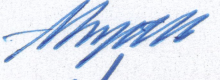
T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**MACLURA POMİFERA BİTKİSİNDEN İZOLE EDİLEN OSAJİN
MADDESİNİN RATLARDA İNDOMETAZİN İLE OLUŞTURULAN
GASTRİK HASAR ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

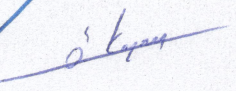
Hüseyin Serkan EROL

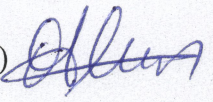
Tez Savunma Tarihi : 06.02.2015

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Mesut Bünyami HALICI (Atatürk Üniversitesi) 

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Ahmet ÇAKIR (Kilis 7 Aralık Üniversitesi) 

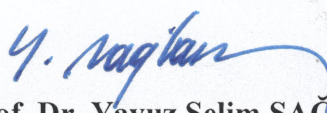
Jüri Üyesi : Doç. Dr. Fatih Mehmet KANDEMİR (Atatürk Üniversitesi) 

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Özgür KAYNAR (Atatürk Üniversitesi) 

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Orhan AKMAN (Atatürk Üniversitesi) 

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM
Enstitü Müdürü

Doktora Tezi
ERZURUM - 2015

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	V
ÖZET	VI
ABSTRACT	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Mide Anatomisi	2
2.2. Midenin Yapısı	2
2.3. Midenin Fonksiyonları.....	3
2.4. Midenin Fizyolojisi.....	3
2.4.1. Mide Salgısı	3
2.4.2. Mide Salgıları ve Fonksiyonları	4
2.4.3. Mide Sekresyonunun Kontrolü.....	5
2.5. Ülser.....	6
2.5.1. Epidemiyolojisi.....	6
2.5.2. Etiyoloji	7
2.5.3. Non-Steroid Antiinflatuar İlaçlar ve Hasar Oluşum Mekanizması.....	9
2.6. Midenin Ülser Savunması ve Mekanizması	10
2.7. Antioksidan Savunma Sistemi	11
2.7.1. Antioksidanlar.....	11
2.7.2. Serbest Radikal Kaynakları:	16
2.7.3. Serbest Radikallerin Etkileri	21
2.7.4. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	24
2.8 Ülser ve Oksidatif Stres İlişkisi	33
2.9 <i>Maclura pomifera</i>	34
2.9.1 <i>Maclura pomifera</i> 'nın Kimyasal Bileşeni	36
2.10 Osajin.....	36
3. MATERYAL VE METOT	38
3.1. Deneyleerde Kullanılan Kimyasallar.....	38
3.2. Deneyleerde Kullanılan Cihazlar.....	38
3.3. Deneyle Materyalinin Temini ve Etken Maddenin İzolasyonu	38

3.4. Deneý Hayvanlarının Temini.....	40
3.5. Ratlarda İndometazin Uygulaması ile Deneysel Ülser Oluşturulması	40
3.5.1. Ülser Modeli	40
3.6. Mide Dokusunun Makroskopik İncelenmesi	42
3.7. Mide Dokusunun Biyokimyasal İncelenmesi	42
3.7.1. Doku Homojenatlarının Hazırlanması:	42
3.7.2. Deneýlerde Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanıřları	42
3.7.3. Lipid Peroksidasyon Seviyesinin Ölçümü:	45
3.7.4. Total Glutasyon (GSH) Miktarı Ölçümü:	46
3.7.5. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Ölçümü:	47
3.7.6. Katalaz (KAT) Aktivitesinin Ölçümü:	48
3.8. İstatistiksel Analizler	49
4. BULGULAR.....	50
4.1. Makroskopik Analiz	50
4.2. Biyokimyasal Analiz.....	52
4.2.1. LPO Seviyesi	52
4.2.2. SOD Aktivitesi.....	53
4.2.3. GSH Seviyesi	54
4.2.4. KAT Aktivitesi	55
5. TARTIşMA.....	57
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	69
KAYNAKLAR	71
EKLER	99
EK-1. ÖZGEÇMİş	99
EK-2. ENSTİTÜ YÖNETİM KURULU KARARI.....	100
EK-3. DENEY HAYVANLARI YEREL ETİK KURUL KARARI	101

TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışmada, lisansüstü eğitimim ve tez çalışmam boyunca yanımda olan, sınırsız desteğini sunan değerli danışmanım Sayın Doç. Dr. Mesut Bünyami HALICI hocama en derin saygılarımı ve şukranlarımı sunarım.

Eğitimim boyunca şahsıma büyük desteklerini sağlayan, değerli ailelerine kabul eden ve yol gstericilerim olan blmm değerli hocaları; Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Fatih Mehmet KANDEMİR' e, Doç. Dr. Özgür KAYNAR, Yrd. Doç. Dr. Seçkin ÖZKANLAR ve Yrd. Doç. Dr. Betül APAYDIN YILDIRIM' a, ayrıca çalışma arkadaşlarıma,

Çalışmada kullandığım osajin maddesini saflaştırma ve tanımlamada büyük emeği olan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Ahmet ÇAKIR' a (Kilis 7 Aralık niversitesi), tez kapsamında deney hayvanlarının temini ve deneyin gerçekleştirilmesinde büyük emekleri olan Sayın ATADEM yönetimi ve değerli çalışanlarına, çalışmanın gerçekleşebilmesi için maddi desteklerini esirgemeyen, bu çalışmayı 2012/364 nolu projeye destekleyen Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne, ayrıca çalışanlarından biri olduğum Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü ve çalışanlarına,

Lisans ve lisansüstü eğitim hayatım boyunca emek ve yardımlarını esirgemeyen Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi değerli hocalarıma,

Ayrıca, bunları nasip eden Rabb' ime şukrederek, hayatımın bir parçası, buraya kadar gelmeme vesile ve sonsuz destekçilerim olan aileme, eşime ve çalışmalarım sırasında istemedenden ihmal ettiğim oğlum Yusuf Yiğit'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hüseyin Serkan EROL

ÖZET

***Maclura pomifera* Bitkisinden İzole Edilen Osajin Maddesinin Ratlarda İndometazin ile Oluşturulan Gastrik Hasar Üzerine Etkilerinin Araştırılması**

Amaç: Daha önceki çalışmalarda *Maclura pomifera* bitkisinin su ekstresinin gastrik hasar üzerine etkili olduğu bildirilmiş, bu çalışmada ise bu etkinliğe sahip olduğu düşünülen osajin maddesi saflaştırılarak, ratlarda indometazin ile oluşturulan gastrik hasar üzerine antiülser etkileri incelenmiştir.

Materyal ve Metot: Çalışma için gerekli olan osajin *Maclura pomifera* bitkisinden İTK yöntemi ile saflaştırılarak, NMR yöntemi ile yapısı aydınlatıldı. Çalışma için, toplam 36 adet Sprague Dawley cinsi erkek rat temin edilerek, 6'şarlı 6 gruba ayrıldı. REF grubuna 25 mg/kg ranitidin (Ulcuran® 25 mg/ml flakon), OSJ-100 grubuna 100 mg/kg, OSJ-200 grubuna 200 mg/kg, OSJ-400 grubuna 400 mg/kg osajin ve sağlıklı grup hariç tüm gruplara 25 mg/kg indometazin uygulandı. Ratlar, uygulamadan 6 saat sonra sakrifiye edilerek, midelerinde milimetrik kağıt yardımıyla ülser alanı tespitleri yapıldı. Biyokimyasal olarak, mide dokularında LPO ve GSH seviyeleri ile SOD ve KAT aktiviteleri ölçüldü.

Bulgular: Sağlıklı grupla karşılaştırıldığında; kontrol grubunda, ülser alanı ve LPO seviyelerini önemli derecede yükselirken ($p<0.05$), SOD ve KAT aktivitesi ile GSH seviyelerinin aynı düzeyde azaldığı görüldü ($p<0.05$). Artan ülser alanı ve LPO seviyesinin REF ve OSJ gruplarında belirgin şekilde düştüğü izlenirken ($p<0.05$), SOD ve KAT enzim aktiviteleri ile GSH seviyesinin önemli seviyede arttığı gözlemlendi ($p<0.05$).

Sonuç: *Maclura pomifera* bitkisinden saflaştırılan osajin maddesi indometazin ile indüklenen gastrik hasar üzerine etkili olduğu tespit edilirken, bu etkinin de antioksidan sistem üzerinde oluşturduğu değişikliklerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan sistem, indometazin, *Maclura pomifera*, osajin, ülser.

ABSTRACT

Investigation of the Effects of Osajin Substance Isolated from *Maclura pomifera* Plant on Indomethacin-Induced Gastric Damage in Rats

Aim: Previously, water extract of *Maclura pomifera* plant has been found effective on gastric damage. Hence, in this study, Osajin substance with possible curative activity was purified and its antiulcer effects were investigated on gastric damage induced by indomethacin in rats.

Materials and Methods: Osajin substance needed was purified from *Maclura pomifera* plant by TLC method and its structure was elucidated by NMR methods. For the study, a total of 36 Sprague Dawley male rats were purchased and they were divided into 6 groups (n=6 each). The 25 mg/kg indomethacin was administered orally to all groups, except healthy ones, and 25 mg/kg ranitidine (Ulcuran[®] 25 mg/ml vial) to REF group, 100 mg/kg osajin to OSJ-100 group, 200 mg/kg osajin to OSJ-200 group and 400 mg/kg osajin to OSJ-400 group. Rats were sacrificed after 6th hours of administrations and ulcerative fields were identified in stomach via graph papers. Biochemically, LPO and GSH levels as well as SOD and CAT activities were measured in stomach tissues.

Results: Comparing with healthy group, in control group, it was observed that while ulcerative area and LPO levels increased significantly ($p<0.05$), SOD and CAT activities as well as GSH levels decreased simultaneously ($p<0.05$). In REF group and dose-dependent OSJ groups, it was observed that while dose-dependent increase of ulcerative area and LPO levels decreased in marked level ($p<0.05$), GSH levels as well as SOD and CAT enzyme activities increased significantly ($p<0.05$).

Conclusion: It was found that osajin purified from *Maclura pomifera* plant was effective on gastric injury induced by indomethacin. This effect was thought to be caused by changes in the antioxidant system.

Key Words: Antioxidant system, indomethacin, *Maclura pomifera*, osajin, ulcer.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADP	: Adenin Difosfat
ANOVA	: One-Way Analysis of Variance
ATP	: Adenozin 3'-trifosfat
BSA	: Bovine Serum Albumin
CA	: Karbonik Anhidraz
DAK.	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DTNB	: 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoik Asit)
EDTA	: Etilendiamintetraasetik Asit
ETS	: Elektron Taşıma Sistemi
EÜ	: Enzim Ünite
FAD	: Flavin Adenin Dinükleotid
GPO	: Glutatyon Peroksidaz
GR	: Glutatyon Redüktaz
GSH	: Glutatyon
GSSH	: Okside Glutatyon
GST	: Glutatyon S-transferaz
HETE	: Hidroksieikozatetraenoik Asit
HNE	: 4-hidroksinonenal
HPETE	: Hidroperoksieikozatetraenoik Asit
IND	: İndometazin
İTK	: İnce Tabak Kromatografisi
KAT	: Katalaz
LPO	: Lipid Peroksidasyonu
LT	: Lökotrien
MDA	: Malondialdehit
MP	: <i>Maclura pomifera</i>
MPO	: Miyelo Peroksidaz
µM	: Mikro Molar
NAD⁺	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NBT	: Nitro Blue Tetrazolium
nm	: Nano Metre
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
NSAİİ	: Non-steroid Antiinflamatuvar
OSJ	: Osajin
PCO	: Protein Karbonil
PG	: Prostaglandin
PPI	: Proton Pompa İnhibitörü
REF	: Referans
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TBA	: Tiyobarbütirik Asit
UV	: Ultra Viyole
XD	: Ksantin Dehidrogenaz
XO	: Ksantin Oksidaz

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Midenin anatomik görünümü	2
Şekil 2.2. Glutatyon'un molekül yapısı	30
Şekil 2.3. <i>Maclura pomifera</i> (Osage Orange).....	35
Şekil 2.4. Osajin ve pomiferinin yapısı.....	37
Şekil 3.1. MDA miktarının hesaplanmasında kullanılan standart grafik.....	46
Şekil 3.2. GSH miktarının hesaplanmasında kullanılan standart grafik.....	47
Şekil 4.1. Mide ülser alanlarını gösteren grafik.....	50
Şekil 4.2. Sağlıklı (A) ve Kontrol (B) gruplarına ait resimler	51
Şekil 4.3. REF (C) ve OSJ-100 (D) gruplarına ait resimler.....	51
Şekil 4.4. OSJ-200 (E) ve OSJ-400 (F) gruplarına ait resimler	51
Şekil 4.5. Mide dokusu LPO seviyelerini gösteren grafik	53
Şekil 4.6. Mide dokusu SOD aktivitelerini gösteren grafik.....	54
Şekil 4.7. Mide dokusu GSH seviyelerini gösteren grafik	55
Şekil 4.8. Mide dokusu KAT aktivitelerini gösteren grafik	56

1. GİRİŞ

Mide ülseri, genellikle mukoza savunma elemanlarının mekanizmasında *Helicobacter pylori* veya non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar tarafından oluşturulan harabiyet sonucunda meydana gelen, tüm katlara ulaşabilen ve kanama odağı olabilen yara olarak tanımlanabilir.^{1, 2} Ülser, tüm insan ve hayvan ırklarında rastlanıldığı gibi, sadece mide değil tüm gastrointestinal sistemin herhangi bir bölgesinde de gerçekleşebilir.³

Son yıllarda yapılan araştırmalarda ülserin patogenezi üzerine dokuda meydana gelen oksidatif stresin büyük önemi olduğu ve süperoksit, peroksit gibi çeşitli radikal türlerinin bu oluşumda görev aldığı belirtilmiştir.⁴⁻⁷

Günümüzde ülser tedavisi için geliştirilen anti asit, H₂ reseptör antagonisti, proton pompa inhibitörü gibi ilaçlar hastalığın insidansını düşürse de bu ilaçların kullanımı ülser için tam bir tedavi oluşturmamakla beraber, sahip oldukları bazı yan etkiler ile ülserden daha tehlikeli sonuçlara sebebiyet vermektedirler.⁸⁻¹¹

İnsanların en eski rahatsızlığından biri olan ülser, daha öncede halk tarafından kullanılan çeşitli bitkisel tedavi yöntemleri ile iyileştirilmeye çalışılmış ve günümüzde alternatif tıbbın hayatımıza yavaş yavaş girmesiyle bu yöntemler çeşitli çalışmalara konu olmuştur.¹²

Ülser gibi birçok hastalığı tedavi etmek için kullanılan bitkilerin içerdiği çeşitli moleküller saflaştırılarak etkileri belirlenmeye çalışılmış, antioksidan, antiinflamatuvar, antibakteriyel, antiseptik vs. gibi özellikler göstererek bu hastalıklar üzerine etkili oldukları tespit edilmiştir.^{3, 13, 14}

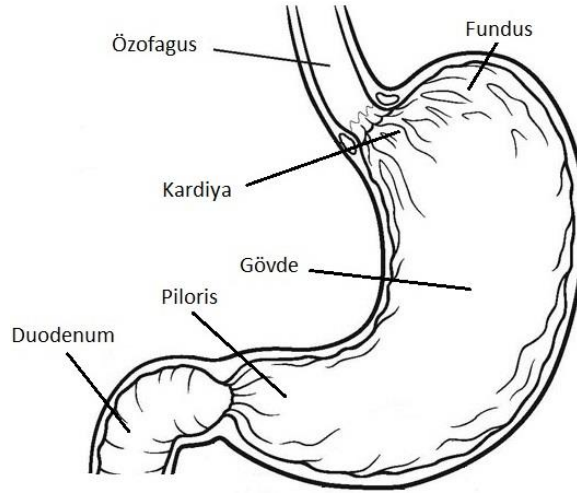
Bu amaçla sunulan çalışmada da su ekstresinin antiülser etkisi¹⁵ tespit edilmiş olan *Maclura pomifera* bitkisinden osajin maddesi saflaştırılarak, ratlarda indometazin ile oluşturulan ülser modeli üzerine etkileri incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mide Anatomisi

Mide, diyafram ile bağırsaklar arasında, karın boşluğunun üst kısmında yer alan sindirim sisteminin en geniş organıdır. Mide anatomik olarak dört bölüme sahip bir organdır.¹⁶ Bu dört bölüm;

- Kardiyak bölümü
- Fundus bölümü
- Mide gövdesi (Korpus)
- Antrium ve Pilonis bölümüdür.



Şekil 2.1. Midenin anatomik görünümü

2.2. Midenin Yapısı

Mide fibromüsküler yapıda olup organın iç yüzü epitelle örtülüdür. Bu yapı salgı veya absorpsiyon görevlerine göre farklılıklar gösterir.¹⁷ Mide histolojik yapısında başlıca yer alan tabakalar (dıştan içe doğru);

- 1- Seroza: Midenin dış yüzüdür.
- 2- Longitudinal kas tabakası

3- Sirküler (dairesel) kas tabakası

4- Submukoza: Sinirleri, lenfatikleri ve organı besleyen kan damarlarını içeren gevşek bağ dokusudur.

5- Mukoza: Derin olmayan katlanmaları (plikalar) içerir. Mide boşaldıkça bu katlanmalar derinleşir. Ayrıca, bu kıvrımlı tabakada tubuler tarzda bezler (gll. gastricae) bulunur. Bu bezler HCl (hidroklorik asit), sindirim enzimleri, intrinsik faktör ve mukus gibi ekzokrin salgı yaparlar.^{17, 18}

Mide bezlerinde dört tip hücre bulunur. Bunlar;

- Esas (Zimojen) hücreler: pepsinojen
- Pariyetal (Okzintik) hücreler: HCl ve intrinsik faktör,
- Boyun mukus hücreleri: mukus,
- Enteroendokrin hücreler; serotonin, enteroglukagon ve histamin salgırlar.¹⁷

2.3. Midenin Fonksiyonları

Midenin başlıca üç fonksiyonu vardır:

1. Yutulan besinleri depo etmek
2. Besin maddelerinin sindirimini sağlayan mide sıvısı ile karışmasını sağlamak
3. Besin maddelerinin sindirimini ve emilimin yapılabilmesi için uygun şekilde

bağırsaklara iletmektir.¹⁷

2.4. Midenin Fizyolojisi

2.4.1. Mide Salgısı

Mukoza tabakası basit tübüler bezlerden meydana gelir. Pylorus bölgesinde çoğunlukla mukus salgısını yapan hücreler bulunur. Diğer bölümlerde ise mukus salgılayan boyun hücreleri, HCl salgılayan pariyetal hücreler ve enzimleri salgılayan peptik hücreler bulunur. Mukoza hücreleri rejenerere olabilen bir yapıya sahip olup sürekli yenilenmektedir.^{19, 20}

2.4.2. Mide Salgıları ve Fonksiyonları

a) Mukus Salınması

Yüzey ve boyun mukus hücreleri tarafından salgılanan mukus (müsin), midenin tüm yüzeyini kaplar ve mide asidine karşı koruyucu bir özellik gösterir. Mukus, yüksek moleküler ağırlığa sahip bir glikoproteindir. Bazı proteolitik enzimler ve çeşitli kimyasal ajanlar (etanol, metanol vb.) bu yapıyı parçalayabilirler.²¹

b) İntrinsik Faktör Salınması

İntrinsik faktör, pariyetal hücreler tarafından üretilen bir glikoproteindir. Vitamin B₁₂'nin ince bağırsaklardan emilimini sağlamada görev yapar. Eksik salgılanması veya otoimmünite sonucu işlevini yitirmesi anemiye yol açar.²²

c) Mide Asidi (HCl) Salgılanması

Mide asidinin salgısı pariyetal hücrelerde meydana gelir. Üretilmesinde çok miktarda enerji gereksinimi vardır. Ortalama bir litre mide sıvısı için 1200 cal enerji harcanır. Üretimi için karbondioksit (CO₂) gereklidir ve hücre içi veya kandan difüzyon yolu ile sağlanır. Hücre içinde CO₂, karbonik anhidraz (CA) enzim aktivitesiyle su ile birleştirilerek karbonik asit (H₂CO₃) meydana getirilir. Ayrıca, hücre içinde suyun ayrışması sayesinde hidrojen iyonu (H⁺) ve hidroksil (OH⁻) meydana gelir. Hidrojen iyonu salgı kanallarına gelirken, hidroksil ile karbonik asit birleşerek su ve bikarbonat meydana getirir. Meydana gelen bikarbonat iyonu kandaki klor (Cl⁻) iyonu ile aktif transport yoluyla yer değiştirir ve salgı kanalına taşınır. Hücrelerde oluşan bu hidroklorik asit (HCl) mide lümenine salınır ve çeşitli görevleri bulunmaktadır. Bu görevlerden en başta geleni inaktif pepsinojenin aktif pepsine dönüştürülmesidir. Buna ek olarak pepsin enziminin aktivitesi için gerekli olan pH'yı sağlar.^{17, 19, 20}

2.4.3. Mide Sekresyonunun Kontrolü

Mide salgısı, mide boş olduğunda da devam eder. Ancak, miktarı çok az olup, düşük miktarda HCl ve pepsinojen içerir. Bu aşamaya bazal sekresyon denir. Asıl önemli düzeyde salgılama sindirim sırasında meydana gelir.¹⁹

Mide asidi ve pepsinojen ile gastrin, histamin, somatostatin ve prostaglandin gibi salgılar, sinirsel ve hormonal olarak iki yolla kontrol edilir. Bu olaylar 3 fazda düzenlenir. Sinirsel kontrol ile salgılamanın meydana gelişi hızlı olur fakat kısa süre devam eder. Besini görmek, koklamak gibi duyuşsal uyarımlar vagus siniri aracılığı ile mide sekresyonunu artırır. Vagus siniri, asetilkolin salgılayarak bu etkiyi gerçekleştirir.²³ Bu fazlar:

1- Sefalık faz: Besin alımı gerçekleşmeden meydana gelir.

2- Gastrik faz: Besin alımı gerçekleştiğinde mide bezleri iki yoldan uyarılır.

a) Besin alımı sonucu midenin genişlemesi gastrin hormonunun salgılanmasına neden olur. Salgılanan gastrin, kana geçerek fundus ve korpus bölgelerinde bulunan bezlere ulaşır ve salgıya neden olur.

b) Besinin içerdığı bazı maddelerin (kısmen sindirilmiş proteinler, etil alkol, kafein vs. gibi) salgılanmasına neden olurlar.²³

3- İntestinal faz: Duodenuma ulaşan besinlerin sindirimi ve emilmesi az miktarda intestinal kaynaklı gastrin salgılanmasına neden olur. Parçalanmış protein rezidüleri bu intestinal gastrinin daha fazla miktarda kana geçmesine ve mideye ulaşması sonucu sekresyonunun artmasına neden olur. Fakat duodenuma gelen asitli kimüs, buradan sekretin ve kolesistokinin hormonlarının salgılanmasını sağlar. Bu hormonlar kan yoluyla mideye ulaşması sonucunda sekresyonu inhibe ederler. Buna rağmen bazı durumlarda sekretin azalan pepsin miktarını da artırabilir.²⁴

Mide sıvısı pH'sının 2'nin altına inmesi, gastrin salgı meknizmasını inhibe eder. Bu etkiyle pH'nın çok fazla düşerek antrum mukozasından inhibitör bir hormon olan "somatostatin" nin salgılanmasına sebep olur.²⁴

2.5. Ülser

Mide kas tabakasına kadar ulaşmayan yüzeysel nekroza erezyon denir. Eğer nekroz kas tabakasına kadar ilerlemiş ise ülser olarak adlandırılır. Oluşan nekrotik hasar damarsal harabiyete de neden olur. Midedeki hasar; yaygın mukozal nekroz, sınırlı erozyon veya ülser şeklinde görülebilir.^{25, 26}

Ülser; tüm sindirim kanalı boyunca görülse de en sık olarak mide ve duodenumda rastlanır. Muskular tabakaya kadar ilerlemesi ve özellikle sindirimin gerçekleştiği mukozaya yakın yerlerde görülmesi ülserler için tipik bulgulardır.²⁷

2.5.1. Epidemiyolojisi

Günümüzde tüm ülkelerde görülen, her ırk ve cinsiyeti etkileyen, en çok iş gücü ve maddi kayıplara neden olan hastalıkların başında gelen ülserin tarihçesi çok eskilere dayanmaktadır. Yakın zamanda tarihi kalıntılarda yapılan kazılar sonucu bulunan mumyalar incelendiğinde, bu mumyaların ölümlerine neden olduğu düşünülen ülser bulgularına rastlanmıştır.²⁸ İlk görüldüğü zamanlarda pek çok ölüme neden olmuş hastalıklardan biri olan ülser, şuan tedavi edilebilir bir hastalık olsa da, insan sağlığı açısından önemli bir yer tutmaktadır.¹²

Ülser, insanlarda sık rastlanan hastalıklardan biridir ve her yaşta görülebilmesinin yanı sıra, tüm bölgelerde de görülen bir rahatsızlık olması bu sonucu desteklemektedir. Ülser nispeten düşük sayılabilecek bir mortaliteye sahip olmasına rağmen, tekrarlama olasılığının çok yüksek olması, kronik bir seyir izlemesi, çoğu zaman ömür boyu ilaç ve tedavi gerektirmesi önemli özelliklerindedir.¹² Bu sebeple hastalığın insanlara hem maddi hem de manevi yükü fazladır. ABD'de yılda 500.000 yeni vaka gözlenirken, nüks

4-4.5 milyon civarındadır.²¹ Bu değerler göz önüne alındığında, ülkemizde her yıl 120.000 yeni vaka ve 1 milyona yakın nüks olabileceği hesaplanabilir. Yapılan istatistiksel analizlere göre bir kişinin bir yıl içinde ülserle yakalanma riski % 1.8 olarak belirtilmiştir.²⁹ Yine, hayat boyu ülser hastalığının meydana gelme riski erkekler için % 11-14, kadınlar için ise % 8-11 olduğu bildirilmiştir.³⁰

Ülser sadece insanlarda değil, aynı zamanda rat, kedi, köpek, sığır, domuz, kuzu ve tavuklarda da görülebilmektedir. En yaygın olarak kedi, köpek gibi evcil hayvanlarda görülmekte ve mide hasar oluşmasının birçok nedeni olmakla beraber dengesiz yağ, karbohidrat ve protein içeren besin maddelerinin alınması ve çevresel stres yapıcı ajanların etkisinin de rolünün olduğu düşünülmektedir.³¹ Ayrıca tavuk ve domuzlarda da çevresel stres ve beslenme faktörlerinin gastrik hasara neden olduğu bildirilmiştir.^{32, 33} Diğer yandan sığırlarda iklim, yaş ve süttten kesimin gastrik hasar oluşmasını etkilediği, aynı zamanda beslenmenin ve parazitik faktörlerin gastrik hasar oluşumunda etkili oldukları gözlenmektedir.³⁴

2.5.2. Etiyoloji

a) Yaş:

Genellikle mide ülseri yaşlılarda, duodenum ülseri ise gençlerde daha sık gözlenir. Ülkemizde görülen mide ülserinin insidansı 30 ile 60 yaş arasında artarken, duodenum ülserlerinin insidansı 20-50 yaşları arasında artmaktadır.³⁵

b) Sosyoekonomik etkenler:

Sosyoekonomik düzeyler, şehir ve sosyal hayat dikkate alındığında kırsal kesimde, kendi işinde yalnız çalışan, çiftlik ve köy gibi düşük yaşam standartlarında yaşayan insanlarda mide ülserleri, yüksek yaşam standartları olan kalabalık şehirde yaşayan insanlarda ise duodenum ülserleri, daha sık görülmektedir.²⁷

c) Diyet:

Geçmişten günümüze, süt ve süt ürünleri ülser sağaltımında kullanılmasına rağmen, içerdikleri yüksek oranda kalsiyum nedeniyle mide asit salgısını arttırdığı belirtilmiştir.²⁷

d) Alkol:

Mide mukozası % 10 ve altındaki konsantrasyonda alkol içeriklerini tolere edebilirken, % 20'nin üstündeki konsantrasyonlarda hasar ve onarım mekanizmalara devreye girmektedir.³⁶

e) Stres ve Psikolojik faktörler:

Ülser ve sinir sistemi ilişkisi birçok çalışmada ortaya konulmuştur. Ayrıca, beyin ile bağırsak arasındaki nöral ilişki ve bunlara stresin etkisi araştırılmıştır.^{37, 38} Deney hayvanları üzerinde yapılan stres çalışmalarının ülser neden olduğu bildirilmiştir.³⁹

f) İlaçlar:

Ülser oluşumunda en önemli faktörlerden biri kuşkusuz ilaçlardır. Geçtiğimiz 30 yılda antiinflamatuvarların gelişmesiyle kullanımı yaygınlaşmış, bunun sonucu olarak yan etkilerinin görülme sıklığı da artmıştır. ABD'de bu nedenle yıllık yatan hasta sayısı 200.000 ile 400.000 gibi rakamlara ulaşmıştır.⁴⁰ İlaç teknolojisinin gelişimiyle yan etkilerinin azaldığı düşünülse de endoskopik muayenelerde düzenli non-steroid antiinflamatuvar (NSAİİ) alan kişilerin % 30 ile 50'sinde ülser tespit edildiği bildirilmiştir.^{41, 42} Asetilsalisilik asit (Aspirin) kullanan kişilerin mide ülseri prevalansı % 20 ve duodenal ülser prevalansı % 5 olduğu bildirilmiştir.⁴³ Hastaneye gastrointestinal kanama ile başvuran kişilerin yaklaşık % 50'si, sıklıkla aspirin ya da NSAİİ kullandıklarını belirtmişlerdir.²⁷

g) Sigara:

Yapılan çalışmalara göre, duodenal ülseri bulunan hastalardan sigara içenlerde iyileşmenin, içmeyenlere göre daha uzun sürdüğü ve nüks görülme oranının arttığı bildirilmiştir.²⁷

h) Ek hastalıklar:

Zollinger-Ellison Sendromu, Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAH), Siroz, Kronik böbrek yetmezliği gibi hastalıklar mide ve duodenum ülserlerinin meydana gelme olasılığını artırdığı belirtilmiştir.^{27, 44, 45}

2.5.3. Non-Steroid Antiinflamatuvar İlaçlar ve Hasar Oluşum Mekanizması

Mide ülseri, sıklıkla asit salgılamayan antrium mukozasında meydana gelmektedir. Ayrıca pepsin, safra asitleri, hipertonic üre, sodyum hidroksit, HCl, etanol, NSAİİ'ler gibi farklı etkiler göstererek ülseri neden olan ajanlar, mide mukozanın savunmasının bozulmasında ve bunun sonucu olarak ülser oluşmasında önemli rol almaktadırlar.^{17, 46}

Bu ajanlardan en sık ülseri neden olan NSAİİ, etkilerini yalnızca lokal değil sistemik olarak gösterirler. Bu nedenle gerek ülser oluşumunda gerekse yan etkilerin gözlenmesinde asıl muhtemel yolu sistemik olmaktadır.⁴⁷

Non-steroid antiinflamatuvar ilaçların mide mukozasında meydana getirdikleri etkiler hem direkt olarak hem de siklooksijenaz inhibisyonu ile olmaktadır. Üretiminde siklooksijenaz enziminin görev aldığı, mide mukozasında bulunan prostaglandinler (PG), histamin tarafından düzenlenen mide salgısını inhibe ederler.⁴⁸ Ayrıca mukozada, mukus ve bikarbonat yapımı ile mukozanın kan akımını arttırmaları. Bu nedenle PG E₂, Prostasiklin (PGI₂), ve PG F₂-α mide mukozasının savunmasında önemli rol oynarlar. Birçok çalışmada PG'lerin alkol, stres, aspirin ve indometazin (IND) zararlı etkilerinden mukozayı koruduğu ve ülser meydana gelen durumlarda PG sentezinin inhibe olduğu gösterilmiştir.⁴⁹

Siklooksijenaz enziminin inhibe edilmesi koruyucu PG'lerin miktarının azalmasına ve araşidonik asit metabolizmasının lipoksijenaz yoluna kaymasına neden olur. PG'ler ve lökotrienler (LT), araşidonik asit metabolizması ürünleri olmalarına rağmen mide mukozası üzerine ters etkiye bulunurlar.⁵⁰ Bu olayın meydana gelmesi ile Hidroperoksieikozatetraenoik asit (HPETE), Hidroksieikozatetraenoik asit (HETE) ve LT'lerin üretiminde artış meydana gelir ve bunlar mide mukozasını olumsuz etkileyen ürünlerdir. İnflamatuvar ajanlardan olan LT'lerin, mukozal hasarı artırdığı birçok çalışmada gösterilmiştir. Bu nedenle lipooksijenaz enziminin inhibisyonu ile LT üretiminin azalmasını ve mide mukozasının korunmasını sağlayabilmektedir.^{51, 52}

Etanol, mide mukozasında LT miktarını artırmaktadır. Buna bağlı olarak LTC₄ ve LTD₄ sentezinin inhibisyonu, mide mukozasında etanol gibi ülserojenler tarafından meydana getirilen hasarı engelleyebilmektedir. Ayrıca NSAİİ'lerin neden olduğu mide ülserleri, LT antagonistleri ve lipoksijenaz inhibitörleri kullanılarak azaltılabilmektedir.⁵²

Non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar sadece PG sentezini inhibe ederek değil aynı zamanda mukoza kan akışında, aktif iyon transportunda ve mukoza permeabilitesinde değişiklik meydana getirerek hasar oluştururlar. Bu etkiler mide mukoza savunmasının açıklanmasıyla daha iyi anlaşılabilir.⁵³

2.6. Midenin Ülser Savunması ve Mekanizması

Mukoza tabakasını kaplayan mukus tabakası ile mide epitel hücreleri tarafından salgılanan bikarbonat, mukus tabakasının üzerinde mide asidini nötralize eden bir katman meydana getirir. Bu katmanın yanı sıra mide mukoza hücreleri tarafından üretilen PG'ler de mukoza savunmasını oluşturan önemli bir faktördür.¹⁷

Mide mukoza savunması;

- 1) Preepitelyal
- 2) Epitelyal

3) Postepitelyal olmak üzere üç kategoride sınıflandırılır.^{41, 54, 55}

1- Preepitelyal mekanizma: Mukus ve bikarbonat salgılayarak mide mukozasını kaplar ve korunmasını sağlar. Bikarbonat, epitelyum hücrelerinden salgılanır. IND ve asetilsalisilik asit gibi NSAİİ'ler mide mukus salgısını inhibe ederler.⁵⁶

Ayrıca bikarbonat salınımı histamin ve gastrin ile etkilenmezken, kolinerjik ajanlar, prostaglandinler ve lümen içi asit miktarıyla ilişkili olarak salgı düzeyi artar. Buna bağlı olarak NSAİİ'ler mide mukozasındaki bikarbonat sekresyonunu da azaltmaktadır.^{57, 58}

2- Epitelyal mekanizma: IND, bazal ve düzenlenmiş mide sıvısının salgısını arttırarak mide mukozasında hasar meydana getirir.⁵⁸ NSAİİ'lerin büyük kısmı mukoza bariyerini oluşturan hücrelerin membran permeabilitesini değiştirirler ve mukozada hasar meydana gelmesine neden olurlar. PG'ler ve bunların çeşitli analogları mide mukozasının negatif elektrik potansiyelini arttırarak H⁺ geri difüzyonunu azaltırlar. Ayrıca epitel tabakasından salgılanan glikoprotein ve bikarbonatın bu dengenin korunmasında önemli görevleri vardır.^{41, 54, 55, 59}

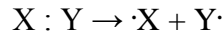
3- Postepitelyal mekanizma: Hücrelerin işleyişinde önemli enerji kaynağı ATP'dir. Mukozaya gelen kan akışındaki azalma, ATP miktarında azalmaya neden olur. Mukoza hücrelerinin kapiller damarları arasında H⁺ iyonu alış-verişi kolaylıkla gerçekleşmektedir. Fakat IND gibi NSAİİ'ler, mukoza kan damarlarında daralmaya neden olarak kan akışını engellemekte ve iyon transportunu ağırlaştırmaktadır.^{57, 60} Bu nedenle mide mukozasında meydana gelen hasar önlenemediği gibi gelişim sıklığı da artmaktadır.⁵⁷

2.7. Antioksidan Savunma Sistemi

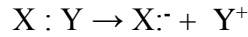
2.7.1. Antioksidanlar

Serbest radikaller, orbitallerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron ihtiva eden atom veya moleküllerdir.⁶¹ Atomların orbital bölgelerinde en fazla iki adet olacak şekilde ve birbirlerine zıt bir konumda elektronlar bulunmaktadır. Geçiş metalleri olarak bilinen demir, bakır, mangan gibi atomlar yörüngelerinde birer elektron bulundurmalarına rağmen, radikal özellik göstermezler. Fakat bazı atom grupları (nitrit dioksit, nitrik oksit) bir orbitalinde tek bir elektron taşımalarından dolayı radikal özellik gösterebilirler.³ Serbest radikaller üç yolla meydana gelir.⁶²

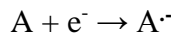
1) Homolitik bağın ayrılması ve bir elektronun bir molekülden diğerine transfer edilmesi sonucu oluşan serbest radikallerdir. En yaygın görülen serbest radikal oluşumu homolitik bağın ayrılmasıdır.



2) Bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün heterolitik bölünmesi ile meydana gelen radikallerdir. Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron atom veya atom gruplarının birinde kalır.



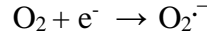
3) Bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi sonucu da serbest radikaller oluşur.



Canlılarda radikal sağlayan en büyük kaynak oksijendir. Bunun nedeni, oksijen atomunun orbitallerinde eşleşmemiş bir elektron çiftinin bulunmasıdır. Sahip olduğu bu özellik ile oksijen, diğer serbest radikaller ile kolayca reaksiyona girebilirken, radikal olmayanlarla daha zor reaksiyona girebilirler. Aerobik (oksijenli) solunum yapan canlılar, oksijenin bu özelliklerinden dolayı serbest radikallerin en fazla meydana geldiği canlılardır. Bu nedenle enerji üretiminde oksijen kullanımı nedeniyle serbest radikallerin etkilerine en çok maruz kalan aerobik canlılardır.⁶³

Serbest radikal çeşitleri:

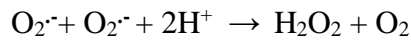
Süperoksit radikali (O₂⁻): Süperoksit radikali, moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu meydana gelir.



Neredeyse tüm aerobik hücrelerde bulunan süperoksit radikali eozinofil, makrofaj, monosit, ve nötrofil gibi immün sistem hücreleri tarafından üretilerek de radikal oluşumu artabilmektedir.⁶³

Süperoksit radikalleri hasar oluşumunda düşük oranda görev alsa da meydana getirdikleri asıl hasar hidrojen peroksit (H₂O₂) ve peroksil (HO₂⁻) radikallerinin oluşumunda görev almasıyla gerçekleşir. Süperoksit radikalleri, bu iyonların ve geçiş metallerinin indirgeyicisi olarak görev alır.⁶⁴

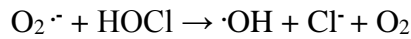
İki adet süperoksit radikali ile hidrojen peroksit meydana gelir.



Peroksi nitrit, süperoksit radikali ile nitrik oksit radikalinin birer eşleşmemiş elektronlarını kovalent bağ ile bağlamaları sonucu meydana gelir.⁶⁵

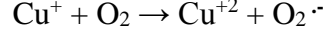
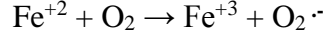


Hidroksil radikali (·OH), süperoksit radikali ile reaksiyona girerek güçlü bir oksidan oluşturmaktadır.⁶⁶



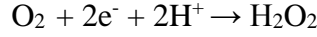
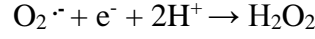
Hem indirgeyici hem de yükseltgeyici özellik gösteren süperoksit anyonu, adrenalin, dopamin, askorbat ve hidroksilamin gibi çeşitli yapılardaki metabolitleri oksitler. Nitrobluetetrazolium ile sitokrom c'yi indirgerken, ferrisitokrom c bir elektron kaybeder ve okside olur. Oksidan olarak ise epinefrinin oksidayonunda bir elektron alır

ve hidrojen peroksite indirgenir.⁶⁷ Ayrıca geçiş metalleri otooksidasyona uğrayarak da süperoksit radikali oluşabilmektedir.

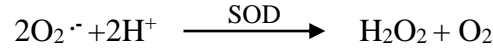


Yukarıdaki redoks reaksiyonları geri dönüşümlü olup serbest radikal oluşumunu hızlandıran önemli reaksiyonlardır.⁶⁸

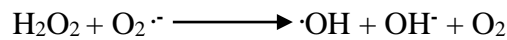
Hidrojen peroksit (H₂O₂): Moleküler oksijen asidik bir ortamda iki elektron alması veya süperoksitin bir elektron kazanması ile hidrojen peroksit meydana gelir.⁶⁹



Hidrojen peroksitin biyolojik sistemlerdeki asıl kaynağı, süper oksit radikali oluşturan kaynak bir reaksiyonda üretilen radikalın dismutasyon reaksiyonudur. Bunlara ek olarak, urat oksidaz, glukoz oksidaz ve D-aminoasit oksidaz gibi enzimler, oksijene iki elektron kazandırarak H₂O₂ oluştururlar.

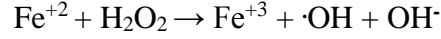
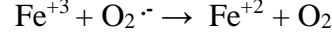


Kendi başına bulunan hidrojen peroksit zayıf bir oksidan özellik gösterir. Çünkü ortaklanmamış bir elektron içermemektedir. Oluşan H₂O₂, uygun koşullarda hücreler tarafından kofaktör olarak selenyum kullanan glutatyon peroksidaz, katalaz ve belirli peroksidazlar tarafından yok edilebilir. Serbest bir radikal olmayan H₂O₂, serbest radikaller içerisinde önemli bir rol oynar. Bunun nedeni, Fe ve Cu gibi geçiş metalleri bulunduğu ortamda süperoksit radikalleri ile reaksiyon verirler ve en reaktif, en zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturarak kolayca yıkılırlar.⁶⁹

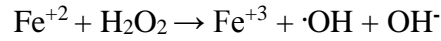
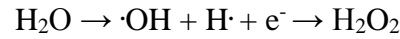


Yukarıda anlatılan bu reaksiyon Haber-Weiss reaksiyonu olarak tanımlanır. Haber-Weiss reaksiyonu, katalizörlü veya katalizörsüz olarak iki şekilde oluşabilir. Fakat

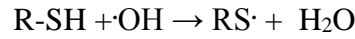
katalizör yokluğunda çok uzun sürede gerçekleşir. Bu reaksiyon sırasıyla, ferri demir (Fe^{+3}) süperoksit tarafından ferro demire (Fe^{+2}) indirgenmesi, daha sonra bu ferro demir kullanılarak Fenton reaksiyonu ile hidrojen peroksitten $\cdot\text{OH}$ ve OH^- üretilmesi şeklinde gerçekleşir.^{22, 70} Reaksiyon aşağıdaki şekildedir.



Hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$): Hidroksil radikalleri, suyun yüksek enerji ile iyonlarına ayrılması ve fenton reaksiyonu sonucu oluşan güçlü bir radikal türüdür. Özellikle organik moleküllere affinitesi olan, etkili olduğu bölgede büyük hasar oluşturan, enerjisi yüksek bir oksidandır.⁷¹



Hidroksil radikali birçok biyolojik molekülden hidrojen atomu koparabilir, bunlara tiyoller de dahildir.



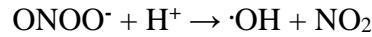
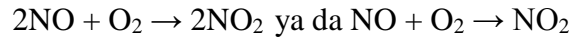
Hidroksil radikalının en iyi bilinen hasarı lipid peroksidasyonu (LPO) meydana getirmesidir. Bu olay, membrana yakın bir yerde meydana gelen hidroksil radikallerinin membran fosfolipid zincirlerine saldırmasıdır. Hidroksil radikalının doymamış çift zincir içeren yağ asitlerine daha ilgili olduğu bilinmektedir.^{72, 73}

Singlet Oksijen ($^1\text{O}_2$): Eşleşmemiş elektrona sahip olmayan singlet oksijen, bir serbest radikal değildir. Fakat orbitalinde içerdiği elektronların aynı yönlü olması singlet oksijenin diğer ROS ile okside olmasını artırmaktadır. Singlet oksijen, fotokimyasal reaksiyonlar içinde oldukça önemli bir yer tutar.^{74, 75}

Nitrik oksit (NO) ve azot dioksit (NO_2): Eşleşmemiş elektrona sahip olan nitrik oksit ve azot dioksit birer radikaldirler. Oksijen ile nitrik oksidin reaksiyona girmesi

sonucu azot dioksit meydana gelir ve oluşan bu bileşik çok zehirli ve güçlü bir oksidandır. Araşidonik asit metabolizması oksijen redüksiyonu sırasında NO₂'ye maruz kalması konsantrasyona bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Düşük miktarda NO₂'nin bu metabolizmayı büyük oranda artırdığı belirtilmiştir.^{62, 69, 76}

Nitrik oksit, L-arginin amino asidi ile in vivo olarak üretilmektedir. NO kokusuz, renksiz ve az indirgenebilen oksidan bir gazdır. Nitrik oksidin sahip olduğu eşlenmemiş elektronlar süperoksit, tiyol grupları ve azot dioksit ile seri reaksiyonlar meydana getirmektedirler. Bu radikallerin diğer radikaller ile birlikte diabetes mellitus, septik şok, kalp bozuklukları, Alzheimer hastalığı ve gastrik hasar oluşumunda etkili olduğu düşünülmektedir.^{62, 69, 77}



Diğer Serbest Radikaller:

Serbest oksijen radikallerinin kaynağını oluşturduğu karbon merkezli radikaller (R[·]), peroksil radikalleri (ROO[·]), alkoksil radikalleri (RO[·]), tiyol radikalleri (RS[·]) gibi önemli serbest radikaller de meydana gelebilir. Polidoymamış yağ asitlerinden meydana gelen peroksil radikali yarı ömrü uzun bir radikaldir. Tiyol radikalleri de tekrar oksijenle reaksiyona girerek sülfenil (RSO[·]) veya tiyol peroksil (RSO₂[·]) vb. gibi radikalleri meydana getirebilirler.⁷⁴

2.7.2. Serbest Radikal Kaynakları:

Serbest radikaller canlıda normal yaşam koşullarında metabolizma işleyişi sırasında oluşabildiği gibi çeşitli çevresel faktörler ile de oluşabilmektedir. Bunlardan en önemlileri stres ve hastalıklardır. Bu nedenle serbest radikal kaynakları endojen ve eksojen olmak üzere ikiye ayrılır.³

Eksojen radikal kaynakları:

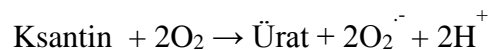
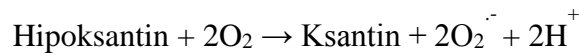
- İlaç oksidasyonları
- Radyasyon
- Güneş ışığı, UV-ışınları
- Sigara dumanı, egsoz gazları
- Kükürtdioksit
- Çevresel ajanlar: Hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, hiperoksit, pestisitler, solventler, anestezi maddeler, aromatik hidrokarbonlar gibi ksenobiyotikler.
- Stres: Stresin katekolamin düzeyini artırmasına ilave olarak artan katekolamin oksidasyon reaksiyonları ile serbest radikal oluşumu gözlenir.^{67, 78, 79}

Endojen radikal kaynakları:

a. Küçük moleküllerin otooksidasyonu: Normal ortamda tiyoller, hidrokinonlar, katekolaminler, flavinler, tetrahidrobiopterin gibi pek çok bileşik otooksidasyon reaksiyonları ile serbest radikalleri oluştururlar.^{79, 80}

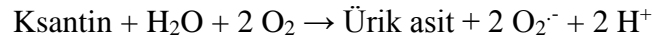
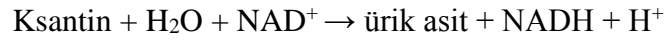
b. Enzimler ve proteinler: Çoğu enzimin aktivitesi sırasında serbest radikaller meydana gelir. Ksantin oksidaz (XO), aldehit oksidaz ve triptofan dioksijenaz böyle enzimlerden olup, serbest radikal meydana gelmesinde rol oynarlar.⁶⁷

Ksantin oksidaz aktivitesini, nikotinamid adenin dinükleotid (NAD⁺)-bağımlı dehidrogenaz olarak gösterir ve serbest radikal üretimi gerçekleştirmez. Fakat in vivo olarak oluşturulan iskemi, enzimin dehidrogenaz formundan oksidaz formuna dönüşmesine ve süperoksit radikalinin üretimine sebep olur. XO enzimi, oksijen varlığında hipoksantini ksantine veya ksantini ürata oksitler. Bu reaksiyonda elektron alıcısı moleküler oksijendir.^{81, 82}



Yukarıdaki tepkimelerle oluşan süperoksit radikallerinin ortaya çıkardığı en büyük hasar vasküler sistemdedir. Bunlara ek olarak yapılan çalışmalarda XO enziminin bağırsak, akciğer, karaciğer, böbrek gibi dokularda da hasara neden olduğu bildirilmiştir.^{83, 84}

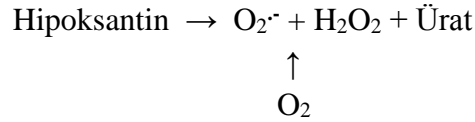
Ksantin oksidaz, normalde NAD⁺ bağımlı dehidrogenaz olarak görev yapar ve herhangi bir serbest radikal meydana getirmez. Fakat iskeminin akut fazı sonrasında hücre membranı sahte sodyum-kalsiyum pompası oluşturma eğilimine girer. Hücre içi kalsiyum konsantrasyonundaki artış proteaz enzimlerinin miktarının artması durumunda bile devam eder.⁶²



XD

Ca⁺⁺ ↓

XO



Bu süreçte hücre, ksantin dehidrogenazın (XD) XO'a dönüşümüne olanak sağlar. Hücre içi bu süreç sonunda süperoksit (O₂^{·-}) radikalinin üretimi gerçekleşir. Meydana gelen 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.^{62, 85}

Aldehit oksidaz, yapı itibariyle XO'a benzer ve substratlarının çoğunu da aynı şekilde kullanarak süperoksit radikali üretirler.⁸⁶

c. Mitokondriyal elektron taşınması: Hücrenin doğal yaşam sürecinde serbest radikallerin ana kaynaklarından biri Elektron Taşıma Sistemi'nden (ETS) sızan

elektronlardır. Mitokondriyal ETS'de meydana gelen sızıntı iki yerden kaynaklanır. Birinci olarak, nikotinamid adenin dinükleotid hidrojen (NADH)-dehidrogenaz basamağında, ikinci olarak da ubikinon basamağında koenzim Q'ya elektron sızması görülmektedir. ETS'nin son basamağında elektronların O₂'e taşınmasından sorumlu olan sitokrom oksidaz enzimi, oksijenin % 97-99'unu harcayarak suya indirger. Fakat O₂'nin % 1-3'ü, elektron transport zincirinde meydana gelen sızıntıdan ortaya çıkan elektronlarla birleşerek süperoksit radikalinin üretimini gerçekleştirir. Bu şekilde NAD⁺ bağlı substratlar, süksinat, adenozin difosfat (ADP) ve oksijen gibi endojen faktörler oksidatif fosforilasyonu regüle ederek mitokondriyal radikal üretimine etki eder.⁷³

d. Endoplazmik retikulum ve nüklear membran elektron transport sistemleri: Endoplazmik retikulum ve nüklear membranda ise serbest radikal üretimi membrana bağlı sitokromların oksidasyonundan kaynaklanır. Membrana bağlı sitokrom P-450 ve b₅, doymamış yağ asitleri ve ksenobiyotikleri redükte ederken dioksijen ve diğer substratları ise okside ederler.⁸⁷

e. Peroksizomlar: Peroksizom hücre içinde çok önemli bir hidrojen peroksit kaynağıdır. Bu organeldeki D-aminoasit oksidaz, urat oksidaz, L-hidroksilizin oksidaz ve yağ asidi açıl-CoA oksidaz gibi oksidazlar O₂⁻ üretmeden, bol miktarda H₂O₂ üretimine sebep olurlar. Fakat katalaz aktivitesi çok yüksek olduğu için bu organelden sitozole ne kadar H₂O₂ geçtiği bilinmemektedir.⁶⁷

f. Plazma membranı: Hücreyi saran plazma membranı serbest radikal üretimi için çok önemli bir yer arz etmektedir. Hücre dışında üretilen serbest radikallerin, diğer hücre elemanlarına ulaşmasından önce plazma membranını geçmesi gerekir. Bu geçiş sırasında membranda toksik reaksiyonların oluşmasına da neden olabilirler. Membran yapısını oluşturan fosfolipidler, glikolipidler, gliseridler ve membran proteinleri serbest radikallerden kolayca etkilenirler. Bu etkilenme sonucu meydana gelen LPO veya yapısal

proteinlerin oksidasyonu ile membran permabilitesinde bozulmalar meydana gelmektedir.⁸⁸

Hidrojen peroksit, hücre membranlarını kolay geçebilen güçlü oksidandır. Bu sebeple proteinlerin ve lipidlerin hidrofobik kısımlarını daha iyi parçalayabileceği ve toksik etkisinin daha fazla olacağı tahmin edilmektedir. Serbest radikallerin nonfagositik hücre membranlarında NADPH-oksidad aracılığı ile üretiminin serbest radikal oluşumunun önemli bir kaynağı olarak görülmektedir.⁸⁹

Mikrozomlar tarafından serbest radikal üretimi, lipoksijenaz ve siklooksijenaz gibi plazma membranıyla bağlantılı enzimler ve bu enzimlerin predominant substratı olan araşidonik asit metabolizması ile ilişkili pek çok yeni keşif, önemli biyolojik ürünlerin meydana gelmesinden dolayı ilginçtir. Bu ürünler prostaglandinleri, tromboksanları, lökotrienleri ve anafleksinin slow-reakting substratını (SRS-A) içerir.⁵⁰

Serbest radikal üretimini bazı toksik maddeler artırabilir. Bu maddeler dört gruba ayrılır.^{67, 90}

1) Toksinin kendisi bir serbest radikaldir.

2) Toksin bir serbest radikale metabolize olabilir. Örneğin toksik bir madde olan karbontetraklorür (CCl₄) karaciğerde sitokrom P-450 tarafından triklorometil (CCl₃) serbest radikale dönüştürülür. Bu radikalın oksijenle reaksiyona girmesi neticesinde meydana gelen peroksil radikali güçlü LPO başlatıcısıdır.

3) Toksinin metabolizması sonucu serbest oksijen radikali meydana gelir. Bunun en basit örneği paraguattır.

4) Toksin antioksidan aktiviteyi düşürebilir. Parasetamol karaciğerde sitokrom P-450 tarafından GSH ile reaksiyona girip miktarını azaltan bir ürün oluşturur.

2.7.3. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller, önemli etkilerini canlı hücreler için hayati olan DNA, yağlar ve proteinlere saldırarak gösterirler. Bunun bir sonucu olarak meydana gelen yapısal ve metabolik değişiklikler, çeşitli hasarların ve hastalıkların oluşmasına neden olmaktadır.⁹¹

92

Membran lipidleri üzerine etkileri: Serbest radikaller membranlar üzerindeki birçok bileşik ve molekülü etkilemesine rağmen, bu radikallerin en göze çarpan etkileri yağ asitleri üzerine etki ederek LPO'nun başlatılması olarak bilinir. LPO, çoklu doymamış yağ asitlerinin radikaller ile oksidasyonu sonucu başlayan ve otokatalitik zincir reaksiyonları şeklinde devam eden, birçok biyolojik yapıda hasarlara neden olan reaksiyon sürecidir. Membranlarda yıkıcı etkiye sahip olan LPO, genellikle meydana gelen hidroksil radikalının membran yağ asidi yan zincirlerine saldırmasıyla ortaya çıkar. LPO ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür.^{67, 93, 94}

Membran ya da çoklu doymamış yağ asitlerinin içerdiği metilen grubundan (-CH₂-) bir hidrojen (H[•]) atomunun çıkartılması ile lipid peroksidasyonu başlatan ilk hareket gerçekleşir. Böylece tek elektron içeren H[•]'nin uzaklaştırması sonucu karbon merkezli -CH[•]- lipid radikali meydana gelir. Meydana gelen lipid radikali dayanıksız bir bileşiktir. Lipid peroksil radikali, lipid radikallerinin moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu bir dizi değişikliğe uğrayarak molekül içi çift bağların pozisyonlarının değişmesiyle konjuge dien yapılarının meydana gelmesi ile oluşur. Daha sonra lipid peroksil radikalleri, membran yapısındaki diğer polidoymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek yeni karbon merkezli radikaller oluştururken, kendileri de açığa çıkan H[•] parçacığı ile birleşerek lipid hidroperoksitlerine dönüşür ve böylece olay kendi kendine katalizlenerek devam eder. Bu da zincirleme reaksiyonların başlamasına neden olur.^{69, 79}

Membranlarda biriken lipid hidroperoksitler, membran fonksiyonlarında çeşitli hasarlar meydana getirir. Ayrıca lipid hidroperoksitleri geçiş metalleri katalizörlüğünde yıkılması sonucu çoğu zararlı olan aldehitler oluşur. LPO sonucunda ortaya çıkan çeşitli aldehitlerden en iyi bilinenleri malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksinonenal (HNE)'dir. MDA ölçümü ile LPO'nun değerlendirilmesi yapılabilmektedir. Meydana gelen bu bileşikler ya hücrel olarak metabolize olurlar ya da başlangıçta etkili oldukları bölgeden difüze olup hasarlı hücrenin diğer bölümlerine yayılırlar. Lipid radikalleri hidrofobik yapıdadır ve bu nedenle reaksiyonların çoğu membrana bağlı moleküllerde meydana gelir. Peroksil radikalleri ve aldehitler, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olarak, reseptörleri ve membrana bağlı enzimleri inaktive etmek suretiyle membran proteinlerinde de ciddi hasarlar meydana getirebilirler. Bu şekilde iyon transportunu da etkileyebilirler.^{72, 90, 95, 96}

Lipid peroksidasyonu reaksiyonu iki şekilde sonuçlanır. Bu reaksiyon ya topalayıcı antioksidan reaksiyonlarla sonlandırılır ya da otokatalitik yayılma reaksiyonları ile devam eder.⁶⁹

Lipid peroksidasyonu sonucunda membran yapısında çeşitli değişiklikler meydana gelir. Bunlar kısaca:

- Membran üzerindeki yağ asiti miktarında azalma meydana gelir.
- LPO sırasında oluşan lipid hidroperoksitleri biyomembranlar üzerinde yerleşmiş halde bulunan bazı enzimleri inhibe eder.
- Tiyol gruplarını oksidasyona uğratarak membran üzerindeki protein-lipid ilişkisini bozar.
- Membranın yapı taşlarından olan lipidlerin akışkanlığını bozar.
- LPO sonucu oluşan serbest radikaller membran dışında da çeşitli yapısal moleküllerde bozulmalara neden olurlar.⁹⁷

Proteinler üzerine etkileri: Proteinler, lipitlere göre serbest radikallerden daha az etkilenirler. Proteinlerin etkilenme derecelerini içerdikleri aminoasit kompozisyonu belirler. Doymamış bağ ve sülfür içeren aminoasitlerden (triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metiyonin, sistein gibi) meydana gelmiş proteinler serbest radikallerden daha çabuk etkilenirler. Karbon merkezli radikaller, sülfür radikalleri ve proteinlerin radikallerinin reaksiyona girmesi sonucu oluşur. Bu karbon merkezli radikallerden protein karbonillerin (PCO) ölçülmesi ile proteinlerde meydana gelen oksidatif hasar ölçülebilir. Serbest radikaller proteinlerde parçalanma ve çapraz bağlanmalar ile proteinlerin birbirleri arasında birleşimlerini meydana getirebilir. Birçok biyokimyasal yapının ve özellikle enzimlerin yapısında bulunan proteinlerin hasar görmesi sonucu hücrenin normal fonksiyonlarında bozukluklar ve enzim aktivitelerinde aksaklıklar meydana gelir.^{67, 98}

Proteinlerin çok farklı şekillerde modifikasyona uğramasına bağlı olarak, protein oksidasyonunun tek bir evrensel belirteci yoktur. Çeşitli oksidatif protein modifikasyonları, hem oksidasyona uğrayan amino asit miktarı, hem de oluşturulan ürünler bakımından gayet spesifikdir. Bununla birlikte bazı oksidatif protein modifikasyonları ise yaygın özelliktedir ve çok sayıda amino asitte değişikliğe yol açarak, yine çok sayıda ürün oluşturabilir. Spesifik modifikasyonlara tirozinin ditirozine dönüşümü, geniş çaplı modifikasyonlara ise arginin, lizin ve tirozin amino asitlerinin yan zincirlerinin, 4-hidroksi-2-nonenal ile reaksiyonu sonucunda oluşan PCO'ler örnek olarak gösterilebilir.^{99, 100}

DNA üzerine etkileri: İyonize edici radyasyondan kaynaklanan hücre ölümünün başlıca nedeni olarak nükleik asitlerin ROS ile reaksiyona girmesi ve bu reaksiyon sonucunda DNA'da mutasyona ve hücre ölümüne yol açtığı düşünülmektedir. Ayrıca LPO sonucu oluşan MDA'nın nadirde olsa DNA'da mutasyona sebep olduğu, beslenme

ve yaşam şekli gibi faktörlerle bir araya gelerek kanser ve genetik bazı hastalıklara neden olduğu düşünülmektedir.^{101, 102}

Hidroksil radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girerek çeşitli değişimlere yol açar. DNA'nın yakınında oluşan hidroksil radikali mutasyonlara neden olabilir. DNA hasarı, hidroksil radikalının nükleik asitlerde doymuş karbon atomlarından hidrojen çıkarması veya çift bağlara katma tepkimeleri meydana getirmesi ile oluşur. Hidroksil radikalının singlet oksijeni nükleik asitlerle daha az tepkimeye girme yeteneğine sahiptir. Süperoksit anyonu ise güçlü bir oksitleyici olduğundan, guanin gibi yüksek elektron yoğunluklu bölgeler içeren moleküllerle daha kolay tepkimeye girer.^{103,}

104

Aktive olmuş nötrofiller tarafından meydana getirilen H₂O₂, hücre membranından kolayca geçerek hücre çekirdeğine ulaşıp DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir. Reaktif oksijen türleri tarafından meydana getirilen DNA'nın oksidatif hasarı sonucunda karsinogenez ve çeşitli hastalıklar görülebilir.^{101, 102, 105, 106}

2.7.4. Antioksidan Savunma Sistemleri

Canlıyı meydana getiren hücreler, serbest radikallerin ortaya çıkardıkları zararları engellemek için hem hücre içerisinde hem de hücre membranında işleyen birçok mekanizma geliştirmişlerdir. Bu işleyen mekanizmalar birçok şekilde etki meydana getirebildikleri gibi gerek radikal üretimini engellemek gerekse oluşan radikallerin zararlı etkilerini ortadan kaldırmak için tasarlanmıştır.³ Canlı organizmaların oluşturduğu bu sisteme antioksidan savunma sistemi veya kısaca antioksidanlar denilmektedir. Antioksidanlar endojen ve ekzojen kaynaklı olarak ikiye ayrılmakla beraber, serbest radikal oluşumunu engelleyen ve mevcut radikalleri etkisiz hale getirenler veya enzim ve enzim olmayanlar şeklinde de sınıflandırılabilir.¹⁰⁷

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler.^{107, 108}

1. Toplayıcı etki (scavenging etki): Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya reaktif olamayan yeni bir moleküle çevirme işlemine toplayıcı etki denir.

2. Bastırıcı etki (quencher etki): Serbest oksijen radikalleri ile etkileşip onlara bir hidrojen atarak aktivitelerini azaltan veya inaktif şekle dönüştüren etkiye bastırıcı etki denir.

3. Onarıcı etki (repair etki): Genellikle DNA'daki hasarların tamir edilmesinde bu etki sürekli geçerlidir.

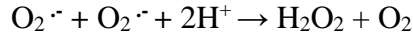
4. Zincir kırıcı etki (chain breaking etki): Serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye zincir kırıcı etki denir.

Serbest radikaller ve bunları etkisizleştirmek için kullanılan veya üretilen antioksidanlar hakkında mevcut bilgiler arttıkça bunlara olan ilgi de bilim adamları tarafından her geçen gün artmaktadır. Bu bağlamda hemen her sahada yapılan çalışmaların antioksidan özellikler ile birlikte değerlendirme çalışmaları da ön plana çıkmaktadır.³

1) Endojen (Doğal) antioksidanlar:

a) Primer antioksidanlar (Enzimler):

Süperoksit dismutaz (SOD): Bu enzim, süperoksit radikalinin H_2O_2 ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen enzim olarak görev yapar. SOD'nin aktivitesi yaşlanmaya paralel olarak artar. Bu enzim neredeyse bütün canlılarda bulunmaktadır. Memelilerde üç tipi vardır. Bunlar sitozolde bulunan dimerik Cu ve Zn ihtiva eden Cu-ZnSOD, ekstraselüler etki gösteren ECSOD ve mitokondri de bulunan tetramerik Mn ihtiva eden Mn-SOD izomerlerdir. SOD'nin Fe ihtiva eden izomeri Fe-SOD ise sadece mikroorganizmalarda ve bazı bitkilerde bulunmaktadır. SOD'nin tüm çeşitleri, süperoksitin dismutasyon reaksiyonunu katalizleyebilirler.^{85, 109, 110}



Süperoksit radikallerinin dismutasyonunu katalizleyen bu enzim, ilk olarak inek eritrositlerinden saflaştırılmış ve daha sonraki çalışmalarda insan eritrositlerinde de tespit edilmiştir. Birçok deney sisteminde çalışılan bu enzimin ksantin-ksantin oksidaz deney sistemine eklendiğinde sitokrom c'nin indirgenmesini inhibe ettiği görülmüştür. Hemen hemen bütün canlılarda bulunan ve süperoksit gibi oldukça saldırgan bir radikalın etkisini ortadan kaldıran SOD'ın canlılarda önemli roller üstlendiği ve yaşamsal etkiye sahip olduğu düşünülmektedir.¹¹¹

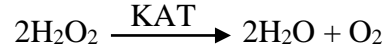
İlk kez 1969 yılında Mc Cord ve Fridovich tarafından Cu-Zn SOD tanımlanmıştır.¹⁰⁵ Hayvansal hücrelerin sitozolünde yer alan Cu-Zn SOD enziminin molekül ağırlığı yaklaşık olarak 32.000 Dalton'dur. Birbirinin aynı olan iki alt üniteden meydana gelir. Her alt ünite bir Cu atomu ve bir Zn atomu, bir zincir içi disülfür köprüsü, bir sülfhidril grubu ve bir asetillenmiş terminal amino grubu bulunduğu tesbit edilmiştir.^{80, 111}

Süperoksit dismutazın bir diğer çeşidi olan Mn-SOD; prokaryotik hücrelerde molekül ağırlığı 40.000 dalton olan, birbirinin aynı iki alt birimden oluşan ve enzimin alt birimi başına birer atom Mn bağlı olan enzimdir. Mitokondri dismutazı da diğer prokaryotik hücrelerdeki dismutaza benzer, ancak 80.000 dalton molekül ağırlığında tetramer yapıdadır. Mitokondri ve diğer prokaryotlara ait dismutazların pek çok ortak özelliği vardır ve primer yapıları da birbirine çok benzerdir. Ancak aynı tepkimeyi katalizlemeleri dışında Mn-SOD ile Cu-Zn SOD arasında hiçbir ortak yapısal özellik yoktur.¹¹²

Bazı bakteriler birden fazla SOD içerirler. Bunlardan biri bütün prokaryotlarda bulunan Mn-SOD olup, hücre sitoplazmasında bulunur. Bazı bakteriler ise periplazmik bölgelerinde demir içeren bir SOD (Fe-SOD) bulundurur.¹¹³

Serbest radikallerin oluşturduğu yıkıcı etkinin önlenmesinde SOD enziminin katalaz enzimi ile birlikte incelenmesi gerektiği ve hatta iki enzimin bir kompleks haline getirilip fenton reaksiyonu sonucu oluşan radikallerin giderilmesinde daha etkili olacağı düşünülmektedir. Çünkü SOD ile katalizlenen tepkime sonunda oluşan hidrojen peroksit oksijenin toksik türlerinden biridir ve katalaz tarafından birikimi önlenmektedir.¹¹⁴

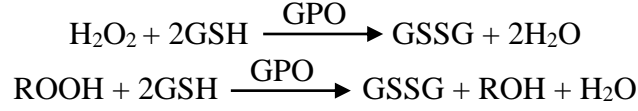
Katalaz (KAT): Katalaz, tüm canlı hücre tiplerinde değişik konsantrasyonlarda bulunan, dört tane alt grup içeren ve her bir alt grubu 60.000 dalton ağırlığında olan enzimdir. Bu enzimin en önemli görevi H₂O₂'i moleküler oksijen ve suya katalizlemektir.^{115, 116}



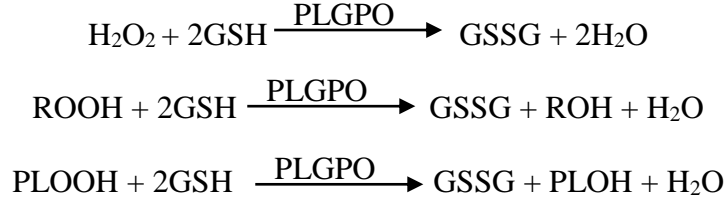
Katalaz enzimi daha çok peroksizomlarda bulunmaktadır. KAT'ın indirgeyici aktivitesinin hedefi H₂O₂ ile metil, etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllerdir. Büyük molekülü lipid hidroperoksitlerine etki etmez. Kan, kemik iliği, mukoz membranlar, karaciğer ve böbreklerde yüksek miktarda bulunmaktadır.^{67, 117, 118}

Glutasyon peroksidaz (GPO): Bu enzimin varlığı ilk defa Mills tarafından 1957 yılında memeli eritrositlerinde saptanmıştır.¹¹⁹ Hücrelerde oluşan hidroperoksitlerin uzaklaştırılmasından sorumlu olan bir enzimdir. Molekül ağırlığı ise yaklaşık olarak 85.000 dalton'dur. Birbirinin aynı dört subüniteden oluşan tetramerik bir enzimdir. Her subunit bir selenyum atomu içerir. Bu nedenle hücreleri çeşitli hasarlara karşı koruyan bir selenoenzim olduğu düşünülmektedir.^{67, 120, 121} Enzim aktivitesinin % 60-75'i ökaryot hücrelerin sitoplazmasında, % 25-40'ı ise mitokondride gerçekleşir. GPO, intrasellüler mesafede lipidleri peroksidasyondan koruyan en önemli enzimdir. Bu nedenle hücrenin özellikle sitozolik kompartmanında yer alan bu enzim hücrenin yapısını ve fonksiyonunu korur.^{122, 123}

GPO, aşağıdaki reaksiyonları katalizler.^{120, 124}



Membran fosfolipid hidroperoksitlerini alkole indirgeyen fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz (PLGPO) da selenyum atomu içerir ve monomerik yapıdadır. Ayrıca sitozolik bir enzimdir. Membrana bağlı antioksidan olan vitamin E'nin yetersiz olduğu durumlarda PLGPO, hücre membranını LPO'ya karşı korunmasını sağlar.^{125, 126}



Hidroperoksitlerin redükte olması ile meydana gelen okside glutatyon (GSSG), aşağıda anlatılan glutatyon redüktazın (GR) katalizlediği reaksiyon ile tekrar glutatyon (GSH)'a dönüşür. GPO'nun, hücredeki dağılımı, GR'ye bağımlıdır. Her iki enzim de en yüksek miktarda sitozolde bulunur.¹²⁶

Glutatyon S-transferaz (GST): “Selenyuma bağlı olmayan GPO” olarak adlandırılır. GST'ler, sistenin sülfür atomu üzerinden çeşitli elektrofollere GSH'ı aktaran proteinlerdir. *E.coli*'den insana kadar çok çeşitli türlerden GST saflaştırılabilirken en çok rat karaciğerinden saflaştırılmıştır.¹²⁷

Glutatyon S-transferazlar antioksidan aktivitelerinin yanında çok önemli biyokimyasal fonksiyonlara da sahiptirler. Katalitik ve katalitik olmayan çok sayıda fonksiyona sahip GST'lerin tüm canlı hücrelerde bulunması hayati önem taşıdıklarının bir göstergesidir. Hem detoksifikasyon yaparlar, hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolleri vardır. Katalitik olarak, yabancı maddeleri GSH'daki sisteine ait -SH grubu ile bağlayarak onların elektrofilik bölgelerini nötralize eder ve ürünün daha fazla suda çözünür hale gelmesini sağlarlar. Oluşan bu GSH konjugatları böylece organizmadan atılabilir ve daha ileri bir ürüne metabolize olabilirler. GSH'dan glutamat ve glisinin

koparılmasından sonra sisteinin serbest amino grubu asetillenerek merkaptürük asitlere dönüştürülür.¹²⁸

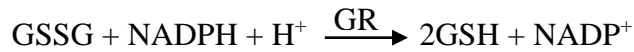


Glutasyon S-transferazlar başta araşidonik ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere LPO'ya karşı gösterdikleri Se-bağımsız GPO aktivitesi ile koruyucu mekanizma oluştururlar.¹²⁸



Glutasyon redüktaz (GR): GR, 50.000 dalton'luk alt birimlere sahip bir dimerdir. Görevi yükseltgenmiş glutasyonu (GSSG) indirgenmiş (GSH) hale çevirmektir. Bu indirgenme işlemi sırasında NADPH'dan gelen elektronlar GSSG'nin disülfid bağına direkt olarak transfer edilemezler. Sıklıkla önce NADPH'dan sıkıca bağlı bulunan flavin adenin difosfat (FAD)'a transfer edilirler. Daha sonra, alt birimlerdeki 2 sistein arasında bulunan disülfid köprüsüne transfer edilmek suretiyle GSSG'a aktarılmış olurlar.¹²⁹

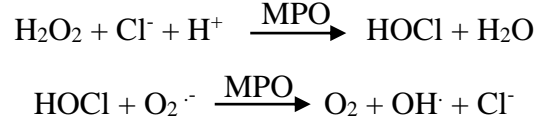
Her bir subunit 3 tane yapısal alan içerir, bunlar: FAD bağlayıcı olan, NADPH bağlayıcı olan ve ara yüz alanıdır. FAD alanı ve NADP⁺ alanı birbirine benzer ve diğer dehidrojenazlardaki nükleotid bağlayıcı alanlara benzerler. FAD ve NADP⁺'ın izoalloksozin ve nikotinamid halkaları birbirine geçecek şekilde geniş ölçüde aralarında bağlanırlar. GSSG için bağlayıcı alanın bir alt biriminin FAD alanı ile diğer alt birimin ara yüz alanından meydana geldiği belirtmek gerekir.¹³⁰



Alyuvarlardaki pentoz fosfat yolu ise GR'nin GSSG'yi GSH'a çevrimi için gereken NADPH'ı sağlar.¹³¹

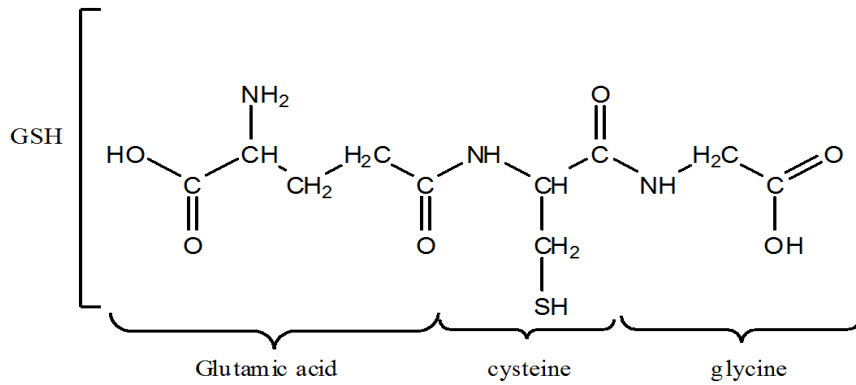
Miyelo peroksidaz (MPO): Nötrofil granüllerde bol miktarda bulunan MPO enzimi H₂O₂'den hipoklorik asit (HOCl) oluşturmak üzere etki eder. Asidik pH oluşumuna bağlı olarak MPO aktivitesi artmakta ve membranı kolayca geçen H₂O₂

bakteriye toksik etki yapmakta ya da hidroksil (OH·) radikaline dönüşmektedir. Bu tepkimede HOCl yer almaktadır. H₂O₂ ile MPO Cl⁻ iyonlarını kullanarak H₂O₂'i HOCl'e dönüştürmektedir. Çok reaktif olan HOCl birçok biyolojik molekülü oksitlemektedir.¹³²

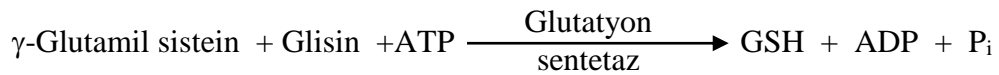
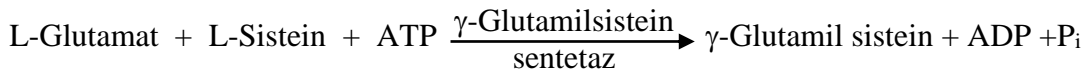


b) Sekonder antioksidanlar:

Glutasyon (GSH): GSH, birçok hücrede bulunur ve bir tripeptiddir (Şekil 2.2). GSH L-glutamat, L-sistein ve glisinden iki basamakta sentezlenir. Oluşan her peptid bağı için bir molekül ATP harcanır.¹³³



Şekil 2.2. Glutasyon'un molekül yapısı¹³⁴



Glutasyon, hemoglobin ve diğer eritrosit proteinlerinde bulunan sistein rezidülerini indirgenmiş halde tutarak sülfhidril tamponu görevini görür. Eritrosit hücrelerinde GSH/GSSG oranı yaklaşık 500'dür. İndirgenmiş glutasyon yani GSH, aktif bölgesinde selenyum iz elementini içeren bir enzim olan GPO enzimi katalizörlüğünde H₂O₂ ve organik peroksitlerle reaksiyona girerek antioksidan etki sergiler ve H₂O₂'yi alyuvarlardan uzaklaştırır. H₂O₂ birikmesi, hemoglobinin methemoglobine oksidasyon

hızını artırarak alyuvarların yaşama süresini azaltabildiğinden bu tepkime çok önemlidir. Ayrıca alyuvarlarda hemoglobinin methemoglobine otooksidasyonu ile süperoksit oluşurken, diğer dokularda sitokrom P 450 redüktaz ve XO gibi enzimlerle oluşur.^{131, 133,}

135

Glutasyon, H_2O_2 'yi veya organik oksitleri kimyasal olarak detoksifiye edebilir. Peptid bağından dolayı GSH'ı düşük enerjili bileşikler arasında kabul edebiliriz. GSH, hücre proteinlerini indirgemiş şekilde tutan disülfit-sülhidril değişimi tepkimelerinde etki gösterir. Belirli oksidaz tepkimeleriyle oluşan H_2O_2 'i uzaklaştıran enzim GPO'a substratlık yaparak proteinlerin sülhidril gruplarını da korur. GSH yokluğunda H_2O_2 birikir. GSSG, GR tarafından sürekli GSH'a indirgenerek GSH miktarı düzenlenir.¹³⁶

Moleküler oksijenden türeyen oksidatif radikaller iki mekanizmayla uzaklaştırılır. Birincisi, toksik radikallerin enzimatik inaktivasyonudur. Örneğin GPO ve KAT, 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 ilgilidir.¹³⁷

Birçok enzimin şayet sistein tiyol grubu ($-SH$) oksitlenecek olursa inaktive ya da inhibe olur. GSH, gamma-glutamilsisteinilglisin, duyarlı ve esansiyel $-SH$ gruplarını içeren enzimlerin doğal aktivatörüdür. GSH hücrede bir koenzimden ziyade var olan amino asit öncüllerinden kolayca sentezlenen doğal bir antioksidandır. Fenilalanin ve tirozinin oksidatif yıkımında görev alan maleilasetoasetat izomeraz da dahil olmak üzere GSH çok az sayıda enzim için spesifik bir koenzimdir. GSH'un hücre içi derişimi kontrol edilerek birçok enzimin aktivitesi düzenlenebilir.¹³⁷

Diğer sekonder antioksidanlar: Canlı vücudunda oldukça az miktarlarda bulunmasına rağmen vitaminlerin vücuttaki görevleri oldukça fazladır. Vitaminlerin bir bölümü, besinlerle aldığımız karbohidrat, yağ ve proteinden enerji ve hücrelerin oluşması

ile ilgili biyokimyasal olayların düzenlenmesine yardımcı olurlar. A, E ve C vitaminleri vücut hücrelerinin serbest radikallerin meydana getirebileceği hasarları önleyerek hücrelerin normal işlevlerini sürdürmeleri ve bazı zararlı maddelerin etkilerinin azaltılmasında (antioksidan etki) yardımcı olurlar. Antioksidanlar hücremizi, serbest radikallerin etkilerini bertaraf ederek korurlar. Bunlar, uyum içerisinde çalışan bir takım gibi radikalik saldırılara karşı koyarlar. β -karoten, askorbik asit ve tokoferolün antioksidan etkileri yıllardan beri bilinmektedir. β -karoten organizmada A vitaminin parsiyel oksijen öncülü olmasının yanı sıra bir antioksidan olarak görev yapar. Bununla beraber, 15 torr'da, 150 torr'dan daha iyi antioksidan olduğu, 760 torr'da ise prooksidan olarak davrandığı bildirilmiştir. Hücrelerin dışında β -karoten nöbet tutarken; hücre duvarından, içeri girmek isteyen saldırganlara karşı savunmayı ise eser elementlerden selenyumun da yardımıyla E vitamini üstlenmiştir.¹⁰⁷

Basit yapıdaki bir şeker asidinin laktonundan ibaret olan askorbik asit, yapı itibarıyla en basit vitaminlerden biridir. Yüksek yapılı hayvanların pek çoğu ve bitkiler kolayca askorbik asidi glukozdan sentezleyebilmektedirler. Hücre içerisindeki C vitamini serbest radikallere son darbeyi vurmakta ve bu şekilde radikallerin tesirleri ortadan kaldırılmaya çalışmaktadır. E vitamini yağda çözünen bir vitamin olup temel görevi lipidleri oksidatif hasardan korumaktır. İnce bağırsaklardan kolayca emilir ve vücudun tüm dokularına taşınarak hücre membranları etrafında depolanır. Böylece hücre membranında koruyucu bir tabaka oluşturmuş olur.^{138, 139}

2) Ekzojen antioksidanlar¹⁰⁸

1. Ksantin oksidaz inhibitörleri: Tungsten, allopürinol, oksipürinol, folik asit ve pterin aldehit.

2. Soya fasulyesi inhibitörleri: XD'nin proteolitik etki sonucu XO dönüşümünü inhibe ederler.

3. NADPH oksidaz inhibitörleri: Adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar, cetiedil ve difenilin iyodonyum.

4. Rekombinant süperoksit dismutaz

5. Troloks-c: E vitamini analogu.

6. Endojen antioksidan aktiviteyi artıran maddeler: GPO aktivitesini artırır.

Bunlar; ebselen ve asetil sisteindir.

7. Diğer nonenzimatik serbest radikal toplayıcıları: Mannitol ve albümin

8. Demir redoks döngüsünün inhibitörleri: Desferroksamin ve seruloplazmin

9. Nötrofil adezyon inhibitörleri

10. Sitokinler: Tümör Nekroz Faktör (TNF), Interlökin I

11. Barbitüratlar

12. Demir şelatörleri

Gıda antioksidanları¹⁰⁸:

- Butillenmiş hidroksitoluen (BHT)

- Etoksiguin

- Butillenmiş hidroksianisol (BHA)

- Propilgalat

- Sodyum benzoat

- Fe-süperoksit dismutaz

2.8 Ülser ve Oksidatif Stres İlişkisi

Ülser, asrımızın önemli ve yaygın problemlerinden biri olarak karşımıza çıkmakta ve mevcut tedavi yöntemleri hastaların şikayetlerini gidermeye yönelik semptomatik bir tedavi olarak kalmakta, bu nedenle ülser tedavisinde tam bir başarı sağlanamamaktadır. Ayrıca ülser semptomları giderilmiş veya ülseri tedavi edilmiş hastaların tekrar bu hastalığa yakalanma ihtimalinin de oldukça yüksek olduğu gözlenmektedir.¹⁴⁰

Ülser tedavisinde kullanılan ilaçların etiyolojiye yönelik değil semptomaya yönelik olması, uzun süreli kullanımlarında sindirim bozukluklarına yol açmaları, hatta tümör gelişim sıklığını artırmaları da en önemli dezavantajları olarak göze çarpmaktadır.¹⁴¹

Ülser veya canlıda hasara neden olan herhangi bir olay oksidatif stresin artması, devamında reaktif oksijen türlerinin (ROS) fazla miktarda üretilmesine sebep olur. Bu sebeple geçmiş çalışmalarda, oksijen radikallerinin stres, etanol ya da NSAİİ'lar kullanılarak meydana getirilen akut deneysel gastrik lezyonların patogenezindeki rollerinin önemli olduğu ortaya koyulmuştur.^{5, 142, 143}

Artan ROS miktarına ek olarak COX inhibisyonu ile ortaya çıkan PG eksikliği ve mide kan dolaşımı ile doku beslenmesinin bozulması, mide asiti, safra tuzları ve etanol'ün meydana getirdikleri zararı şiddetlendirmektedir. Ayrıca meydana gelen bu hasarlarda ROS'nin yıkım oluşturan etkileri, birçok canlı üzerinde incelenmiştir.¹⁴⁴⁻¹⁴⁶

2.9 *Maclura pomifera*

Moraceae 37 cinse ait 1179 tür barındıran tohumlu bitkilerin en geniş familyalarından biridir. *Maclura* bu ailenin en kapsamlı cinsindedir. *Maclura pomifera* (Yalancı Portakal) 36 türden biridir.^{147, 148} Sistematigi aşağıdaki gibidir.

Alem	: Plantae (bitkiler)
Divisio (Bölüm)	: Spermatophyta (Tohumlu bitkiler)
Subdivisio (Altbölüm):	Gymnospermae (Açıktohumlular)
Klassis	: Magnoliopsida (Dicotyledoneae = Çift Çenekli Bitkiler)
Subklassis	: Hamamelidae
Familya	: Moraceae (Dutgiller)
Genus (cins)	: <i>Maclura</i>
Tür	: <i>Maclura pomifera</i> (Raf.) C.K. Schneid.

Yalancı portakal (osage orange) olarak da bilinen, açık güneşli alanlarda ortaya çıkan, kuraklığa toleranslı, geniş toprak tip ve nem koşullarında yetişebilen bir ağaçtır. Bununla birlikte, 4.5'lik bir alt toprak pH sınırında, iyi drene topraklarda ve düzensiz ormanlarda bulunabilir. Bu ağaç, Nisan ve Haziran aylarında göze çarpmayan yeşil çiçekler halinde izlenir. Ekim ve Kasım aylarında kaba sarı yeşil olgun dokulu, ağır yeşil toplar halinde düşen, asitli ve sütlü, yenmeyen bir meyveye sahiptir (Şekil 2.3).¹⁴⁹



Şekil 2.3. *Maclura pomifera* (Osage Orange)¹⁵⁰

Maclura pomifera bitkisinden bazı moleküller izole edilip yapıları aydınlatılmıştır. Bu moleküllerden öne çıkanlar, izoflavin türevi iki major madde olan osajin ve pomiferindir. Taze meyvesinden elde edilen etil asetat ekstresinin % 25.7'si osajin ve % 36.2'si pomiferinden oluşmuştur.¹⁵¹ Bu bitkiden elde edilen ekstrelerin önemli farmakolojik etkileri bulunmuş olup, antimikrobiyal, antienflamatuar, antitümöral ve antidepresan özellikleri tespit edilmiştir.¹⁵²

2.9.1 *Maclura pomifera* 'nın Kimyasal Bileşeni

Maclura pomifera tohumunda, sırasıyla: % 5.88 kül, % 6.72 yağ, % 32.75 yüksek protein içeriği, % 33.89 nem, % 20.76 karbonhidrat ve yağ içerikleri tespit edilmiş olup, 100 gram kuru maddede, potasyum 421.65 ± 0.01 , kalsiyum 218.56 ± 0.06 , magnezyum 185.00 ± 0.001 , demir 3.25 ± 0.07 , çinko 2.61 ± 0.02 , bakır 1.15 ± 0.01 mg mineral ihtiva ettiği bulunmuştur.¹⁵³

Yağın fiziko-kimyasal özellikleri:

Ham yağı, % 13.87 oleik, % 76.19 stearik, % 6.76 ve % 2.40 palmitik asit gibi yağ asitlerini içermektedir.¹⁵³

Maclura pomifera tohumunun yağı 100 gram tohumda mg olarak, 18.92 α - tokoferol, 10.80 γ -tokoferol, 6.02 β -tokoferol ve 6.29 δ -tokoferol içerdiği tespit edilmiş olup, zengin tokoferol içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir.¹⁵³

Ayrıca *Maclura pomifera* önemli besinleri bünyesinde barındıran zengin bir kaynak olup, insan sağlığını pozitif yönde etkileyecek esansiyel yağları ve yağda çözünen biyoaktif molekülleri içermektedir.¹⁵³ Bu bitkiden elde edilen deniz tuzu ve metanol ekstresinin çeşitli antioksidan özellikli mantar türleri ile karşılaştırıldığında çok daha iyi antioksidan özellikleri olduğu bildirilmiştir.¹⁵⁴

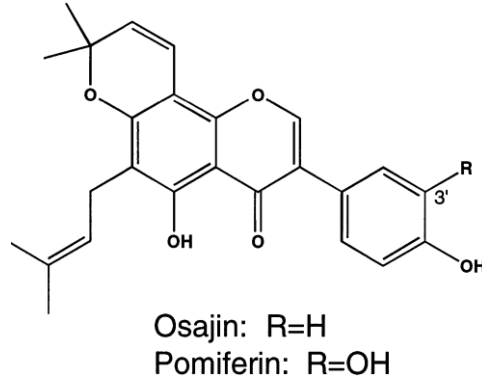
2.10 Osajin

Maclura pomifera bitkisinin etil asetat ekstratı % 25.7 civarında osajin (OSJ), % 36.2 oranında pomiferin içermektedir. *Maclura pomifera* bitkisinden saflaştırılan OSJ, sistematik olarak “5-hydroxy-3-(3-hydroxyphenyl)-8,8-dimethyl-6-(3-methylbut-2-enyl)-4H,8H-pyrano[2,3-h]chromen-4-one” şeklinde tanımlanır. Kısa olarak kapalı formülü $C_{25}H_{24}O_5$ 'dir.¹⁵⁵

Aynı bitkide yüksek miktarlarda bulunan OSJ ve pomiferin yapısal olarak benzer bulunmaktadır. İki molekül arasındaki tek fark, 3 nolu karbona bağlı grubun OSJ'de H

yerine pomiferinde OH grubunun bağlı olmasıdır. In vitro yapılan antioksidan potansiyel ve kapasiteyi ortaya koyma çalışmaları pomiferinin gl bir antioksidan olduğunu ortaya koysa da, benzer testler aynı şekilde izoflavon grubu maddelerin de antioksidan kapasitesinin olduğunu göstermiştir. Fakat genistein ve daidzein gibi soya kaynaklı izoflavon türevi maddeler, sahip oldukları antioksidan kapasiteye rağmen in vivo modellerde başarısız bulunmuştur.^{156, 157}

Kesin bir kanıt bulunmasa da pomiferinin tek başına sahip olduğu antioksidan kapasitesinin, OSJ'den farklı olarak fazladan sahip olduğu –OH grubundan kaynaklandığı düşünülmektedir (şekil 2.4).¹⁵¹



şekil 2.4. Osajin ve pomiferinin yapısı

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Deneyleerde Kullanılan Kimyasallar

Biyokimya ölçümlerinde kullanılan bütün kimyasal malzemeler Sigma Chemicals Company'den temin edilmiştir.

Ülser deneyleerinde kullanılan ilaçlar ise;

İndometazin : (Endol® kapsül 25 mg) Deva İlaç,

Ranitidin : (Ulcuran® 25 mg/ml 1 flakon) Abfar

firmalarından temin edilmiştir.

3.2. Deneyleerde Kullanılan Cihazlar

Soğutmalı santrifüj : Hettich Universal R 320

UV-visible spektrofotometre : BIO-TEK EPOCH, GEN 5 Yazılımı ile birlikte

pH metre : OHAUS Starter 3100 pH Metre

Hassas terazi : Denver Instrument TP-303

Derin dondurucu : Sanyo MDF - 235

Manyetik karıştırıcılar : Heidolph Hei-Standard

Otomatik pipetler : Eppendorf Research Pipette set 1 ve set 2

Buzdolabı : Vestel tek kapılı buzdolabı

Distile su cihazı : GFL 2012/4

Çalkalayıcı su banyosu : GFL 1083

Homojenizatör : Qiagen Tissuelyser LT

Vorteks : Heidolph Standard ve IKA MS-3 Digital

3.3. Deneyle Materyalinin Temini ve Etken Maddenin İzolasyonu

Maclura pomifera (Yalancı Portakal) Ankara Üniversitesi kampüs alanından Prof.

Dr. Ergin HAMZAOĞLU ve Dr. Murat KOÇ tarafından 15.10.2010 yılında toplanmıştır.

Örnekler yine aynı araştırmacılar tarafından incelenip uluslararası teşhis yöntemleri

kullanılarak türün teşhisi doğrulanmıştır. Örneklere M.Koç 1292 kodu verilerek Bozok Üniversitesi Biyoloji Bölümü Herbaryumunda (Yozgat) saklanmıştır.

Çalışmada, *Maclura pomifera* meyvelerinden izole edilen ve kimyasal yapısı osajin olarak doğrulanan izoflavonoid molekül kromatografik yöntemler ile elde edilmiştir.

Çalışmada gerekli olan osajin kromatografik yöntemlerle Prof. Dr. Ahmet ÇAKIR tarafından saflaştırılmış ve kimyasal yapısı UV-Görünür Bölge, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, 1D ve 2D NMR spektroskopik yöntemleri ile doğrulanmıştır.

Kurutulan meyveler bir değirmen ile küçük parçalara ayrıldıktan sonra etil asetat ile 5 kez oda şartlarında mesare edilerek ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon işleminin sonunda 114 gram ekstre elde edilmiştir. Bu ekstreten 25 gram alınarak silika jel kolon kromatografisinde fraksiyonlanmış ve kromatografik çalışmaların sonucunda 5'er gram civarında MP-1 ve MP-2 kodlu iki majör madde izole edilmiştir. Kromatografik çalışmalarda kolon kromatografisi için silika jel (Kiesel gel 60, 70-230 mesh, Merck) sabit faz materyali, ince tabaka kromatografisi (İTK) için ise silika jel (Hazır plak, Kiesel gel 60 F254, 0.2 mm, Merck, 5554) kullanılmıştır. İTK'da maddelere ait lekeler UV lambasında UV254 ve UV366 nm'de belirlenmiştir. Kolon Kromatografisi için, 250 gram silika jel (70-230 mesh) kloroform-etil asetat (8:2) hareketli faz sistemi ile süspansiyon haline getirilerek ve 2,5 x 70 cm boyutundaki bir kolona doldurulmuştur. Ekstre (25 gram) yeterli miktarda kloroform-etil asetat (8:2) içerisinde sıcakta çözüldükten sonra kolona tatbik edilmiştir. Elüsyona kloroform-etil asetat (8:2) hareketli faz ile devam edilmiş ve fraksiyonlar 50 ml hacimler halinde toplanmıştır. Toplanan fraksiyonlar İTK ile kloroform-etil asetat (8:2) sistemi ile kontrol edilerek fraksiyonların saflığı belirlenmiştir. Saf maddeleri içeren fraksiyonlar ayrı konularak kendi arasında birleştirildikten sonra çözücüsü uzaklaştırılmış ve 5'er gram civarında MP-1 ve MP-2

olarak kodlanan iki madde saflaştırılmıştır. Bu maddelerin kimyasal yapıları IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT ¹³C-NMR, ¹H,¹H-COSY, HMQC ve HMBC spektroskopik yöntemleri ile sırasıyla osajin (MP-1) ve pomiferin (MP-2) olarak aydınlatılmıştır.

3.4. Deneysel Hayvanların Temini

Bu çalışma, Deneysel Hayvanları Yerel Etik Kurulu tarafından 29.08.2013 tarihli, 118 sayılı yazı ile izni ile gerçekleştirilmiştir.

Ayrıca Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2012/364 nolu proje ile desteklenmiştir.

Çalışmada 180–200 gram ağırlıkta Sprague Dawley ırkı erkek ratlar kullanılmıştır. Deneysel hayvanları, Atatürk Üniversitesi, Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarlarından temin edilmiş ve deneyler aynı merkezde gerçekleştirilmiştir. Hayvanlar deneye alınmadan önce gruplara ayrılmış, standart şartlar altında muhafaza edilmiş ve beslenmiştir.

3.5. Ratlarda İndometazin Uygulaması ile Deneysel Ülser Oluşturulması

3.5.1. Ülser Modeli

İndometazin ile uyarılan gastrik hasarlı doku üzerine *Maclura pomifera* bitkisinden elde edilen osajin maddesinin etkilerini araştırmak üzere yapılan bu çalışma, Guidobono ve ark.¹⁵⁸ (1997) yöntemi temel alınarak gerçekleştirilmiştir.

Deneysel prosedürü aşağıda belirtilen şekilde gerçekleştirilmiştir.

1. Her bir grupta 6 adet rat kullanılarak 6 deneysel gruba oluşturulmuş ve altlık malzemeleri alınarak bir gün boyunca aç bırakılmıştır. Bu gruplar;

a) Kontrol (indometazin) grubu: Ülser gelişimini kontrol etmek amacıyla sadece indometazin verildiği grup,

b) Referans grubu (REF): Ülser tedavisinde yaygın olarak kullanılan ranitidinin verildiği grup,

c) Sağlıklı grup: İndometazinin ülser yapıcı etkisini ve enzim aktivitesindeki değişiklikleri sağlıklı dokularla mukayese edebilmek için hiçbir maddenin verilmediği grup,

d) Tedavi grupları: Antiülser etkilerini incelemek üzere osajin verilen gruplardır.

- OSJ-100: Osajinin 100 mg/kg dozda uygulandığı grup

- OSJ-200: Osajinin 200 mg/kg dozda uygulandığı grup

- OSJ-400: Osajinin 400 mg/kg dozda uygulandığı grup

2. Hayvanlar aç bırakıldıktan bir gün sonra, her bir uygulama grubunda bulunan ratlara;

Maclura pomifera bitkisinden elde edilen osajin maddesi değişik dozlarda saf suda çözülerek oral yoldan steril metal bir sonda ile verilmiştir. Referans ilaç olarak belirlenen ranitidin (25 mg/kg) ise REF grubuna saf suda çözülerek oral yoldan uygulanmıştır. Sağlıklı gruba ise hiçbir muamele yapılmadan, diğer hayvanlar ile aynı şartlar altında (oda, sıcaklık, nem, güneş ışığı, karanlık vb.) muhafaza edilmiştir.

3. Yukarıda belirtilen tüm maddeler belirtilen doz ve miktarlarda oral olarak verildikten 5 dakika sonra sağlıklı grup hariç tüm sıçanlara aynı şekilde oral yolla indometazin (25 mg/kg dozda) verilmiştir.

4. İndometazinin verilmesinden 6 saat sonra yüksek dozda anestezi madde (thiopental sodium 50 mg/kg) kullanılarak tüm gruplardaki hayvanlar sakrifiye edilmiş ve mideleri alınmıştır.

5. Mideler büyük kuvartur boyunca açılarak serum fizyolojik ile yıkanmış ve makroskopik olarak incelenmiştir. Daha sonra tüm sıçan gruplarına ait mide dokuları biyokimyasal ve histopatolojik incelemeler için -20 °C'de buzdolabına ve % 10'luk formalin solüsyonuna alınmıştır.

6. Osajin maddesinin antiülser etkileri, makroskopik ve biyokimyasal analizlere dayandırılmak suretiyle belirlenmiştir. Osajin verilen gruplardan elde edilen sonuçlar,

indometazin ve referans ilaçlarının verildiği gruplardan elde edilen sonuçlar ile karşılaştırılmıştır.

3.6. Mide Dokusunun Makroskopik İncelenmesi

Gastrik lezyonların belirlenmesi için rat mideleri makroskopik değerlendirmeye alınmış, ülser sayısı ve alanları tespit edilmiştir. Ülser alan genişlikleri milimetrik kâğıt kullanılarak bir büyüteç yardımıyla ölçülmüştür.

3.7. Mide Dokusunun Biyokimyasal İncelenmesi

Antiülser deneylerinden sonra üç gün içerisinde biyokimyasal incelemeler için -20°C'de saklanan mide dokularındaki enzim aktivitelerini ölçmek üzere mide dokularından homojenatlar hazırlanmıştır. Mide dokusu homojenatlarından elde edilen süpernatantlarda SOD ve KAT enzim aktiviteleri ile GSH ve LPO miktarları literatürlere dayalı, uygun metotlar kullanılmak suretiyle tespit edilmiştir. Tüm ölçümler oda sıcaklığında, üç veya dört paralel tekerrür olarak gerçekleştirilmiştir.

3.7.1. Doku Homojenatlarının Hazırlanması:

Mide dokuları bir havan içinde sıvı azot ile öğütülerek toz haline getirilmiştir. Her bir rat grubu dokularından 0.025 g tartılmış, üzerlerine 1.5 ml tampon çözeltilerden (her parametre için farklı bir tampon sistemi) ilave edilerek 1/60 (w/v) oranında seyreltilmiştir. Bu homojenatlar daha sonra homojenizatörde 10 dakika süreyle buz üzerinde homojenize edilmiştir. Homojenatlar bir süzgeç kâğıdından süzildükten sonra soğutmalı santrifüj kullanılarak her enzim için literatürlerde belirtilen hızlarda 4°C'de santrifüj edilmiş ve hazırlanan bu süpernatantlarda biyokimyasal araştırmalar yapılmıştır.¹⁵⁹

3.7.2. Deneylerde Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları

Lipid Peroksidasyon Seviyesinin Belirlenmesinde Kullanılan Çözeltiler

1. LPO Homojenat Tamponu (% 10 KCl):

10 g KCl alınarak bir miktar saf suda çözülmüş ve hacmi saf su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.

2. LPO Ölçüm Karışımı:

a) % 8 Sodyum dodesil sülfat (SDS): 0.8 g SDS alınıp bir miktar saf suda çözülmüş ve hacmi saf su ile 10 ml'ye tamamlanmıştır.

b) % 0.08 Tiyobarbütirik (TBA): 0.48 g TBA alınarak 1-2 damla 1 M NaOH çözeltisi ilavesi ile bir miktar saf suda çözülmüştür. Daha sonra distile su ile hacmi 60 ml ye tamamlanmıştır.

c) % 20 Asetik asit: 13 ml %100'lük glasiyel asetik asit alınmış, üzerine 65 ml saf su eklenmiştir.

Glutasyon Seviyesinin Belirlenmesinde Kullanılan Çözeltiler

1. GSH Homojenat Tamponu (50 mM, pH 7.4, Tris - HCl Tamponu):

1.514 g Tris-HCl 200 ml saf suda çözülmüş, pH'sı bir pH metre kullanılarak 7.4'e ayarlanmış ve sonra hacmi saf su ile 250 ml ye tamamlanmıştır.

2. GSH Ölçüm Tamponu (200 mM pH 8.2, 0.2 mM EDTA (Etilendiamin tetraasetik asit) içeren Tris-HCl Tamponu):

6.05 g Tris-HCl ve 0.0146 g EDTA alınarak 200 ml saf suda çözülmüş, pH'sı bir pH metre kullanılarak 8.2'ye ayarlanmış ve sonra hacmi saf su ile 250 ml ye tamamlanmıştır.

3. GSH Miktarını Ölçmek İçin Gereken Çözelti (10 mM DTNB (5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid))):

0.03963 g DTNB alınmış ve bir miktar metil alkolde çözülerek hacmi yine metil alkol ile 10 ml ye tamamlanmıştır.

Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Belirlenmesinde Kullanılan Çözeltiler

1. SOD Homojenat Tamponu (50 mM pH 7.8, 10 mM EDTA içeren Fosfat

Tamponu):

1.7 g KH_2PO_4 ve 0.73 g EDTA alınarak 200 ml saf suda çözülmüş, pH'sı bir pH metre kullanılarak 7.8'e ayarlanmış ve sonra hacmi saf su ile 250 ml'ye tamamlanmıştır.

2. SOD Ölçüm Karışımı:

a) 0.3 mM Ksantin: 0.0018 g Ksantin alınarak bir miktar saf suda çözülmüş ve hacmi saf su ile 40 ml'ye tamamlanmıştır.

b) 0.6 mM EDTA: 0.0035 g EDTA alınmış, bir miktar saf suda çözülmüş ve hacmi saf su ile 20 ml'ye tamamlanmıştır (2 damla 5 M NaOH ile çözünmektedir).

c) 150 μM NBT (Nitro blue tetrazolium) : 0.0024 g NBT (Nitroblue tetrazolium) alınarak bir miktar saf suda çözülmüş ve hacmi saf su ile 20 ml'ye tamamlanmıştır.

d) 0.4 M Na_2CO_3 : 0.5088 g alınarak bir miktar saf suda çözülmüş ve hacmi saf su ile 12 ml'ye tamamlanmıştır.

e) 1.2 g / L BSA (Bovine Serum Albumine): 0.0061 g tartılmış, bir miktar saf suda çözülmüş ve hacmi saf su ile 6 ml'ye tamamlanmıştır.

3. SOD Enziminin Aktivitesini Ölçmek İçin Gereken Çözelti (167 U/L Ksantin oksidaz):

a) Orijinal ambalajından (1 ml sinde 32 mg protein ve 0.3 U enzim ihtiva eden enzim) 34.79 μl alınmış ve üzerine 2 ml soğuk 2 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ çözeltisi eklenmiştir.

b) 2 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$: 0.7928 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ alınmış, bir miktar saf suda çözülmüş ve hacmi saf su ile 3 ml ye tamamlanmıştır. Bu çözelti her seferinde taze olarak hazırlanmış ve +4°C'de saklanarak soğuk olarak kullanılmıştır.

c) 0.8 mM CuCl_2 : 0.0108 g CuCl_2 alınmış, bir miktar saf suda çözülmüş ve hacmi saf su ile 100 ml ye tamamlanmıştır.

Katalaz Aktivitesini Belirlenmesinde Kullanılan Çözeltiler

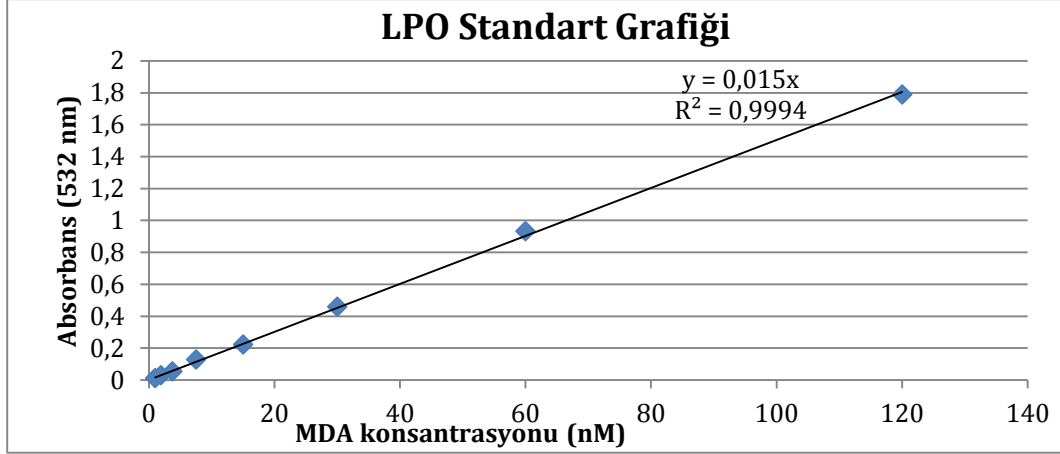
1. KAT Homojenat Tamponu (50 mM pH 7.8, % 1 Triton X-100 içeren Fosfat Tamponu): 1.7 g KH_2PO_4 ve 2.5 ml Triton X-100 alınarak 200 ml saf suda çözülmüş, pH'sı bir pH metre kullanılarak 7.8'e ayarlanmış ve sonra hacmi saf su ile 250 ml'ye tamamlanmıştır.

2. KAT Ölçüm Karışımı (40 mM, pH 7'de H_2O_2 içeren 50 mM Fosfat Tamponu): 1020 μl H_2O_2 ve 1.7 g KH_2PO_4 200 ml saf suda çözülmüş, pH'sı bir pH metre kullanılarak 7.0'a ayarlanmış ve sonra hacmi 250 ml'ye tamamlanmıştır.

3.7.3. Lipid Peroksidasyon Seviyesinin Ölçümü:

Ölçüm prensibi: Serbest radikallerin hücre zarında oluşturduğu LPO'nun son ürünlerinden olan MDA düzeyini belirlemek için kullanılan yöntemlerin çoğu MDA'in tiyobarbitürik asit (TBA) ile verdiği reaksiyonu temel alınmaktadır. Bir molekül MDA iki molekül TBA ile stabil kırmızı renk oluşturmak üzere reaksiyona girmektedir. LPO ölçümü, Ohkawa ve ark.¹⁶⁰ (1979) metoduna göre MDA'in asidik ortamda TBA ile oluşturduğu rengin 532 nm'de ölçülmesi prensibine dayanarak yapılmıştır.

Ölçüm: 0.025 g doku üzerine 1.5 ml %10 KCl ilave edilerek homojenize edilmiştir. Homojenatlar, 5000 g 4°C 'de 20 dakika santrifüj edilmiş ve bu süpernatantlar LPO miktarının belirlenmesinde kullanılmıştır. Kapaklı deney tüpleri içerisine 250 μl homojenat, 100 μl % 8 sodyum dodesil sülfat (SDS), 750 μl % 20 asetik asit, 750 μl % 0.08 TBA ve 150 μl distile su pipetlenerek vortekslenmiştir. Karışım 100°C 'de 60 dakika inkübasyona bırakıldıktan sonra üzerine 2.5 ml n-bütanol ilave edilmiş ve ölçüm alınmıştır.



Şekil 3.1. MDA miktarının hesaplanmasında kullanılan standart grafik

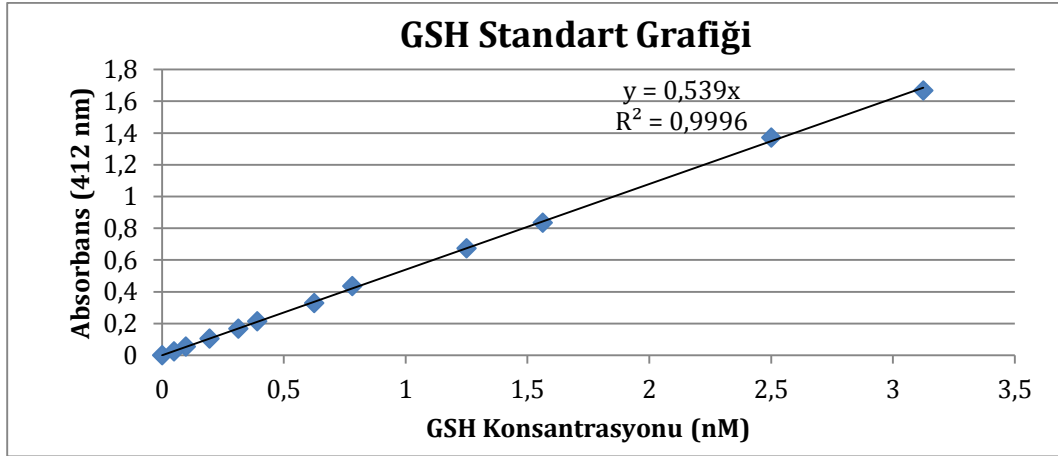
Miktarın hesaplanması: Oluşan kırmızı renk miktarları 532 nm’de 96 kuyulu kuartz plate kullanılarak okunmuştur ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan MDA stok çözeltisi kullanılarak oluşturulan standart grafikten yararlanarak ölçümler yapılmıştır (Şekil 3.1). Numunelerin LPO miktarları, nmol MDA/g doku olarak tarif edilmiştir. Her bir faktörün etkisi 3 tekrar yapılarak verilmiştir.

3.7.4. Total Glutasyon (GSH) Miktarı Ölçümü:

Ölçüm prensibi: Ölçüm ortamındaki DTNB [5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit)] disülfid bir kromojendir ve sülfhidril gruplu bileşikler tarafından kolayca indirgenmektedir. Meydana gelen sarı renk 412 nm’de spektrofotometrik olarak ölçülebilmektedir.

Ölçüm: Sedlak ve Lindsay’in¹⁶¹ (1968) geliştirdiği yöntem esas alınarak gerçekleştirilmiştir. 0.025 g doku üzerine 1.5 ml 50 mM Tris-HCl (pH 7.4) ilave edilerek homojenize edilmiştir. Homojenatlar, 12.000 g 4°C’de 10 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatantlar, GSH miktarının belirlenmesinde kullanılmıştır. Kapaklı deney tüpleri içerisine 1500 µl ölçüm tamponu (0.2 mM EDTA içeren 200 mM Tris-HCl, pH = 8.2), 500 µl süpernatant, 100 µl DTNB ve 7900 µl metanol pipetlenerek vortekslenmiştir. Karışım 37°C’de 30 dakika inkübasyona bırakılmış ve sonra ölçümleri alınmıştır.

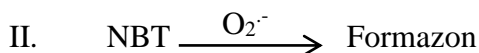
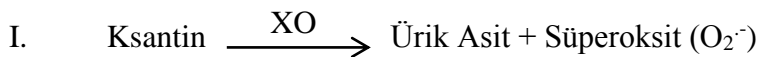
Miktarın hesaplanması: Oluşan sarı rengin 412 nm’de absorbanları 96 kuyulu kuartz plate kullanılarak okunmuştur. Seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan GSH stok çözeltisi kullanıldı ve oluşturulan standart grafikten (Şekil 3.2) yararlanarak hesaplamalar yapıldı. Numunelerin GSH miktarları, nmol/mg doku olarak tarif edildi. Her bir faktörün etkisi 3 tekrar yapılarak belirlendi.

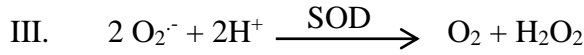


Şekil 3.2. GSH miktarının hesaplanmasında kullanılan standart grafik

3.7.5. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Ölçümü:

Ölçüm prensibi: Ksantin, XO enzimi vasıtasıyla ürik aside dönüştürülürken meydana gelen süperoksit radikalleri, şayet ortamda NBT (nitrobluetetrazolium) mevcutsa, NBT ile reaksiyona girerek formazon boyası oluşturmaktadırlar. Bu bileşik 560 nm dalga boyunda maksimum absorban vermektir. Şayet ortamda SOD enzimi varsa süperoksit radikalleri bu enzim tarafından H_2O_2 'ye dönüştürüldüğü için formazon oluşumu azalacak, buna bağlı olarak da 560 nm’de ölçülen absorban azalacaktır. Absorbanstaki azalmanın miktarı SOD aktivitesini vermektir. Özetle; SOD aktivitesi aşağıda verilen II nolu reaksiyonun inhibe edilme derecesiyle ölçülebilmektedir.





Ölçüm: SOD aktivitesi Sun ve ark.¹⁶² (1988) tarafından tarif edilen yöntemle ölçülmüştür. Mide dokuları homojenize edildikten sonra 18.000 g'de 1 saat santrifüj edilmiştir. Deney tüpüne 980 µl ölçüm karışımı (0.3 mM ksantin, 0.6 mM EDTA, 150 µM NBT, 0.4 M Na₂CO₃, 1.2 g/L BSA), 200 µl supernatant, 20 µl XO eklendikten sonra karıştırılarak yaklaşık 20 dakika inkübasyon bırakılmış ve 400 µl 0.8 mM CuCl₂ ilave edilerek reaksiyon sonlandırılmıştır.

Aktivitenin hesaplanması: Oluşan formazon miktarları 560 nm'de kuartz plate kullanılarak okunmuştur. Seyreltme katsayıları dikkate alınarak aşağıdaki geliştirilen formülden aktivite değerleri (EÜ) elde edilmiş ve SOD aktivitesi mmol/dakika/mg doku olarak tarif edilmiştir. Her bir faktörün etkisi 3 tekrar yapılarak verilmiştir.

$$\text{EU/mg doku} = \frac{\Delta A_{\text{kör}} - \Delta A_{\text{numune}}}{\Delta A_{\text{kör}}}$$

3.7.6. Katalaz (KAT) Aktivitesinin Ölçümü:

Ölçüm Prensipleri: Aktivite, ölçüm ortamındaki H₂O₂'nin KAT vasıtasıyla suya dönüşümü sağlanırken meydana gelen absorbans azalmasının 240 nm'de ölçülmesi esasına dayanmaktadır.

Ölçüm: KAT'ın aktivitesi Aebi'nin¹⁶³ (1984) belirttiği metoda göre ölçülmüştür. 0.025 g doku alınmış, üzerine 1.5 ml 50 mM K-fosfat tamponu (pH 7) ilave edilerek homojenize edilmiştir. Oluşan homojenat 10.000 g'de 4°C'de 60 dakika santrifüj edilerek süpernatantlar katalaz aktivitesi ölçümünde enzim kaynağı olarak kullanılmıştır.

Kuartz plate içerisine H₂O₂ çözeltisinden 100 µl konularak numune çözeltisinden 200 µl ilave edildiği anda kronometre çalıştırılmıştır. Kuartz plate, okuyucuda 240 nm dalga boyunda 15 saniye aralıkla 3 dakika süreyle ölçülerek absorbans azalması köre karşı kaydedilmiştir.

Aktivitenin hesaplanması: Ölçümler, lineer olarak absorbans azalması olan aralıkta dakika başına absorbans azalması olarak hesaplanmıştır. Işık yolu (b)= 10mm, azalma katsayısı ($\epsilon_{H_2O_2}$), 0.00394 (mmol⁻¹ x mm⁻¹) alınarak $A = \epsilon.b.c$ formülünden 240 nm'de, dakikada 1 mmol H₂O₂'in harcanmasını sağlayan enzim miktarı (=EÜ) hesaplanmıştır. Formülde seyreltme faktörleri dikkate alınmış, 25 mg doku için mmol/min= 60/25 x A/0.00394 şeklinde oluşturulan formülde bütün aktiviter yerine konularak absorbans değerlerinden hesaplanmıştır. KAT aktivitesi, µmol/dakika/mg doku olarak tarif edilmiştir. Deneyle 3 paralel tekrar halinde yapılmıştır.

3.8. İstatistiksel Analizler

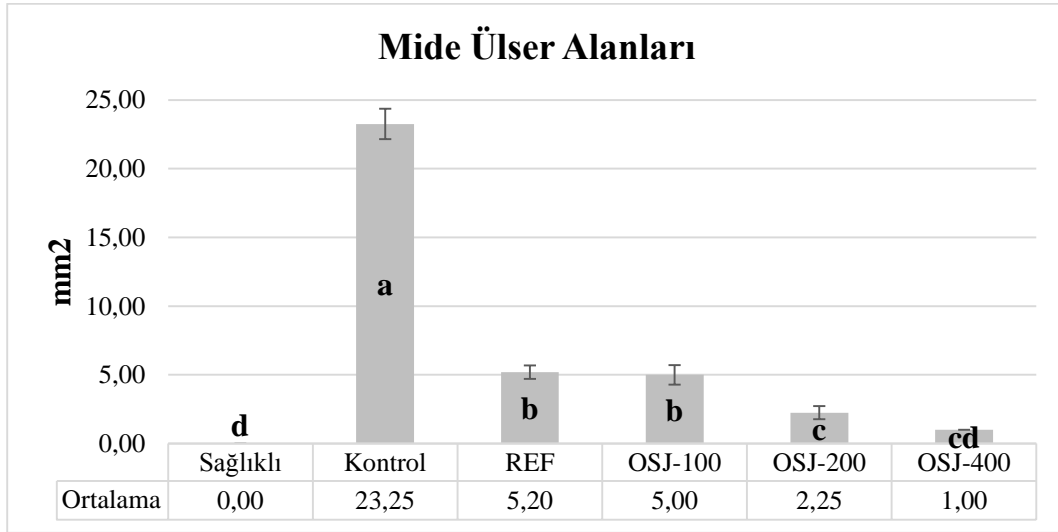
İstatistiksel analizler IBM SPSS 20.0 yazılım programı kullanılarak yapılmıştır.¹⁶⁴ Bütün ölçümlerde istatistiksel farklılıklar ve önem seviyeleri "One-way Analysis of Variance (ANOVA)" testi ile belirlenmiş ve p<0.05 seviyesindeki sonuçlar önemli kabul edilmiştir. Çoklu karşılaştırmalarda Duncan testi uygulanmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Makroskobik Analiz

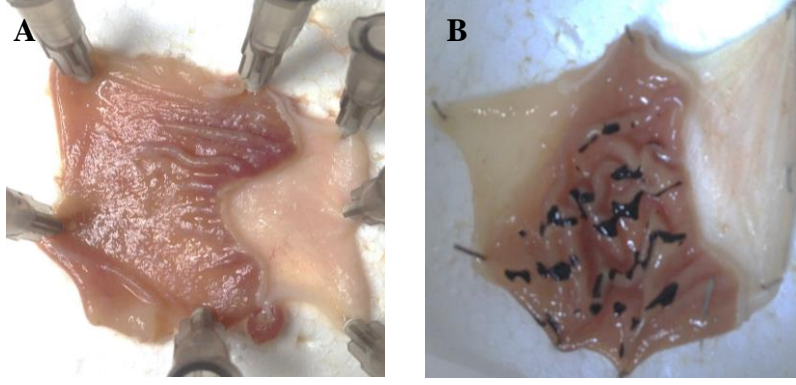
Bu çalışmada *Maclura pomifera* bitkisinden izole edilen osajin (OSJ) maddesinin (100, 200 ve 400 mg/kg) dozlarının ve ranitidinin (referans ilaç olarak) 25 mg/kg dozunun indometazin (IND) ile oluşturulan deneysel ülser modeli üzerine antiülser etkileri incelenmiştir. Çalışmamızda aynı harflerle gösterilen ortalama değerler istatistiksel olarak farksız ve/veya anlamsız ($p>0.05$) kabul edilirken, farklı harflerle gösterilen ortalama değerler ise istatistiksel olarak farklı ($p<0.05$) değerlendirilmiştir.

Deneysel ülser modelinde meydana gelen hasarın miktarı ve kapladığı alan makroskobik olarak ölçülebilmektedir. Oluşan ülser alanlarının yoğunluğu uygulanan tedavinin etkinliğini değerlendirmede önemli bir kıstastır.

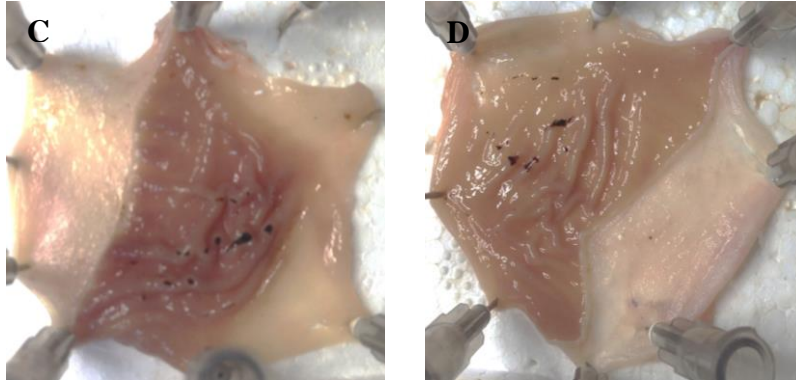


Duncan testine göre şekildeki farklı harfler gruplar arası farkı göstermektedir.

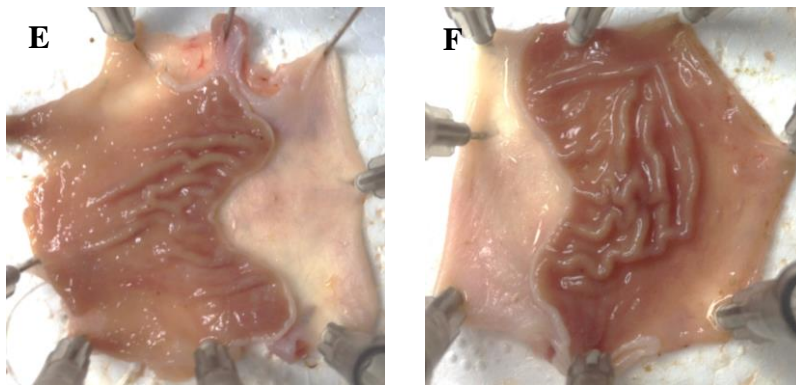
Şekil 4.1. Mide ülser alanlarını gösteren grafik



Şekil 4.2. Sağlıklı (A) ve Kontrol (B) gruplarına ait resimler



Şekil 4.3. REF (C) ve OSJ-100 (D) gruplarına ait resimler



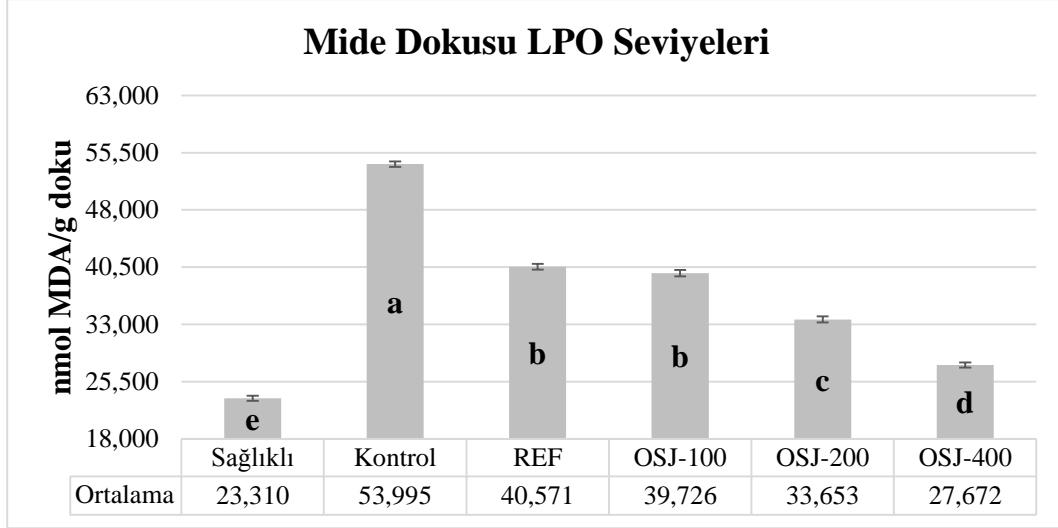
Şekil 4.4. OSJ-200 (E) ve OSJ-400 (F) gruplarına ait resimler

Deney sonunda ratlardan çıkarılan mide üzerinde yapılan ülser alanı ölçümlerini gösteren Şekil 4.4 incelendiğinde IND (Kontrol) uygulamasının önemli oranda ülser alanı meydana getirdiği gözlenmiştir ($p<0.05$) (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2). Referans tedavi grubu olarak belirlenen REF grubu, IND grubu ile karşılaştırıldığında referans ilacın ve osajinin tüm dozlarının ülser alanını anlamlı şekilde azalttığı tespit edilmiştir ($p<0.05$). Ayrıca OSJ 100 grubu, REF grubu ile benzer şekilde etki ederek ülser alanını azaltmış olup, bu iki grup arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$) (Şekil 4.1 ve Şekil 4.3). OSJ-200 ve OSJ-400 grupları REF ve OSJ-100 grupları ile kıyaslandığında osajinin 200 ve 400 mg/kg dozları ülser alanını diğer gruplara nazaran daha fazla azalttığı tespit edilmiş ve OSJ-400 grubunun sağlıklı mide dokuları arasında istatistiksel olarak bir fark olmadığı belirlenmiştir ($p<0.05$) (Şekil 4.1 ve 4.4). Bu sonuçlar dikkate alınarak yapılan makroskobik değerlendirmede OSJ'in anti ülser etkisi net bir şekilde ortaya konulmuştur. Hatta referans olarak seçilen ranitidinle karşılaştırıldığında doza bağımlı olarak daha iyi etki gösterdiği gözlenmiştir.

4.2. Biyokimyasal Analiz

4.2.1. LPO Seviyesi

Canlı doku ve hücrelerinde oksidatif hasarı gösteren ve bu konuda en çok kabul gören parametrelerden birisi dokulardaki lipid peroksidasyonu (LPO) düzeyidir. LPO düzeyi, doku ve hücrelerde yapılan değişik uygulamalar sonucu oluşan oksidatif hasarların belirlenmesinde kullanılan önemli bir parametredir. LPO düzeyinin belirlenmesi için en çok kullanılan yöntem oksidatif hasar sonucu dokularda oluşan MDA miktarının belirlenmesidir. Mevcut çalışmada da mide dokusunda meydana gelen hasarın tespit edilmesi için MDA seviyesi ölçülmüştür.



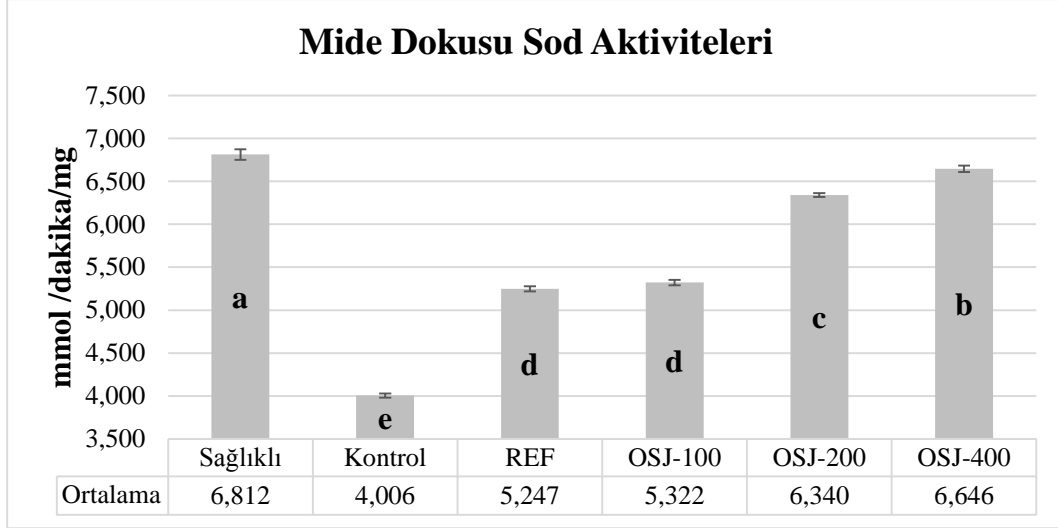
Duncan testine göre şekildeki farklı harfler gruplar arası farkı göstermektedir.

Şekil 4.5. Mide dokusu LPO seviyelerini gösteren grafik

Mide dokularında yapılan LPO ölçümlerini gösteren Şekil 4.5 incelendiğinde, ülser alanı sonuçlarına paralel olarak kontrol (IND) grubunda LPO seviyesinin önemli oranda arttığı belirlenmiştir ($p < 0.05$). Referans (REF) ve tedavi (OSJ) gruplarında bu seviyenin büyük oranda azaldığı gözlemlenmiştir ($p < 0.05$). REF grubunun LPO seviyesi ile OSJ-100 grubu LPO seviyesindeki azalma benzer olmakla birlikte ($p > 0.05$), osajinin 200 ve 400 mg/kg dozlarının lipid peroksidasyonunu azaltmada bu uygulamalardan daha etkili olduğu bulunmuştur ($p < 0.05$). Elde edilen bulgular ışığında osajin maddesinin doza bağlı olarak LPO seviyelerini azalttığı tespit edilmiştir.

4.2.2. SOD Aktivitesi

Enzimatik antioksidan savunma sisteminin ilk basamağında SOD enzimi görev almaktadır. Hasara neden olan serbest radikallerin hem oluşmasına sebep olan hem de bizzat kendisi yıkıcı etkiye sahip olan süperoksit radikalının bertaraf edilmesinde SOD önemli bir enzimdir. Bu enzimin aktivitesi, doku ve hücrelerde antioksidan savunma sisteminin durumu ve mekanizması hakkında da bilgi vermektedir.



Duncan testine göre şekildeki farklı harfler gruplar arası farkı göstermektedir.

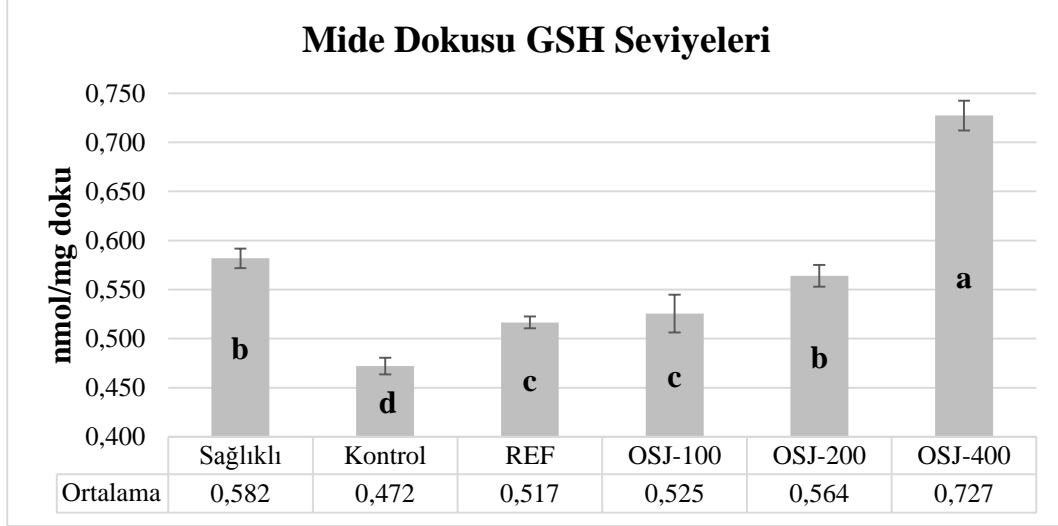
Şekil 4.6. Mide dokusu SOD aktivitelerini gösteren grafik

Mide dokusu SOD aktivitesi ölçümlerini gösteren Şekil 4.6 incelendiğinde IND uygulamasının SOD aktivitesini önemli seviyede düşürdüğü belirlenmiştir ($p < 0.05$). LPO seviyeleri ve ülser alanlarıyla ilişkili olarak her iki parametredeki artış, benzer oranda SOD aktivitesindeki düşüşlerle paralellik göstermektedir. REF ve OSJ-100 grupları benzer şekilde bulunmuş olup ($p > 0.05$), OSJ-200 ve OSJ-400 gruplarındaki enzim aktivitesindeki artışlar REF grubundan önemli düzeyde yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). En yüksek SOD aktivitesi ise sağlıklı grupta gözlenmiştir.

4.2.3. GSH Seviyesi

Hücre ve doku sağlığı açısından tehlikeli olan peroksit radikali gibi radikallerin savunmasında rol alan GPO ve GST gibi GSH bağımlı enzimlerin aktivitesi için GSH elzem bir ajandır. GSH yokluğunda bu enzimlerin çalışması mümkün değildir. GSH adı geçen enzimlerin etkilerinin düzenlenmesinin yanı sıra; bu enzimlerden bağımsız bir şekilde gerek C ve E vitaminlerinin rejenerasyonunda rol oynaması gerekse direk antioksidan etki göstermesi hasebiyle antioksidan savunma sisteminin belki de en önemli

lojistik noktasını oluşturmaktadır. Bu açıdan GSH miktarının ölçülmesi antioksidan mekanizma ve düzeyi açısından oldukça önemlidir.



Duncan testine göre şekildeki farklı harfler gruplar arası farkı göstermektedir.

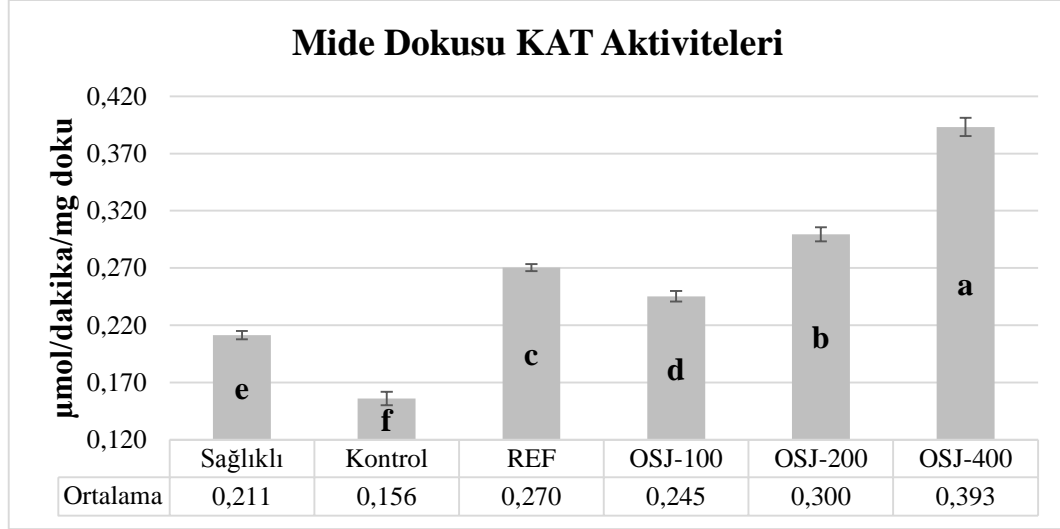
Şekil 4.7. Mide dokusu GSH seviyelerini gösteren grafik

Mide dokusu GSH seviyelerini gösteren Şekil 4.7 incelendiğinde kontrol grubunda GSH seviyesinin önemli oranda düştüğü tespit edilmiştir ($p<0.05$). SOD aktivitesine paralel seyreden GSH seviyeleri, yine benzer şekilde LPO seviyesi ve ülser alanları değerlerine ters bir seyirde olduğu görülmüştür. GSH düzeyi REF ve OSJ-100 grubunda kontrol grubuna göre belirgin düzeyde ölçülmüştür ve birbiri arasında önemli bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$). Ayrıca OSJ-200 grubunda GSH seviyesi sağlıklı grubun seviyesine gelmiş olup, OSJ-400 grubunda ise GSH düzeyi sağlıklı gruptaki GSH düzeyinden daha yüksek bir değer olarak ölçülmüştür ($p<0.05$).

4.2.4. KAT Aktivitesi

Katalaz enzimi, canlının sahip olduğu antioksidan mekanizmada GSH' dan farklı bir mekanizmayla, enzimatik yolla peroksit radikallerinin etkisizleştirilmesinde görev alan önemli bir enzimdir. Katalaz enzimi aktivitesinin ölçülmesi antioksidan

mekanizmanın hangi yönde işlediğinin ortaya koyulmasında ve de antioksidan savunma gücünün belirlenmesinde önemli bir rol oynar.



Duncan testine göre şekildeki farklı harfler gruplar arası farkı göstermektedir.

Şekil 4.8. Mide dokusu KAT aktivitelerini gösteren grafik

Mide dokusu KAT aktivitesi ölçümlerini gösteren Şekil 4.8 incelendiğinde, IND uygulamasının SOD aktivitesinde olduğu gibi KAT aktivitesini de önemli oranda inhibe ettiği görülmektedir ($p < 0.05$). Referans ve OSJ gruplarındaki katalaz enzim aktiviteleri kontrol ve sağlıklı gruptan belirgin şekilde yüksek değerlerde ölçülmüştür ($p < 0.05$). Ancak önceki antioksidan parametrelere bakıldığında REF ve OSJ-100 gruplarında benzerlik bulunmasına rağmen ($p > 0.05$), REF grubunun katalaz aktivitesi OSJ-100 grubundaki katalaz aktivitesinden yüksek olduğu bulunmuştur ($p < 0.05$). Bunun dışında ülser alanı, LPO ve GSH seviyeleri ile SOD aktivitesinde de gözlenen OSJ'in 200 ve 400 mg/kg dozlardaki etkileri, KAT aktivitesinde de benzer şekilde önemli farklar meydana getirmişlerdir ($p < 0.05$). Ayrıca ölçülen en yüksek KAT aktivitesi OSJ-400 grubundadır.

5. TARTIŞMA

Bitkilerin yeryüzündeki varlığı insanoğlundan daha öncesine dayanmaktadır. İnsanoğlunun yaşamı boyunca ortaya çıkan sorunlara çözüm aramaya başlaması ile bitkilerin bu sorunlara çare olarak kullanılması, ilk var oluştan bu zamana kadar devam etmektedir. Modern tıbbın gelişiminden önce insanlar, doğadaki birçok bitkiden kendilerini tedavi etmek amacıyla yararlanmışlardır. Bitkiler ve bitkilerden izole edilen metabolitler günümüz eczacılığın gelişimine zemin oluşturmuştur. Örneğin söğüt kabuğundan elde edilen salisil aldehit, salisilik asit ve *Digitalis* türlerinden izole edilen ve kalp rahatsızlığında kullanılan digitoksin, digoksin türevi doğal bileşikler sadece bunlardan bir kaçına örnek oluşturmaktadır. Bugün kanser tedavisinde kullanılan ilaçların %60-70'ini doğal ilaçlar oluşturmaktadır.¹⁶⁵

Yakın tarihimizde ise bitkilerin sahip olduğu iyileştirici etkisini meydana getiren etkenler üzerine ileri düzey çalışmalar yapılmaya başlanmış ve birçok faydalı buluş ortaya konmuştur. Elde edilen bu bitkisel kaynaklı maddelerin, günümüzde kullanılan sentetik ürünlere karşı, uygulama kolaylığı, azalan tedavi süresi, güvenli doz aralığının geniş olması, minimum yan etki, üretim ve elde etme maliyeti gibi çok sayıda üstünlükleri olduğu da ortaya çıkarılmıştır.¹⁶⁶

Bu sebeple halk tıbbında değişik hastalıkların tedavisinde kullanılan ve daha önce yapılan çalışmalarda da ülserle karşı koruyucu etkisi belirlenen¹⁵ *Maclura pomifera* bitkisinin, bu etkiyi hangi metabolit(ler) aracılığıyla gerçekleştirdiği ve etkinin mekanizmasının nasıl işlediğini tespit etmek amaçlanmış; dolayısıyla sunulan bu çalışmada *Maclura pomifera* bitkisinden saflaştırılan osajin (OSJ) maddesinin ratlarda indometazin (IND) ile oluşturulan akut mide hasarı üzerine antiülser etkisi incelenmiştir.

Çalışmada *Maclura pomifera* bitkisinden elde edilen, ülserle karşı olumlu etkisi gözlenen OSJ hakkında literatürde sınırlı bilgiler bulunmaktadır. Bu bitki ile ilgili yapılan

çeşitli çalışmalar, daha çok antioksidan özelliği güçlü olduğu belirtilen pomiferin üzerine yoğunlaşmıştır. *In vitro* denemelerde antioksidan etkisi^{151, 167} belirlenemese de, *in vivo* uygulanan OSJ'nin bazı farklı etkileri ortaya konulmuştur. Bunlara örnek olarak; OSJ'nin alkol ekstraktının *Salmonella* türleri üzerine streptomisinden daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca OSJ ve pomiferin üzerine hayvanlarda yapılan immünolojik çalışmalarda da güçlü antimikrobiyal etkilerinin olduğu bildirilmiştir.¹⁶⁸⁻¹⁷⁰

Fibroblast ve keratinosit gibi hücreler üzerine antioksidan tedavi amacıyla OSJ, pomiferin, propolis, puerarin, rosavin, resveratrol, genistein ve klorojenik asit gibi antioksidan maddeler kullanılmış ve bu hücreler üzerine etkileri incelenmiştir. OSJ'nin, birçok enzim, protein ve reseptör genleri üzerine farklı etkilerinin olduğu gözlemlenmiş, ayrıca OSJ'nin özellikle reseptör genleri üzerine baskılayıcı, protein ve faktör genleri üzeri yükseltici etkileri dikkat çekmiştir.¹⁷¹

Osajin, pomiferin ve bunların türevleri üzerine yapılan bir çalışmada OSJ'nin asetilkolinesteraz enziminin spesifik bir inhibitörü olduğu ortaya konulmuştur. Bu sayede OSJ'nin Alzheimer hastalığı gibi asetilkolinin rol aldığı hastalıklar üzerine olumlu etkilerinin olabileceği düşünülmektedir.¹⁷²

Bunlara ek olarak ratlara 15 günlük profilaktik yapılan 5 mg/kg/gün OSJ uygulamasının myokardiyal iskemi-reperfüzyon uygulamasında kardioprotektif etkisi incelenmiş, serum MDA seviyesini pomiferin ile kıyaslandığında daha iyi düşürdüğü total antioksidan, GPO ve SOD aktivitelerini de belirgin şekilde yükselttiği bildirilmiştir.¹⁷³

Ratlarda deneysel olarak oluşturulan böbrek iskemi-reperfüzyonu modeli üzerine çeşitli dozlarda (5, 10 ve 20 mg/kg) uygulanan OSJ'nin serum MDA seviyesini düşürdüğü, SOD ve GPO enzim aktivitelerini ise arttırdığı bildirilmiştir. Ayrıca histopatolojik iyileşmelerin 10 mg/kg ve üstü dozlarda gerçekleştirdiği belirtilmiştir.¹⁷⁴

Alloksan ile oluşturulan diyabet modeli üzerine yapılan bir çalışmada OSJ'nin kan glukoz ve MDA seviyesi ile idrar miktarı, protein ve glukoz çıkışını da azalttığı rapor edilmiştir.¹⁷⁵

Son yıllarda yapılan bir çalışmada OSJ'nin DNA hasarı üzerine belirgin protektif etkiye sahip olduğu bildirilmiştir.¹⁷⁶ Buna paralel olarak insan nazofaringeal karsinoma hücreleri üzerine yapılan bir çalışmada ise OSJ'nin iyi bir kemoprotektif ajan olduğu vurgulanmaktadır.¹⁷⁷

Rat karaciğer hücre kültüründe toksik madde (CCL₃) ile oluşturulan hasara karşı hepatoprotektif etkilerin incelendiği bir çalışmada OSJ molekülünün laktat dehidrojenaz enzim salınımını azalttığı ve yüksek düzeyde koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir.¹⁷⁸

Mide rahatsızlıkları gibi günümüzde de mevcut olan birçok hastalığın yazılı olmayan tarihlerde bile var olduğu, eski kalıntıların incelenmesiyle gün yüzüne çıkmıştır.¹⁷⁹⁻¹⁸¹ Mide ülserleri ilk olarak 1586'da İtalyan Marcellus Donatus tarafından tanımlanmış, bu hastalığın tedavisi için çareler aranmaya başlanmıştır.¹⁸²

Ülser genellikle mide, duodenum ve az oranda da özefagusta görülür.¹⁸³ Ülsere en fazla neden olan faktörler; midede *Helicobacter pylori* infeksiyonu¹⁸⁴, non-steroidal antiinflamatuvar ilaç (NSAİİ) kullanımı ve gastrik asit salgısının artmasıdır. Ayrıca sigara, alkol ve glukokortikoid ilaç kullanımı, ağır stres altında kalmak, radyasyon ve kemoterapi de ülser oluşumuna katkı sağlayan nedenler arasında sayılabilir.¹⁸⁵⁻¹⁸⁷

Ülser aynı zamanda, depresyon başta olmak üzere psikiyatrik tedaviler esnasında, bu tedavilere eşlik eden hastalıklardan biri olarak ortaya çıkmaktadır. Çünkü, selektif serotonin reuptake (geriemişim) inhibitörleri gibi antidepresanların bir kısmı gastrointestinal kanamaları alevlendirebilmektedir.¹⁸⁸ Bu ilaçlardan bazılarının ömür boyu kullanılmak zorunda kalınacağı göz önüne alındığında ilaç kullanımına bağlı ülser oluşumunun ne kadar yaygın olabileceği öngörülebilir.

Ayrıca stres de ülserle neden olabilen önemli bir faktör olup, stres ve ülser arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarmak için deneysel olarak immobilizasyon, soğukta bırakma ve yüzdürme yöntemleri denenmiştir.¹⁸⁹ Bu metotlar kullanılarak yapılan araştırmalarda stres, mast hücre degranülasyonuna sebep olarak histamin salınımını arttırmış, hipermotiliteye, mukus tabakasının incelmeye ve mide mukoza kan akışının bozulmasına neden olmuştur.¹⁹⁰⁻¹⁹³

Bunlara ek olarak stresin prostaglandinler, nörepeptitler ve nitrik oksit (NO) gibi midenin korunmasında görev alan ajanlar üzerinden mukozal savunmayı zayıflattığı bildirilmiştir.¹⁹⁴

Ülserin başlıca nedenlerinden olan NSAİİ'lerin kullanımı, özellikle yaşlı popülasyonda (kronik romatizmal hastalıklar, eklem rahatsızlıkları vb. nedenlerle) artmış olup, sadece yaşlılarda değil her yaşta insanlarda kanamaya kadar varabilen komplikasyonlarla seyreden gastrik yaralara sebep olmaktadır.¹⁹⁵ Dünyada kullanım sıklığında en üst sıralarda yer alan aspirin, indometazin ve ibuprofen gibi ağrı kesiciler, romatoid artrit ve diğer pek çok akut ve kronik inflamatuvar problemlerin tedavisinde önemli bir araçken, aynı zamanda midede başka bir inflamasyon türü olan ülserle de neden olması dikkate değer bulunmaktadır. NSAİİ'ler birçok yan etkiye sahip olmalarına rağmen en belirgin etkilerini gastrointestinal dokuda hasar oluşumuyla göstermektedir. Bu hasarın oluşumunda, mide dokusundaki sitoprotektif prostaglandinlerin sentezini inhibe etmeleri ile buna bağlı olarak mukus ve bikarbonat sekresyonu, yüzey epitel hidrofobikliği ve mukozal kan akışı gibi midenin koruyucu mekanizmalarını devre dışı bırakmaları önemli rol oynamaktadır. Meydana gelen bu değişimler ile NSAİİ'ler, mide asidinin dokuda hasar vermek üzere bu yüzeyden içeriye doğru yayılmasına ve hemorajik (kanamalı) ülserler oluşmasına sebep olmaktadır. Ayrıca NSAİİ'lerin lökotrien sentezini arttırmaları da tahrip edici etkilerini güçlendirmektedir.^{196, 197}

Non-steroid antiinflamatuvarlar yaygın sindirim sistemi inflamasyonlarına ve artan sindirim kanalı mukoza permeabilitesi ile karakterize enteropatiye neden olabilmektedirler. NSAİİ'ler tarafından meydana getirilen bu durum klinik olarak gizli kan kaybı, demir eksikliği anemisi, malabsorbsiyon ve protein kaybına yol açan enteropati şeklinde bulgular gösterebilir.¹⁹⁸ Ayrıca, NSAİİ'ler inflamatuvar bağırsak hastalıkları lezyonlarına benzer bulgular verebilir ve gelişmekte olan inflamatuvar bağırsak hastalıklarının aktivasyonuna da yol açabilirler.¹⁹⁹

Non-steroid antiinflamatuvar grubu ilaçların çeşitli formları da belirgin yan etkilere yol açtıkları bildirilmiştir. Özellikle bu grubun fitil formlarının, anüs ve rektumda inflamasyon, ülser ve darlıklara neden olduğu belirtilmiştir.¹⁹⁹

Kullanımı artan NSAİİ'lerin etkileri üzerine çok çeşitli araştırmalar yapılmış olsa da, genelde en fazla oranda ülser üzerine yoğunlaşmıştır. Diğer yandan NSAİİ grubu ilaçlar tüketim sıklığına bağlı olarak kendilerinin direkt yan etki göstermelerinin yanında, bu grup ilaçların gastrointestinal sistemde meydana getirdikleri yan etkileri azaltmak için kullanılan anti asitler, proton pompa inhibitörleri ve histamin reseptör antagonistleri (ranitidin, simetidin vb.) gibi ilaçların yan etki görülme sıklığı da, bu iki grubun birlikte kullanımıyla artmaktadır. Örnek olarak; alüminyum ve magnezyum ihtiva eden antiasit grubu ilaçlar mide ve idrar pH'sının artmasına, böylelikle de zayıf asit yapısında olan NSAİİ'lerin emiliminin azalmasına sebep olmaktadır.² Bu nedenle bu ilaçların etkinliğinin azalması sonucu daha fazla kullanımı, yüksek ülser riskini ortaya çıkarmaktadır. Simetidin ve ranitidin gibi H₂ reseptör antagonistlerinin, ketoprofen, ibuprofen, naproksen, tenoksikam gibi NSAİİ'lerle az da olsa etkileşime girdikleri belirtilmektedir.¹⁹⁹

H₂ reseptör antagonistleri asit salgısını baskılamakta ve mide pH'sını alkalileştirmektedir. Düşen pH'ya bağırsak florasındaki artışın eşlik etmesi ile mide

içeriğinde daha fazla nitratlanma meydana gelmesine, dolayısıyla muhtemel kanserojenik etkilerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu grup ilaçlardan olan simetidin ise bu kanserojenik nitratlı yapıyı kendi yapısında bulundurmaktadır. Ayrıca, H₂ reseptör antagonisti kullanan hastalarda sindirim sistemi kanserlerindeki artış dikkat çekmiştir.¹¹
200, 201

Ülser tedavisinde bunların yanı sıra sıklıkla proton pompa inhibitörü (PPI) olan ilaçlar da (omeprazol, lasoprazol vs. gibi) kullanılmaktadır. PPI'lar mide dokusunda bulunan proton pompalarının (H⁺/K⁺ ATPaz) fonksiyonunu geri dönüşümsüz olarak inhibe etmekte ve bu mekanizmayla mide lümenine asit salınımını durdurmaktadırlar.²⁰²

Bu ilaçların yan etkileriyle ilgili çok çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalara örnek olarak; PPI kullanımının gastrin salgısını yüksek oranda arttırdığını ve bu artışın da tümör oluşumuna sebep olduğu bildirilmiştir.²⁰³ Menapoz geçirmiş ve sigara kullanan kadınların 2 yıl ve üstü PPI kullanmaları sonucunda kemik erimesi ve kalça kırıklarının meydana geldiği rapor edilmiştir.⁸ Reflü tedavisinde sıklıkla kullanılan s-omeprazol ile Amerika'da gönüllü deneklerle yapılan bir çalışmada, gece uyku sırasında meydana gelen asitsiz reflü sayısının normalden 4 kat daha fazla olduğu ve uyku kalitesinin olumsuz etkilendiği gözlenmiştir.²⁰⁴

Ayrıca PPI türevi ilaçların uzun süre kullanımı, mide pH'sının azalmasıyla bakteriyel ishallerin artması²⁰⁵, mide mukozasının incilmesi²⁰⁶, üst fundusta polip oluşumu⁹, yaşlılarda B₁₂ vitamini eksikliği²⁰⁷, hipomagnezemi²⁰⁸, hasta olmayanlarda salgı azalması ve bağımlılık²⁰⁹, kalp ritim bozuklukları¹⁰ gibi çok sayıda yan etkiler oluşturmaktadır.

Günümüzde ülser tedavisinde bu ilaç gruplarının kullanımıyla, elektif (koşullara bağlı) cerrahi gereksinimi azalmıştır. Fakat meydana gelen komplikasyonlar sonucu

ihtiyaç duyulan acil gastrointestinal cerrahi operasyon sıklığında herhangi bir değişiklik olmamıştır.¹⁹⁵

Deney hayvanları üzerinde yapılan ülser araştırmaları için sıklıkla NSAİİ'lerin ülser oluşumu yan etkisinden faydalanılır. Buna bağlı olarak deney hayvanlarına uygulanan NSAİİ'ler kısa sürede gastrik hasar meydana getirerek dokuda çeşitli patolojik değişiklikler meydana getirmektedirler.²¹⁰ Yapılan benzer çalışmalarda, IND'nin ratlarda uygulanması ile mide dokusunun histopatolojisinde, hemoraji, nötrofil ve makrofaj ağırlıklı mononükleer hücre infiltrasyonları, epitel hücre döküntüleri ve konjesyonlar meydana geldiği bildirilmiştir.^{14, 211}

İndometazin aynı zamanda mide dokusu hücrelerinde de çeşitli değişiklikler meydana getirmektedir. Bu değişikliklerden en ön plana antioksidan savunma mekanizmasının çıktığı söylenebilir. NSAİİ grubu ilaçların mide dokusunda prostaglandin sentezini inhibe etmesi ülser oluşumunda önemli bir etmen olarak ortaya çıkmaktadır.²¹² Ancak son yıllarda yapılan alışmalar, IND gibi NSAİİ ilaçların etkilerinin sadece bu yolla ülser oluşturmadığı, bunun yanı sıra mide dokusu hücrelerinde antioksidan mekanizmanın dengesinde meydana getirdikleri bozulmayla birlikte artan ROS miktarının da önemli rol oynadığını göstermektedir.^{4, 213} ROS miktarındaki artış dokuda LPO seviyesini yükseltmekte olup, ülser oluşumunun miktarını ve hızını da arttırmaktadır.^{214, 215} Ayrıca, doku glukoz seviyesini azaltmaları²¹⁶, MPO ve NOS aktivitelerini de arttırmaları hasar oluşumundaki önemli etkilerinden sayılabilir.^{217, 218}

Sıçanlara IND ile deneysel olarak oluşturulan ülser modelinde intraperitoneal yolla uygulanan ozonun etkisinin olmadığı ve hatta ülser alanını arttırdığı bildirilmiştir.²¹⁹ çıkan bu sonucun nedeni, ozonun peroksit radikalleri ile reaksiyona girmesi sonucu serbest radikalleri arttırması ve bunun yine ülseri iyileştirmekten ziyade oluşum sürecini kolaylaştırdığı düşünülebilir.^{220, 221} Elde edilen bu bulgular ülser oluşumunda süperoksit

radikallerinin ne kadar önemli olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca hidroksil ($\cdot\text{OH}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), nitrik oksit ($\text{NO}\cdot$), peroksinitrit ($\text{ONOO}\cdot$) gibi radikallerin de çeşitli reaksiyonlarla midede hasar oluşumunda önemli roller üstlendikleri bilinmektedir.^{4, 53, 143, 222-227}

İndometazin ile oluşturulan ülser modeli üzerine yapılmış taranan tüm çalışmalarda IND uygulanan kontrol grubu dokularında ülser oranına paralel bir LPO artışı gözlenmektedir.^{6, 53, 210, 211, 213, 215, 228-241} Yine benzer bir çalışmada Chattopadhyay ve ark.⁵³ (2006) midede radikal miktarlarını ölçmüş, IND verilen kontrol grubunda mide asidi ve radikal miktarlarının aşırı miktarda arttığını, buna bağlı olarak da LPO seviyelerinin arttığını bildirmişlerdir. Mevcut çalışmada LPO ile ilgili elde edilen bulgular literatür ile uyum içerisindedir. Deney sonunda alınan mide dokularında kontrol grubu LPO seviyelerinin sağlıklı gruba oranla aşırı yüksek bulunmasının, yukardaki bahsedilen ROS miktarındaki artışa bağlı olarak teşekkül ettiği düşünülmektedir. Mevcut çalışmada tedavi gruplarında (100, 200 ve 400 mg/kg dozlarda OSJ uygulanan) doza bağlı olarak LPO seviyelerinde dikkate değer bir azalma gözlenmesi, LPO ile ülser arasındaki ilişkiyi açıkça ortaya koymaktadır. Tüm bu verilerin ışığında LPO'nun sadece oksidatif stresin değil, aynı zamanda hücrel hasarlarında önemli bir indikatörü olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Organizmalar, ROS'nin oluşturduğu her türlü hasarı savuşturabilecek veya düzeltebilecek çok sayıda mekanizmaya sahiptir. Meydana getirdikleri bu radikalik zararlar, primer olarak enzimler, sekonder olarak da antioksidan özelliği bulunan vitaminler, glutatyon (GSH), melatonin vb. birçok savunma ajanlarınca azaltılır veya engellenebilir^{197, 242}.

Buna rağmen, O_2^- , $\cdot\text{HO}$ ve H_2O_2 gibi ROS miktarlarındaki artış veya birikme, membranların (lipidlerin), proteinlerin, ekstraselüler matriksteki glikozaminoglikanlara

ve hatta nükleik asitlerin yapılarını bozarak, zincirleme reaksiyonlarla hücre ölümü ve doku hasarına giden birçok mekanizmayı başlatırlar.^{4, 143, 222, 226, 235, 241}

Antioksidan savunmanın ilk hattını SOD enzimi oluşturmaktadır. SOD enzimi süperoksit radikallerinin etkisiz hale getirilmesinde anahtar görev alır ve artan SOD aktivitesi aynı zamanda meydana gelmiş olan süperoksit radikal miktarı hakkında da fikir verebilir.¹⁰⁹ Bu çok önemli ilk basamağın güçlenmesinin, ülser alanının ve LPO miktarının azalmasında önemli rol oynadığını düşündürmektedir. Süperoksit radikali her ne kadar zayıf bir radikal olarak kabul görse de; en tehlikeli ve zararlı kabul edilen hidroksil radikalının oluşumunda önemli bir rolü vardır. Mide ortamında yapılan radikalik ölçümlerde hidroksil radikali miktarının 5 kata kadar artması bunu açıkça ortaya koymaktadır.⁵³ Mide pariyetal hücreleri mide lümenine H⁺ pompalamaktadır. Ortamdaki süperoksit radikalleri de bu protonlar ile birleşerek ·OH radikali miktarını arttırabileceğini düşünmekteyiz.^{5, 243}

Çalışmada alınan mide dokularındaki SOD aktivitesi göz önüne alındığında IND tarafından dikkate değer şekilde inhibe edildiği tespit edilmiştir. Uygulanan OSJ'nin ise doza bağımlı olarak SOD aktivitesini arttırdığı belirlenmiştir. Ajaikumar ve ark. (2005) tarafından *Punica granatum* bitkisinin metanol ekstradının ratlarda aspirin ve etanol ile oluşturulan ülser üzerine yapılan bir çalışmada, bir NSAİİ grubu olan aspirinin SOD aktivitesini önemli oranda düşürdüğünü, verilen çeşitli dozlardaki ekstratın ise bu azalan aktiviteyi arttırdığı ve buna bağlı olarak da ülser alanlarının azaldığını bildirilmiştir.¹⁹⁸

Dengiz ve ark. (2007) tarafından amiodaronun ratlarda IND ile oluşturulan ülser modeli üzerine yapılan bir çalışmada, IND verilen ratların mide dokularında SOD aktivitesinin önemli düzeyde azaldığını, amiodaronun ise azalan bu aktiviteyi arttırdığı belirtilmiştir.²²⁸

Çalışmada elde edilen sonuçlara paralel olarak diklofenak sodyum, meloksikam, ketoprofenil ve IND gibi çeşitli NSAİİ'lerin da, rat mide dokularında SOD aktivitesini azalttıklarını bildiren çok sayıda çalışma bulunmaktadır.^{229, 236, 237, 244}

Eşlenmemiş bir elektron içermemesi sebebiyle gerçekte radikal olmayan, fakat parçalanma ürünleri ROS olan H₂O₂; Fe ve Cu gibi geçiş metallerinin varlığında ve/veya asidik ortamlarda süperoksit radikalleri ile reaksiyona girerek en zararlı ve reaktif özellikte olan hidroksil radikallerinin meydana gelmesinde rol alır.^{69, 75, 197} Bu nedenle ortamdaki H₂O₂'nin uzaklaştırılması önemlidir. Antioksidan savunmanın ikinci basamağı olan peroksitlerle mücadelede, GPO ve KAT enzimleri yer almaktadır. Bu enzimler H₂O₂'yi suya dönüştürerek zayıf radikal gücünü ortadan kaldırır.^{67, 85} Her iki enzimde H₂O₂ için yarışmaktadırlar.²⁴⁵

Çalışmada yapılan KAT aktivitesi ölçümlerinde, IND'nin bu aktiviteyi önemli derecede azalttığı belirlenmiştir. Uygulanan OSJ ise her dozda KAT aktivitesini doza bağlı olarak arttırmıştır. Bunun sonucunda ise ortamdan uzaklaştırılan H₂O₂'nin ileri derecede zararlı peroksit radikallerinin oluşumunu azalttığı hatta engellediği, bu sayede de ülserle karşı yapılan savunmada önemli bir katkı yaptığı düşünülmektedir.

Morsy ve ark. (2010) tarafından tip-2 diyabetli ratlarda IND ile indüklenen mide hasarı üzerine rosiglitazon ve metforminin etkilerinin incelendiği bir çalışmada diyabetli ve diyabetli olmayan ratlarda IND uygulamasının KAT aktivitesini önemli seviyede azalttığı gösterilmiştir.²⁴⁶

Sivalingam ve ark. (2007) tarafından ratlarda IND ile oluşturulan ülser modeli üzerine curcuminin etkisini inceledikleri bir çalışmada, IND uygulamasının rat mide dokusunda KAT aktivitesini önemli oranda azalttığı, curcuminin ise azalan bu aktiviteyi arttırdığı bildirilmiştir.²⁴⁷

Bu sonuca paralel olarak ratlarda IND uygulaması ile oluşturulan akut mide hasarı çalışmalarında da deney sonuçlarına paralel olan benzer bulgular bildirilmiştir.^{228, 248, 249}

Oksidatif yıkıma karşı iyi bir savunma elemanı olan GSH'ın, mide ve barsak dokularının korunmasında önemli görevleri bulunmaktadır.^{132, 250-252} Bazı bitkisel kaynaklı metabolitlerin LPO seviyesini düşürücü etkilerinin olduğu bildirilmiş, bu etkinin ise GSH ve buna bağlı enzimlerin (GPO, GST ve GGT) miktarlarını arttırarak gerçekleştiği belirtilmiştir.^{253, 254} Aynı zamanda çeşitli dokularda bulunan GSH ile buna bağlı enzimlerin antioksidan savunma ve detoksifikasyondaki rolleri nedeniyle önemli bir koruyucu faktör oldukları belirtilmiştir.²⁵⁵⁻²⁵⁷

Mevcut çalışmada kontrol grubu (IND) dokularında GSH miktarı sağlıklı dokularla mukayese edildiğinde anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Bu düşüşün, yukarıda da bahsedildiği şekilde radikal miktarındaki artışa bağlı olarak, ortamdaki GSH'nun tüketildiğini açıkça gözler önüne sermektedir. Diğer yandan REF ve OSJ tedavi gruplarının tamamında tedaviye paralel GSH miktarlarındaki artış, oksidatif hasarın azaldığını işaret etmektedir. Tüm bu verilerden yola çıkarak GSH miktarının; direk olarak antioksidan savunmayı, indirek olarak ise oksidatif hasarı işaret eden bir belirteç olabileceği söylenebilir. Çünkü ROS'larla mücadelenin GSH'a kalması antioksidan savunmanın çalışmadığını, organizmanın son çare olarak elinde kalan GSH'ı kullandığını göstermektedir. Nitekim SOD ve KAT enzimlerinin inhibe olması da bunu doğrulamaktadır. Yine GSH miktarının azalmasının ortamdaki radikallere bağlandığını, dolayısıyla bu radikallerin miktarlarının arttığını doğrulamaktadır.

Kaplan ve ark. (2012) tarafından ratlarda IND ile meydana getirilen gastrik oksidatif stres modeli üzerine yapılan bir çalışmada, IND uygulamasının rat mide dokusunda GSH miktarını önemli oranda azalttığı, tedavi için uygulanan alfa-lipoik asitin ise azalan bu miktarı arttırdığı bildirilmiştir.²³⁰

Halıcı ve ark. (2011) tarafından ratlarda IND ile oluşturulan gastrik hasar üzerine yapılan bir çalışmada, rat mide dokusunda GSH miktarı IND tarafından önemli düzeyde azaldığını, *Ramalina capitata* likeninden elde edilen su ve etanol ekstralarının ise azalan GSH miktarını arttırdığı belirtilmiştir.²¹⁰

Yakın zamanda, bitkisel kaynaklı birçok metabolitin NSAİİ'lerin uygulanmasıyla oluşturulan akut mide hasarları üzerine olumlu etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Berenguer ve ark. (2006) tarafından ratlarda NSAİİ (diklofenak sodyum) ile indüklenen gastrik hasar üzerine *Rhizophora mangle* bitkisi su ekstresinin etkisi incelenmiş ve oluşan hasarın bu ekstre tarafından önemli oranda azaltıldığı belirlenmiştir.²⁵⁸

Monteiro ve ark. (2007) tarafından *Lippia sidoides* bitkisinin yapraklarından elde edilen esansiyel yağların farelerde gastroprotektif (etanol modeli) ve antiinflamatuvar (kulak ödemi modeli) etkisi incelenmiş, bu bitkiden elde edilen esansiyel yağların iyi gastroprotektif ve antiinflamatuvar etki gösterdikleri bildirilmiştir.²⁵⁹

Çalışma sonunda elde edilen tüm bulgular göz önüne alındığında, çalışma verilerinin mevcut literatürler ile benzerlik gösterdiği görülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmada *Maclura pomifera* bitkisinden saflaştırılan OSJ maddesinin ratlarda IND ile oluşturulan ülser modeli üzerine etkileri araştırılmış olup, elde edilen sonuçlar OSJ'nin ülser oluşumunu engellediği ve hatta günümüzde yaygın olarak kullanılan ranitidin etken maddeli ilaçlardan daha etkili olduğunu göstermiştir.

Model uygulaması sonrasında alınan mide dokularında yapılan patolojik (makroskobik) ve biyokimyasal incelemelerden elde edilen sonuçlar ışığında, OSJ maddesinin antiülser etkisi ortaya koyulmuştur.

Ayrıca, OSJ'in SOD, KAT ve GSH gibi antioksidan mekanizma parametrelerinde meydana getirdiği olumlu değişiklikler, yeni bir tartışma kapısı açmıştır. Bilindiği üzere OSJ, antioksidan etkili bir molekül değildir. *In vitro* denemelerde antioksidan etkisi bulunamayan bu molekül, antioksidan olarak bilinen birçok molekülden daha etkili bir şekilde organizmanın oksidatif stresle mücadele edebilmesini sağlamıştır. Yaygın olarak, sadece antioksidan etkili moleküllerin oksidatif hasarları engelleyeceği yargısı bu çalışma ile farklı bir boyut kazanmıştır. Burada bilinenin aksine organizmanın gösterdiği direnç, antioksidan etki olmayıp OSJ'nin güçlü bir antioksidan potansiyele sahip olduğunu yani antioksidan savunma sistemini aktifleştirerek daha etkin bir koruma sağladığını gözler önüne sermektedir.

Fakat bu etkinin sadece antioksidan sistem üzerinden yürümediği ve buna ilave olarak farklı bir veya birkaç değişik mekanizmalar ile de meydana gelebileceği/desteklenebileceği şüphesi de incelenmesi gereken ayrı bir husus olarak karşımıza çıkmaktadır. Ülser alanlarındaki azalma, OSJ'nin daha önceki bir çalışmada belirtilen asetilkolin esteraz inhibitör¹⁷² etkisi sayesinde IND'nin bir özelliği olan vasküler konstriksiyonun^{57, 60} giderilmesiyle mukoza dolaşımının düzelmesi ve buna

bağlı olarak hasarın azalması olasılığını dūřündürmektedir. Araştırmada incelenmeyen bu mekanizma ilerisi için yeni bir araştırma konusunu ortaya çıkarmaktadır.

Elde edilen tūm bu veriler ıřıęında, OSJ'in *in vitro* olarak ispatlanamamıř olan antioksidan etkisi, bu çalıřmada *in vivo* antioksidan potansiyel olarak kanıtlanmıřtır. Daha Őnce bu etkisi incelenmemiř olan OSJ, ileride yapılabilecek daha kapsamlı arařtırmalar ile yeni bir ilaç molekūlü olarak ũlkemize ve bilim dūnyamıza kazandırılabilme ihtimaline sahiptir...

KAYNAKLAR

1. Sung J, Kuipers E, El-Serag H. Systematic review: the global incidence and prevalence of peptic ulcer disease. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 2009, 29: 938-946.
2. Yoshida H, Mamada Y, Tani N, Mineta S, Kawano Y, Mizuguchi Y, Kakinuma D, Kanda T, Tajiri T. Interactions between anti-ulcer drugs and non-steroidal anti-inflammatory drugs in cirrhotic patients with bleeding esophagogastric varices. *Hepato-Gastroenterology*, 2008, 56: 1366-1370.
3. Halıcı M. Bazı Likenlerden İzole Edilen Maddelerin Sıçanlarda Indometazin ile Oluşturulan Ülser Modelinde Antiülserojen Mekanizmalarının Araştırılması. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı. Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2007.
4. Das D, Bandyopadhyay D, Bhattacharjee M, Banerjee RK. Hydroxyl radical is the major causative factor in stress-induced gastric ulceration. *Free Radical Biology and Medicine*, 1997, 23: 8-18.
5. Das D, Banerjee RK. Effect of stress on the antioxidant enzymes and gastric ulceration. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 1993, 125: 115-125.
6. Djahanguiri B. The production of acute gastric ulceration by indomethacin in the rat. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 1968, 4: 265-267.
7. Smith SM, Kviety PR. Gastric ulcers: role of oxygen radicals. *Critical Care Medicine*, 1988, 16: 892-898.
8. Gray SL, LaCroix AZ, Larson J, Robbins J, Cauley JA, Manson JE, Chen Z. Proton pump inhibitor use, hip fracture, and change in bone mineral density in postmenopausal women: results from the Women's Health Initiative. *Archives of Internal Medicine*, 2010, 170: 765-771.

9. Jalving M, Koornstra J, Wesseling J, Boezen H, De Jong S, Kleibeuker J. Increased risk of fundic gland polyps during long-term proton pump inhibitor therapy. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 2006, 24: 1341-1348.
10. Marcus GM, Smith LM, Scheinman MM, Badhwar N, Lee R. Proton Pump Inhibitors are Associated with Focal Arrhythmias. *The Journal of Innovations in Cardiac Rhythm Management*, 2010, 1: 85-89.
11. Farrow DC, Vaughan TL, Sweeney C, Gammon MD, Chow W-H, Risch HA, Stanford JL, Hansten PD, Mayne ST, Schoenberg JB. Gastroesophageal reflux disease, use of H2 receptor antagonists, and risk of esophageal and gastric cancer. *Cancer Causes and Control*, 2000, 11: 231-238.
12. Yazıcı A. Peptik Ülser Hastalığı Değişiyor. İstanbul Tıp Fakültesi Aile Hekimliği Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi, İstanbul: İstanbul Üniversitesi, 2008.
13. Atalay F, Halici MB, Mavi A, Cakir A, Kazaz C, Aslan A, Kufrevioglu OI. Antioxidant phenolics from *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. and *Usnea longissima* Ach. Lichen species. *Turkish Journal of Chemistry*, 2011, 35: 647-661.
14. Chatterjee A, Khatua S, Chatterjee S, Mukherjee S, Mukherjee A, Paloi S, Acharya K, Bandyopadhyay SK. Polysaccharide-rich fraction of *Termitomyces eurhizus* accelerate healing of indomethacin induced gastric ulcer in mice. *Glycoconjugate Journal*, 2013, 30: 759-768.
15. Aci R. *Maclura Pomifera* Bitkisinin Su Ekstresinin Ratlarda İndometazinle Oluşturulan Ülser Modeli Üzerine Etkilerinin Araştırılması ve Antioksidan Mekanizmasını İncelenmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Biyokimya Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2013.
16. Jefferson G. The human stomach and the canalis gastricus (Lewis). *Journal of Anatomy and Physiology*, 1915, 49: 165.

17. Hall JE. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology: Enhanced E-book*. 10. Baskı. Mississippi, Elsevier Health Sciences, 2010.
18. Ganong W. *Review of medical physiology*. 18. Baskı. United States, Appleton and Lange Stamford, CT, 1997.
19. Schubert M, Makhlouf G. Neural and paracrine regulation of gastrin and gastric acid secretion. *Gastroenterology*, 1996, 111: 837-838.
20. Silverthorn DU, Ober WC, Garrison CW, Silverthorn AC, Johnson BR. *Human Physiology: An Integrated Approach*. 5. Baskı. Pearson/Benjamin Cummings, 2009.
21. Kurata JH. Ulcer epidemiology: an overview and proposed research framework. *Gastroenterology*, 1989, 96: 569-580.
22. Szabo S. Mechanisms of mucosal injury in the stomach and duodenum: time-sequence analysis of morphologic, functional, biochemical and histochemical studies. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 1987, 22: 21-28.
23. Rhoades R, Pflanzer RG. *Human Physiology*. 1. Baskı. Saunders College Publication, 1989.
24. Porth C, Matfin G. *Pathophysiology: Concepts of Altered Health States*. 7. Baskı. Lippincott Williams and Wilkins, 2005.
25. Schubert ML, Peura DA. Control of gastric acid secretion in health and disease. *Gastroenterology*, 2008, 134: 1842-1860.
26. Kayaalp O. *Akılçıl Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. 13. Baskı. Ankara, Pelikan Yayınları, 2002.
27. Memik F. *Her Yönüyle Peptik Ülser*. 1. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2003.
28. Castillo-Rojas G, Cerbón MA, López-Vidal Y. Presence of *Helicobacter pylori* in a Mexican pre-Columbian mummy. *BMC Microbiology*, 2008, 8: 119.

29. Kurata J, Haile B. Epidemiology of peptic ulcer disease. *Clinics In Gastroenterology*, 1984, 13: 289-307.
30. Swabb EA, Szabo S. *Ulcer Disease: Investigation and Basis for Therapy*. 17. Baskı. New York, Taylor and Francis, 1991.
31. Sullivan M, Yool D. Gastric disease in the dog and cat. *The Veterinary Journal*, 1998, 156: 91-106.
32. Hedde R, Lindsey T, Parish R, Daniels H, Morgenthien E, Lewis H. Effect of diet particle size and feeding of H₂-receptor antagonists on gastric ulcers in swine. *Journal of Animal Science*, 1985, 61: 179-186.
33. Pfeiffer C. A review of spontaneous ulcer disease in domestic animals: chickens, cattle, horses, and swine. *Acta Physiologica Hungarica*, 1991, 80: 149-158.
34. Vatn S, Sjaastad Ø, Ulvund M. Histamine in lambs with abomasal bloat, haemorrhage and ulcers. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 2000, 47: 251-255.
35. Menteş N. *Klinik Gastroenteroloji*. 4. Baskı. Ankara, Sanem Matbaacılık San. ve Tic, 2005.
36. Stern A, Hogan D, Isenberg J. A new method for quantitation of ion fluxes across in vivo human gastric mucosa: effect of aspirin, acetaminophen, ethanol, and hyperosmolar solutions. *Gastroenterology*, 1984, 86: 60-70.
37. Taché Y. CNS peptides and regulation of gastric acid secretion. *Annual Review of Physiology*, 1988, 50: 19-39.
38. Taché Y, Collu R. CNS mediated inhibition of gastric secretion by bombesin: independence from interaction with brain catecholaminergic, and serotonergic pathways and pituitary hormones. *Regulatory Peptides*, 1982, 3: 51-59.
39. Silen W. Experimental models of gastric ulceration and injury. *American Journal of Physiology*, 1988, 255: G395-G402.

40. Smalley WE, Griffin MR. The risks and costs of upper gastrointestinal disease attributable to NSAIDs. *Gastroenterology Clinics of North America*, 1996, 25: 373-396.
41. Soll AH, Weinstein WM, Kurata J, McCarthy D. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and peptic ulcer disease. *Annals of Internal Medicine*, 1991, 114: 307-319.
42. Piper D, McIntosh J, Ariotti D, Fenton B, MacLennan R. Analgesic ingestion and chronic peptic ulcer. *Gastroenterology*, 1981, 80: 427-432.
43. Lockard Jr O, Ivey K, Butt J, Silviso G, Sisk C, Holt S. The prevalence of duodenal lesions in patients with rheumatic diseases on chronic aspirin therapy. *Gastrointestinal Endoscopy*, 1980, 26: 5-7.
44. Langman M, Cooke A. Gastric and duodenal ulcer and their associated diseases. *The Lancet*, 1976, 307: 680-683.
45. Bonnevie O. Causes of death in duodenal and gastric ulcer. *Gastroenterology*, 1977, 73: 1000-1004.
46. Chabner B, B. K. *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis Of Therapeutics*. 10. Baskl. New York, McGraw-Hill, 2001.
47. Hawkey C, Rampton D. Prostaglandins and the gastrointestinal mucosa: are they important in its function, disease, or treatment? *Gastroenterology*, 1985, 89: 1162-1188.
48. Gold B, Blecker U. *Pediatric Gastrointestinal Disease: Pathophysiology, Diagnosis, Management*. 2. Baskl. Philadelphia, WB Saunders, 1999.
49. Rasquin-Weber A. *Pediatric Clinical Gastroenterology*. 4. Baskl. St Louis Mosby, Year Book Inc., 1995: 174-215.
50. DuBois R, Eberhart C, Williams C. Introduction to eicosanoids and the gastroenteric tract. *Gastroenterology Clinics of North America*, 1996, 2: 267-277.

51. Supplisson S, Loo DD, Sachs G. Diversity of K⁺ channels in the basolateral membrane of resting necturus oxyntic cells. *The Journal of Membrane Biology*, 1991, 123: 209-221.
52. Wilson DE. Role of prostaglandins in gastroduodenal mucosal protection. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 1990, 13: S65-71.
53. Chattopadhyay I, Bandyopadhyay U, Biswas K, Maity P, Banerjee RK. Indomethacin inactivates gastric peroxidase to induce reactive-oxygen-mediated gastric mucosal injury and curcumin protects it by preventing peroxidase inactivation and scavenging reactive oxygen. *Free Radical Biology and Medicine*, 2006, 40: 1397-1408.
54. Lichtenstein DR, Syngal S, Wolfe MM. Nonsteroidal antiinflammatory drugs and the gastrointestinal tract the double-edged sword. *Arthritis and Rheumatism*, 1995, 38: 5-18.
55. Davenport H, Warner H, Code C. Functional Significance Of Gastric Mucosal Barrier To Sodium. *Gastroenterology*, 1964: 142-152.
56. Lee M, Aldred K, Lee E, Feldman M. Aspirin-induced acute gastric mucosal injury is a neutrophil-dependent process in rats. *American Journal of Physiology*, 1992, 263: G920-G920.
57. Kauffman G. Aspirin-induced gastric mucosal injury: lessons learned from animal models. *Gastroenterology*, 1989, 96: 606-614.
58. Vane DSc F, John R, Botting PhD RM. Mechanism of action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *The American Journal of Medicine*, 1998, 104: 2S-8S.
59. Roth SH. Nonsteroidal anti-inflammatory drug gastropathy: new avenues for safety. *Clinical Interventions In Aging*, 2011, 6: 125.
60. Moncada S, Palmer R, Higgs E. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacological Reviews*, 1991, 43: 109-142.

61. Aruoma OI. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *Journal of The American Oil Chemists' Society*, 1998, 75: 199-212.
62. Dündar Y, Aslan R. *Hekimlikte Oksidatif Stres ve Antioksidanlar*. 1. Baskı. Afyon, AKÜ Yayın, 2000: 1-35.
63. Halliwell B, Gutteridge J. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical Journal*, 1984, 219: 1.
64. Weiss S, LoBuglio A. Phagocyte-generated oxygen metabolites and cellular injury. *Laboratory Investigation; A Journal of Technical Methods and Pathology*, 1982, 47: 5-18.
65. Buonocore G, Groenendaal F. Anti-oxidant strategies. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, 2007, 12: 287-295.
66. Slater T, Cheeseman K, Davies M, Proudfoot K, Xin W. Free radical mechanisms in relation to tissue injury. *Proceedings of The Nutrition Society*, 1987, 46: 1-12.
67. Akkuş I. *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*. 1. Baskı. Konya, Mimoza Yayınları, 1995.
68. Aust SD, Morehouse LA, Thomas CE. Role of metals in oxygen radical reactions. *Journal of Free Radicals In Biology and Medicine*, 1985, 1: 3-25.
69. Gutteridge J. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*, 1995, 41: 1819-1828.
70. Afanas'ev IB. Signaling functions of free radicals superoxide & nitric oxide under physiological and pathological conditions. *Molecular Biotechnology*, 2007, 37: 2-4.
71. Aruoma OI. Free radicals, antioxidants and international nutrition. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 1999, 8: 53-63.
72. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1993, 57: 715S-724S.

73. Ku H-H, Brunk UT, Sohal RS. Relationship between mitochondrial superoxide and hydrogen peroxide production and longevity of mammalian species. *Free Radical Biology and Medicine*, 1993, 15: 621-627.
74. Halliwell B. Tell me about free radicals, doctor: a review. *Journal of The Royal Society of Medicine*, 1989, 82: 747.
75. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of The National Academy of Sciences*, 1993, 90: 7915-7922.
76. Robison TW, Murphy JK, Beyer LL, Richters A, Forman HJ. Depression of stimulated arachidonate metabolism and superoxide production in rat alveolar macrophages following in vivo exposure to 0.5 ppm NO₂. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A Current Issues*, 1993, 38: 273-292.
77. Lohinai ZM, Szabo C. Role of nitric oxide in physiology and pathophysiology of periodontal tissues. *Medical Science Monitor*, 1998, 4: RA1089-RA1095.
78. Guemouri L, Artur Y, Herbeth B, Jeandel C, Cuny G, Siest G. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase in blood. *Clinical Chemistry*, 1991, 37: 1932-1937.
79. Georgieva N. Oxidative stress as a factor of disrupted ecological oxidative balance in biological systems—a review. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 2005, 8: 1-11.
80. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Laboratory Investigation; A Journal of Technical Methods and Pathology*, 1982, 47: 412-426.

81. Prichard M, Ducharme NG, Wilkins PA, Erb HN, Butt M. Xanthine oxidase formation during experimental ischemia of the equine small intestine. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 1991, 55: 310.
82. Ames BN. Free Radicals: The Pros and Cons of Antioxidants. *American Society for Nutritional Sciences*, 2004, 134: 3164S–3168S.
83. Houston M, Estevez A, Chumley P, Aslan M, Marklund S, Parks DA, Freeman BA. Binding Of Xanthine Oxidase To Vascular Endothelium Kinetic Characterization And Oxidative Impairment Of Nitric Oxide-Dependent Signaling. *Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274: 4985-4994.
84. Doctor RB, Mandel LJ. Minimal role of xanthine oxidase and oxygen free radicals in rat renal tubular reoxygenation injury. *Journal of The American Society of Nephrology*, 1991, 1: 959-969.
85. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *The New England Journal of Medicine*, 1985, 312: 159-163.
86. Hirata F, Hayaishi O. Possible participation of superoxide anion in the intestinal tryptophan 2, 3-dioxygenase reaction. *Journal of Biological Chemistry*, 1971, 246: 7825-7826.
87. Slater TF. Free radical mechanisms in tissue injury. İçinde: *Cell Function and Disease*, Springer, 1989: 209-218.
88. Jana A, Agarwal S, Chatterjee S. Membrane lipid peroxidation by ultrasound: mechanism and implications. *Journal of Biosciences*, 1990, 15: 211-215.
89. Li J-M, Shah AM. ROS generation by nonphagocytic NADPH oxidase: potential relevance in diabetic nephropathy. *Journal of The American Society of Nephrology*, 2003, 14: S221-S226.

90. Comporti M. Lipid peroxidation and cellular damage in toxic liver injury. *Laboratory Investigation*, 1985, 53: 599-623.
91. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: Source, biochemistry, and role in human disease. *The American Journal of Medicine*, 1991, 91: S14-S22.
92. Panduri V, Weitzman SA, Chandel NS, Kamp DW. Mitochondrial-derived free radicals mediate asbestos-induced alveolar epithelial cell apoptosis. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 2004, 286: L1220-L1227.
93. Thomas CE, Aust SD. Free radicals and environmental toxins. *Annals of Emergency Medicine*, 1986, 15: 1075-1083.
94. Davies K, Goldberg A. Oxygen radicals stimulate intracellular proteolysis and lipid peroxidation by independent mechanisms in erythrocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 1987, 262: 8220-8226.
95. Marnett LJ. Lipid peroxidation—DNA damage by malondialdehyde. *Mutation Research; Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 1999, 424: 83-95.
96. Goulart M, Batoreu M, Rodrigues A, Laires A, Rueff J. Lipoperoxidation products and thiol antioxidants in chromium exposed workers. *Mutagenesis*, 2005, 20: 311-315.
97. Long CA, Bielski BH. Rate of reaction of superoxide radical with chloride-containing species. *The Journal of Physical Chemistry*, 1980, 84: 555-557.
98. Çakatay U, Kayalı R. Protein oksidasyonunun klinik önemi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 2004, 35.
99. Simpson J, Narita S, Giese S, Gebicki S, Gebicki J, Dean R. Long-lived reactive species on free-radical-damaged proteins. *Biochemical Journal*, 1992, 282: 621-624.
100. Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, Milzani A, Colombo R. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clinica Chimica Acta*, 2003, 329: 23-38.

101. Marnett LJ. Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage. *Toxicology*, 2002, 181: 219-222.
102. Epe B, Ballmaier D, Adam W, Grimm GN, Saha-Möller CR. Photolysis of N-hydroxypyridinethiones: a new source of hydroxyl radicals for the direct damage of cell-free and cellular DNA. *Nucleic Acids Research*, 1996, 24: 1625-1631.
103. Jornot L, Petersen H, Junod A. Hydrogen peroxide-induced DNA damage is independent of nuclear calcium but dependent on redox-active ions. *Biochemical Journal*, 1998, 335: 85-94.
104. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *The FASEB Journal*, 2003, 17: 1195-1214.
105. Knaapen AM, Schins RP, Polat D, Becker A, Borm PJ. Mechanisms of neutrophil-induced DNA damage in respiratory tract epithelial cells. *Molecular and Cellular Biochemistry* 2002, 234-235: 143-151.
106. Knaapen AM, Güngör N, Schins RP, Borm PJ, Van Schooten FJ. Neutrophils and respiratory tract DNA damage and mutagenesis: a review. *Mutagenesis*, 2006, 21: 225-236.
107. Odabasoglu F. Antioksidan Vitaminler, Konferans, 1999, Erzurum.
108. Bulucu D. Mide ülserlerinde melatonin antioksidan etkileri. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 1998.
109. Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annual Review of Biochemistry*, 1995, 64: 97-112.
110. Buettner GR, Ng CF, Wang M, Rodgers V, Schafer FQ. A New Paradigm: Manganese Superoxide Dismutase Influences the Production of H₂O₂ in Cells and

Thereby Their Biological State. *Free Radical Biology and Medicine*, 2006, 41: 1338-1350.

111. McCord JM, Fridovich I. The utility of superoxide dismutase in studying free radical reactions I. Radicals generated by the interaction of sulfite, dimethyl sulfoxide, and oxygen. *Journal of Biological Chemistry*, 1969, 244: 6056-6063.

112. Halliwell B, Gutteridge J. The antioxidants of human extracellular fluids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1990, 280: 1-8.

113. Leclère V, Chotteau-Lelièvre A, Gancel F, Imbert M, Blondeau R. Occurrence of two superoxide dismutases in *Aeromonas hydrophila*: molecular cloning and differential expression of the sodA and sodB genes. *Microbiology*, 2001, 147: 3105-3111.

114. Mao GD, Thomas P, Lopaschuk G, Poznansky M. Superoxide dismutase (SOD)-catalase conjugates. Role of hydrogen peroxide and the Fenton reaction in SOD toxicity. *Journal of Biological Chemistry*, 1993, 268: 416-420.

115. Kirkman HN, Gaetani GF. Catalase: a tetrameric enzyme with four tightly bound molecules of NADPH. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1984, 81: 4343-4347.

116. Amorim AM, Gasques MD, Andreus J, Scharf M. The application of catalase for the elimination of hydrogen peroxide residues after bleaching of cotton fabrics. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 2002, 74: 433-436.

117. Kirkman HN, Rolfo M, Ferraris AM, Gaetani GF. Mechanisms of protection of catalase by NADPH Kinetics and stoichiometry. *Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274: 13908-13914.

118. Frew JE, Jones P. Structure and functional properties of peroxidases and catalases. *Advances In Inorganic and Bioinorganic Mechanisms*, 1984, 3: 175-212.

119. Mills GC. Hemoglobin catabolism I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. *Journal of Biological Chemistry*, 1957, 229: 189-197.
120. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 1967, 70: 158-169.
121. Pamuk T. Blood serum concentrations of selenium and glutathione peroxidase activity in Akkaraman sheep. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 2001, 25: 731-734.
122. Tsai AC. Lipid peroxidation and glutathione peroxidase activity in the liver of cholesterol-fed rats. *The Journal of Nutrition*, 1975, 105: 946-951.
123. Pioruńska-Stolzmann M, Batko J, Majewski W. Lipid profile, lipase and glutathione peroxidase activities in the serum of patients with atherosclerosis. *Medical Science Monitor*, 1999, 5: 900-903.
124. van Haaften RI, Haenen GR, Evelo CT, Bast A. Effect of vitamin E on glutathione-dependent enzymes. *Drug Metabolism Reviews*, 2003, 35: 215-253.
125. Thomas J, Maiorino M, Ursini F, Girotti A. Protective action of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase against membrane-damaging lipid peroxidation. In situ reduction of phospholipid and cholesterol hydroperoxides. *Journal of Biological Chemistry*, 1990, 265: 454-461.
126. Brigelius-Flohé R. Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. *Free Radical Biology and Medicine*, 1999, 27: 951-965.
127. Pickett CB, Lu AY. Glutathione S-transferases: gene structure, regulation, and biological function. *Annual Review of Biochemistry*, 1989, 58: 743-764.

128. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *The Lancet*, 1994, 344: 721-724.
129. Carlberg I, Mannervik B. Glutathione reductase. *Methods in enzymology*, 1984, 113: 484-490.
130. Stryer L, Tymoczko J, Berg J. *Biochemistry*. 5. Baskı. United States, W.H. Freeman & Co Ltd, 2002.
131. Murray R, Granner D, Mayes P, Rodwell V. *Harper'in Biyokimyası*. 19. Baskı. İstanbul, Barış Kitabevi, 1998.
132. Hiraishi H, Terano A, Ota S, Mutoh H, Sugimoto T, Harada T, Razandi M, Ivey K. Protection of cultured rat gastric cells against oxidant-induced damage by exogenous glutathione. *Gastroenterology*, 1994, 106: 1199-1207.
133. Keha E, Küfrevioğlu Ö. *Biyokimya*. 6. Baskı. Erzurum, Aktif Yayınevi, 2007: 348-470.
134. Perpetuo EA, Souza CB, Nascimento CAO. *Progress In Molecular and Environmental Bioengineering - From Analysis and Modeling to Technology Applications*. 1. Baskı. Brazil, University of Sao Paulo, 2011: 605-632.
135. Siems W, Sommerburg O, Grune T. Erythrocyte free radical and energy metabolism. *Clinical Nephrology*, 2000, 53: S9-17.
136. Montgomery R, Contway T, Specter A. *Biyokimya Olgu Sunumlu*. 1. Baskı. Ankara, Palme Yayıncılık, 2000.
137. Champe P, Harvey R. *Lippincott's Illustrated Reviews serisinden Biyokimya*. 2. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, 1997: 300-350.
138. Tariq M. Gastric anti-ulcer and cytoprotective effect of vitamin E in rats. *Research Communications In Chemical Pathology and Pharmacology*, 1988, 60: 87-96.

139. Rock CL, Jacob RA, Bowen PE. Update on the biological characteristics of the antioxidant micronutrients: vitamin C, vitamin E, and the carotenoids. *Journal of the American Dietetic Association*, 1996, 96: 693-702.
140. Erdem L. Peptik Ülser Tedavisinde Yeni İlaçlar. *Turkiye Klinikleri Journal of Gastroenterohepatology Special Topics*, 2009, 2: 46-54.
141. Neal K, Logan R. Potential gastrointestinal effects of long-term acid suppression with proton pump inhibitors. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 2001, 15: 1085-1085.
142. Itoh M, Guth PH. Role of oxygen-derived free radicals in hemorrhagic shock-induced gastric lesions in the rat. *Gastroenterology*, 1985, 88: 1162-7.
143. Isenberg J, McQuaid K, Laine L, Walsh J. Acid-peptic disorders. *Textbook of Gastroenterology*, 1995, 1: 1241-1244.
144. 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.
145. Whittle BJ. Mechanisms underlying intestinal injury induced by anti-inflammatory COX inhibitors. *European Journal of Pharmacology*, 2004, 500: 427-439.
146. 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.
147. USDA. *Maclura pomifera* (Raf.) C.K. Schneid. osage orange. <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=MAPO>. 13.02.2014.
148. Anonim. *Maclura pomifera* (Raf.) C.K.Schneid. <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-2501306>. 13.02.2014.

149. Armağan G. N-Metil- D-Aspartat Reseptörleri Aracılı Nörodejenarasyonda Bazı Nonsteroidal Antiinflamatuvar İlaçların Nöroprotektif Etkileri. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalı. Doktora Tezi, İzmir: Ege Üniversitesi, 2011.
150. Girl B. My Osage Orange Trees: Holiday Craft. <http://www.blimpygirl.com/personal-what-not/my-osage-orange-trees-holiday-craft>. 13 Şubat 2014.
151. Tsao R, Yang R, Young JC. Antioxidant isoflavones in osage orange, *Maclura pomifera* (Raf.) Schneid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51: 6445-6451.
152. Teixeira DM, Costa C. Novel methods to extract flavanones and xanthenes from the root bark of *Maclura pomifera*. *Journal of Chromatography A*, 2005, 1062: 175-181.
153. Saloua F, Eddine NI, Hedi Z. Chemical composition and profile characteristics of Osage orange *Maclura pomifera* (Rafin.) Schneider seed and seed oil. *Industrial Crops and Products*, 2009, 29: 1-8.
154. Carlson GG, Jones VH. *Some notes on uses of plants by the Comanche Indians*. 1. Baskı. Michigan, University of Michigan Press, 1940.
155. Liskova M, Marek J, Jankovska D, Sukupova L, Zemlicka M, Vanco J. Osajin. *Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online*, 2005, 61: o1848-o1850.
156. Ruiz-Larrea MB, Mohan AR, Paganga G, Miller NJ, Bolwell GP, Rice-Evans CA. Antioxidant activity of phytoestrogenic isoflavones. *Free Radical Research*, 1997, 26: 63-70.
157. Wei H, Bowen R, Cai Q, Barnes S, Wang Y. Antioxidant and antipromotional effects of the soybean isoflavone genistein. *Experimental Biology and Medicine*, 1995, 208: 124-130.

158. Guidobono F, Pagani F, Ticozzi C, Sibilia V, Pecile A, Netti C. Protection by amylin of gastric erosions induced by indomethacin or ethanol in rats. *British Journal of Pharmacology*, 1997, 120: 581-586.
159. Abdel-Wahab MH, Arafa HM, El-Mahdy MA, Abdel-Naim AB. Potential protective effect of melatonin against dibromoacetonitrile-induced oxidative stress in mouse stomach. *Pharmacological Research*, 2002, 46: 287-293.
160. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 1979, 95: 351-358.
161. Sedlak JF, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical Biochemistry*, 1968, 25: 192-205.
162. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*, 1988, 34: 497-500.
163. Aebi H. Catalase in vitro. İçinde:Lester P (editör). *Methods in Enzymology*, 1. Baskı. Academic Press, 1984: 121-126.
164. SPSS. Statistical Packages for The Social Sciences. 2011, MAC.
165. Faydaoğlu E, Sürücüoğlu MS. Geçmişten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 2011, 11: 52-67.
166. Gurib-Fakim A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular aspects of Medicine*, 2006, 27: 1-93.
167. Veselá D, Kubínová R, Muselík J, Žemlička M, Suchý V. Antioxidative and EROD activities of osajin and pomiferin. *Fitoterapia*, 2004, 75: 209-211.

168. Hamed SF, Hussein AA. Effect of *Maclura pomifera* total acetonetic extract, pomiferin and osajin on the autooxidation of purified sunflower triacylglycerols. *International Journal of Fats and Oils*, 2005, 56: 21-24.
169. Altuner EM, İşlek C, Çeter T, Alpas H. High hydrostatic pressure extraction of phenolic compounds from *Maclura pomifera* fruits. *African Journal of Biotechnology*, 2014, 11: 930-937.
170. Ismail A, Radwan H, Hussein AA. Biodetrimental effects of the major flavonoidic constituents from *Maclura pomifera* on the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Hub.). *Journal of The Egyptian German Society of Zoology and Entomology*, 2001, 36: 59-66.
171. Gruber JV, Holtz R. Examining the genomic influence of skin antioxidants in vitro. *Mediators of Inflammation*, 2010, 2010.
172. Orhan I, Senol F, Kartal M, Dvorska M, Zemlicka M, Smejkal K, Mokry P. Cholinesterase inhibitory effects of the extracts and compounds of *Maclura pomifera*(Rafin.) Schneider. *Food and Chemical Toxicology*, 2009, 47: 1747-1751.
173. Florian T, Necas J, Bartosikova L, Klusakova J, Suchy V, El Naggat E, Janostikova E, Bartosik T. Effects of prenylated isoflavones osajin and pomiferin in premedication on heart ischemie-reperfusion. *Biomedical Papers-Palacky University In Olomouc*, 2006, 150: 93.
174. Bartošíková L, Nečas J, Suchý V, Janoščíková E, Bartošík T, Juřica J, Florian T, Klusakova J, Frydrych M. Protective effects of osajin in ischemia-reperfusion of laboratory rat kidney. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2006, 61: 552-555.

175. Franova J, Pavlik M. Testing of antidiabetic and antioxidative effect of the flavonoid osajin in an experiment. *Ceska A Slovenska Farmacie: Casopis Ceske Farmaceuticke Spolecnosti A Slovenske Farmaceuticke Spolecnosti*, 2007, 56: 200-204.
176. Diopan V, Babula P, Shestivska V, Adam V, Zemlicka M, Dvorska M, Hubalek J, Trnkova L, Havel L, Kizek R. Electrochemical and spectrometric study of antioxidant activity of pomiferin, isopomiferin, osajin and catalposide. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2008, 48: 127-133.
177. Huang T-T, Liu F-G, Wei C-F, Lu C-C, Chen C-C, Lin H-C, Ojcius DM, Lai H-C. Activation of multiple apoptotic pathways in human nasopharyngeal carcinoma cells by the prenylated isoflavone, osajin. *PloS One*, 2011, 6: e18308.
178. Donfack JH, Njayou F, Ngameni B, Tchana A, Chuisseu D, Finzi V, Ngadjui T, Moundipa F. In vitro hepatoprotective and antioxidant activities of diprenylated isoflavonoids from *Erythrina senegalensis* (Fabaceae). *Asian Journal of Traditional Medicines*, 2008, 3: 172-8.
179. Fornaciari G, Castagna M, Tognetti A, Tornaboni D, Bruno J. Syphilis in a Renaissance Italian mummy. *The Lancet*, 1989, 334: 614.
180. Fornaciari G, Castagna M, Viacava P, Tognetti A, Bevilacqua G, Segura E. Chagas' disease in Peruvian Inca mummy. *The Lancet*, 1992, 339: 128-129.
181. Giuffra V, Marinozzi S, Vultaggio C, Fornaciari G. A medical bandage in an Italian Renaissance mummy (Naples, XVI century). *Medicina Nei Secoli*, 2007, 20: 169-181.
182. Ogilvie H. A Hundred Years of Gastric Surgery: An expanded version of an address delivered at the Centenary Meeting of the American Medical Association at Atlantic City on 11th June 1947. *Annals of the Royal College of Surgeons of England*, 1947, 1: 37.

183. Bumin O. *Sindirim Sistemi Cerrahisi (I)*. 1. Baskı. Ankara, İlksan Matbaası, 1987: 128-147.
184. Franceschi F, Genta RM, Sepulveda AR. Gastric mucosa: long-term outcome after cure of *Helicobacter pylori* infection. *Journal of Gastroenterology*, 2002, 37: 17-23.
185. Hughes JR, Gust SW, Keenan RM, Fenwick JW, Healey ML. Nicotine vs placebo gum in general medical practice. *The Journal of The American Medical Association*, 1989, 261: 1300-1305.
186. Mulholland M, Debas H. Chronic duodenal and gastric ulcer. *The Surgical Clinics of North America*, 1987, 67: 489-507.
187. Schiller L. *Cecil Textbook of Medicine*. 1. Baskı. Philadelphia, Saunders Company, 1988.
188. Güneş ML, Yazıcı E, Yazıcı AB, Ferah I, Çadırcı E. Antidepresan ilaçların gastrik ülser üzerine etkileri. *Dicle Tıp Dergisi*, 2013, 40.
189. Brodie D. Ulceration of the stomach produced by restraint in rats. *Gastroenterology*, 1962, 43: 107-109.
190. Szabo S, Cho C. Animal models for studying the role of eicosanoids in peptic ulcer disease. İçinde: *Eicosanoids and The Gastrointestinal Tract*, Springer, 1988: 75-102.
191. Cho C, Koo M, Garg G, Ogle C. Stress-induced gastric ulceration: its aetiology and clinical implications. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 1992, 27: 257-262.
192. Guth PH. Gastric blood flow in restraint stress. *The American Journal of Digestive Diseases*, 1972, 17: 807-813.
193. Whittle B. *Protective mechanisms of the gastric mucosa*. 1. Baskı. New York, Churchill Livingstone, 1992: 81-101.

194. Hernandez DE, Stanley DA, Melvin JA, Prange Jr AJ. Role of brain neurotransmitters on neurotensin-induced gastric cytoprotection. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1985, 22: 509-513.
195. Üstüner MA, İlhan E, Şenlikçi A, Dadalı E, Gökçelli U, Üreyen O. Peptik Ülser Perforasyonlarında Morbidite Ve Mortaliteye Etki Eden Faktörler. *İzmir Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi*, 2013, 17: 37-43.
196. Tegeder I, Neupert W, Guhring 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.
197. Ajaikumar K, Asheef M, Babu B, Padikkala J. The inhibition of gastric mucosal injury by *Punica granatum* L.(pomegranate) methanolic extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 2005, 96: 171-176.
198. Bjarnason I, Zanelli G, Smith T, Prouse P, Williams P, Smethurst P, Delacey G, Gumpel MJ, Levi AJ. Nonsteroidal antiinflammatory drug-induced intestinal inflammation in humans. *Gastroenterology*, 1987, 93: 480-489.
199. Kucuksahin O, Turgay M. Analjezik, Antiinflamatuvar İlaçların Yan Etkileri ve Bunların Yönetimi. *İç Hastalıkları Dergisi*, 2013, 20: 39-47.
200. Feely J, Wormsley KG. New drugs. H2 receptor antagonists--cimetidine and ranitidine. *British Medical Journal (Clinical Research Edition)*, 1983, 286: 695.
201. Moller H, Lindvig K, Klefter R, Mosbech J, Jensen OM. Cancer occurrence in a cohort of patients treated with cimetidine. *Gut*, 1989, 30: 1558-1562.
202. Richardson P, Hawkey CJ, Stack WA. Proton pump inhibitors. *Drugs*, 1998, 56: 307-335.

203. Poulsen A, Christensen S, McLaughlin J, Thomsen RW, Sørensen HT, Olsen J, Friis S. Proton pump inhibitors and risk of gastric cancer: a population-based cohort study. *British Journal of Cancer*, 2009, 100: 1503-1507.
204. Orr WC, Craddock A, Goodrich S. Acidic and non-acidic reflux during sleep under conditions of powerful acid suppression. *CHEST Journal*, 2007, 131: 460-465.
205. Yearsley K, Gilby L, Ramadas A, Kubiak E, Fone D, Allison M. Proton pump inhibitor therapy is a risk factor for *Clostridium difficile*-associated diarrhoea. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 2006, 24: 613-619.
206. Graham DY, Genta RM. Long-term proton pump inhibitor use and gastrointestinal cancer. *Current Gastroenterology Reports*, 2008, 10: 543-547.
207. Howden CW. Vitamin B12 levels during prolonged treatment with proton pump inhibitors. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 2000, 30: 29-33.
208. Cundy T, Dissanayake A. Severe hypomagnesaemia in long-term users of proton-pump inhibitors. *Clinical Endocrinology*, 2008, 69: 338-341.
209. Niklasson A, Lindstrom L, Simren M, Lindberg G, Bjornsson E. Dyspeptic symptom development after discontinuation of a proton pump inhibitor: a double-blind placebo-controlled trial. *The American Journal of Gastroenterology*, 2010, 105: 1531-1537.
210. Halici M, Kufrevioglu OI, Odabasoglu F, Halici Z, Cakir A, Aslan A. The Ethanol-Water Extract Of *Ramalina Capitata* Has Gastroprotective And Antioxidative Properties: An Experimental Study In Rats With Indomethacin-Induced Gastric Injuries. *Journal of Food Biochemistry*, 2011, 35: 11-26.
211. Thong-Ngam D, Choochuai S, Patumraj S, Chayanupatkul M, Klaikeaw N. Curcumin prevents indomethacin-induced gastropathy in rats. *World Journal of Gastroenterology*, 2012, 18: 1479.

212. Robert A. An intestinal disease produced experimentally by a prostaglandin deficiency. *Gastroenterology*, 1975, 69: 1045-1047.
213. Naito Y, Yoshikawa T, Yoshida N, Kondo M. Role of oxygen radical and lipid peroxidation in indomethacin-induced gastric mucosal injury. *Digestive Diseases and Sciences*, 1998, 43: 30S-34S.
214. Yoshikawa T, Minamiyama Y, Ichikawa H, Takahashi S, Naito Y, Kondo M. Role of lipid peroxidation and antioxidants in gastric mucosal injury induced by the hypoxanthine-xanthine oxidase system in rats. *Free Radical Biology and Medicine*, 1997, 23: 243-250.
215. Miura T, Muraoka S, Fujimoto Y. Lipid peroxidation induced by indomethacin with horseradish peroxidase and hydrogen peroxide: involvement of indomethacin radicals. *Biochemical Pharmacology*, 2002, 63: 2069-2074.
216. Filaretova L, Tanaka A, Miyazawa T, Kato S, Takeuchi K. Mechanisms by which endogenous glucocorticoid protects against indomethacin-induced gastric injury in rats. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2002, 283: G1082-G1089.
217. Whittle BJ, Laszlo F, Evans SM, Moncada S. Induction of nitric oxide synthase and microvascular injury in the rat jejunum provoked by indomethacin. *British Journal of Pharmacology*, 1995, 116: 2286-2290.
218. Konaka A, Kato S, Tanaka A, Kunikata T, Korolkiewicz R, Takeuchi K. Roles of enterobacteria, nitric oxide and neutrophil in pathogenesis of indomethacin-induced small intestinal lesions in rats. *Pharmacological Research*, 1999, 40: 517-524.
219. Sarma A, Şahin A, Akdeniz CB, Şentürk E. Sıçanlarda Non-Steroidall Antiinflatuvar İlaçla Oluşturulan Deneysel Peptik Ülser Modelinde Ozon Terapinin Koruyucu Etkisi, XII. Öğrenci Sempozyumu, 2010, Ankara 2.3.

220. Halliwell B. *Free Radicals and Other Reactive Species In Disease*. 1. Baskı. Singapore, Wiley Online Library, 2005.
221. Oğuz E, Çelik Z. Suların Ozonlanmasıdaki Gelişmeler. *Pamukkale University Journal of Engineering Sciences*, 2011, 7.
222. Mizui T, Sato H, Hirose F, Doteuchi M. Effect of antiperoxidative drugs on gastric damage induced by ethanol in rats. *Life Sciences*, 1987, 41: 755-763.
223. Tarnasky PR, Livingston EH, Jacobs KM, Zimmerman BJ, Guth PH, Garrick TR. Role of oxyradicals in cold water immersion restraint-induced gastric mucosal injury in the rat. *Digestive Diseases and Sciences*, 1990, 35: 173-177.
224. Van Der Vliet A, Bast A. Role of reactive oxygen species in intestinal diseases. *Free Radical Biology and Medicine*, 1992, 12: 499-513.
225. Neu S-L. Acid-induced gastric damage in rats is aggravated by starvation and prevented by several nutrients. *The Journal of Nutrition*, 1997, 127: 630-636.
226. Jung HK, Lee KE, Chu SH, Yi SY. Reactive oxygen species activity, mucosal lipoperoxidation and glutathione in Helicobacter pylori-infected gastric mucosa. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2001, 16: 1336-1340.
227. Jainu M, Devi CSS. Gastroprotective action of *Cissus quadrangularis* extract against NSAID induced gastric ulcer: Role of proinflammatory cytokines and oxidative damage. *Chemico-Biological Interactions*, 2006, 161: 262-270.
228. Dengiz GO, Odabasoglu F, Halici Z, Suleyman H, Cadirci E, Bayir Y. Gastroprotective and antioxidant effects of amiodarone on indomethacin-induced gastric ulcers in rats. *Archives of Pharmacal Research*, 2007, 30: 1426-1434.
229. Halici M, Odabasoglu F, Suleyman H, Cakir A, Aslan A, Bayir Y. Effects of water extract of *Usnea longissima* on antioxidant enzyme activity and mucosal damage caused by indomethacin in rats. *Phytomedicine*, 2005, 12: 656-662.

230. Kaplan KA, Odabasoglu F, Halici Z, Halici M, Cadirci E, Atalay F, Aydin O, Cakir A. Alpha-Lipoic Acid Protects against Indomethacin-Induced Gastric Oxidative Toxicity by Modulating Antioxidant System. *Journal of Food Science*, 2012, 77: H224-H230.
231. Khattab MM, Gad MZ, Abdallah D. Protective role of nitric oxide in indomethacin-induced gastric ulceration by a mechanism independent of gastric acid secretion. *Pharmacological Research*, 2001, 43: 463-467.
232. Koc M, Imik H, Odabasoglu F. Gastroprotective and Anti-oxidative Properties of Ascorbic Acid on Indomethacin-induced Gastric Injuries in Rats. *Biological Trace Element Research*, 2008, 126: 222-236.
233. Mizoguchi H, Ogawa Y, Kanatsu K, Tanaka A, Kato S, Takeuchi K. Protective effect of rebamipide on indomethacin-induced intestinal damage in rats. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2001, 16: 1112-1119.
234. Morsy MA, Fouad AA. Mechanisms of gastroprotective effect of eugenol in indomethacin-induced ulcer in rats. *Phytotherapy Research*, 2008, 22: 1361-1366.
235. 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.
236. Odabasoglu F, Cakir A, Suleyman H, Aslan A, Bayir Y, Halici M, Kazaz C. Gastroprotective and antioxidant effects of usnic acid on indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 2006, 103: 59-65.
237. 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.

238. Sandor V, Cuparencu B, Dumitrascu DL, Birt MA, Krausz TL. Protective effects of amphetamine on gastric ulcerations induced by indomethacin in rats. *World Journal of Gastroenterology*, 2006, 12: 7168.
239. Takeuchi K, Ueshima K Fau - Hironaka Y, Hironaka Y Fau - Fujioka Y, Fujioka Y Fau - Matsumoto J, Matsumoto J Fau - Okabe S, 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.
240. Tanaka J, Yuda Y. Lipid peroxidation in gastric mucosal lesions induced by indomethacin in rat. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 1996, 19: 716-720.
241. 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.
242. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology*, 1997, 82: 291-295.
243. Perry M, Wadhwa S, Parks D, Pickard W, Granger D. Role of oxygen radicals in ischemia-induced lesions in the cat stomach. *Gastroenterology*, 1986, 90: 362.
244. 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.
245. Cheung C, Siu W, Richardson B, De Luca-Abbott S, Lam P. Antioxidant responses to benzo [a] pyrene and Aroclor 1254 exposure in the green-lipped mussel, *Perna viridis*. *Environmental Pollution*, 2004, 128: 393-403.
246. Morsy MA, Ashour OM, Fouad AA, Abdel-Gaber SA. Gastroprotective effects of the insulin sensitizers rosiglitazone and metformin against indomethacin-induced

gastric ulcers in Type 2 diabetic rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 2010, 37: 173-177.

247. Sivalingam N, Basivireddy J, Balasubramanian KA, Jacob M. Curcumin attenuates indomethacin-induced oxidative stress and mitochondrial dysfunction. *Archives of Toxicology*, 2008, 82: 471-481.

248. Bhattacharya S, Chaudhuri SR, Chattopadhyay S, Bandyopadhyay SK. Healing properties of some Indian medicinal plants against indomethacin-induced gastric ulceration of rats. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 2007, 41: 106.

249. El-Missiry M, El-Sayed I, Othman A. Protection by metal complexes with SOD-mimetic activity against oxidative gastric injury induced by indometacin and ethanol in rats. *Annals of Clinical Biochemistry*, 2001, 38: 694-700.

250. Yamasaki K, Kanbe T, Chijiwa T, Ishiyama H, Morita S. Gastric mucosal protection by OPC-12759, a novel antiulcer compound, in the rat. *European Journal of Pharmacology*, 1987, 142: 23-29.

251. Jain A, Mårtensson J, Mehta T, Krauss AN, Auld P, Meister A. Ascorbic acid prevents oxidative stress in glutathione-deficient mice: effects on lung type 2 cell lamellar bodies, lung surfactant, and skeletal muscle. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1992, 89: 5093-5097.

252. Sakurai K, Yamasaki K. Protective effect of rebamipide against hydrogen peroxide-induced hemorrhagic mucosal lesions in rat stomach. *Japanese Journal of Pharmacology*, 1994, 64: 229-234.

253. Cheeseman K, Slater T. An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin*, 1993, 49: 481-493.

254. Presteria T, Zhang Y, Spencer SR, Wilczak CA, Talalay P. The electrophile counterattack response: protection against neoplasia and toxicity. *Advances in Enzyme Regulation*, 1993, 33: 281-296.
255. Ketterer B. Protective role of glutathione and glutathione transferases in mutagenesis and carcinogenesis. *Mutation Research; Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 1988, 202: 343-361.
256. Hayes JD, Pulford DJ. The Glutathione S-Transferase Supergene Family: Regulation of GST and the Contribution of the Isoenzymes to Cancer Chemoprotection and Drug Resistance Part I. *Critical Reviews In Biochemistry and Molecular Biology*, 1995, 30: 445-520.
257. Van Lieshout E, Peters W, Jansen J. Effect of oltipraz, alpha-tocopherol, beta-carotene and phenethylisothiocyanate on rat oesophageal, gastric, colonic and hepatic glutathione, glutathione S-transferase and peroxidase. *Carcinogenesis*, 1996, 17: 1439-1445.
258. Berenguer B, Sánchez L, Quilez A, López-Barreiro M, De Haro O, Galvez J, Martín M. Protective and antioxidant effects of *Rhizophora mangle* L. against NSAID-induced gastric ulcers. *Journal of Ethnopharmacology*, 2006, 103: 194-200.
259. Monteiro MVB, de Melo Leite AKR, Bertini LM, de Morais SM, Nunes-Pinheiro DCS. Topical anti-inflammatory, gastroprotective and antioxidant effects of the essential oil of *Lippia sidoides* Cham. leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, 2007, 111: 378-382.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
<p>Adı Soyadı: Hüseyin Serkan EROL Doğum tarihi: 17.01.1986 Doğum yeri: Eskişehir Medeni hali: Evli, 2 çocuk Uyruğu: T.C. Adres: Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, 25240 ERZURUM Tel: 0442 231 55 14 Faks: 0449 231 55 63 E-mail: hserkan.erol@atauni.edu.tr – huseyinserkanerol@hotmail.com</p>
Eğitim
<p>Lise: Manisa Dündar Çiloğlu Anadolu Lisesi (2003) Lisans: Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi (2003-2008) Yüksek lisans: - - Doktora: Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı (2010-2015)</p>
Yabancı Dil Bilgisi
<p>İngilizce: ÜDS 60.00, Ekim 2009 Almanca: Rusça:</p>
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
.....
İlgi Alanları ve Hobiler
.....

EK-2. ENSTİTÜ YÖNETİM KURULU KARARI

“2013.31.7/b “ ENSTİTÜ YÖNETİM KURULU KARARI OTURUM TARİHİ:13.09 .2013

7/b-Enstitümüz Veteriner Biyokimya Anabilim Dalı Doktora öğrencisi H.Serkan EROL'un tez konusunun belirlenmesine ilişkin Anabilim Dalı başkanlığının 12.09.2013 tarih ve 95 sayılı yazısı görüldü.

Hüseyin Serkan EROL'un tez konusu hakkında Tez Öneri Raporu, Tez başvuru Formu ve Etik kurul Raporu dikkate alınarak Anabilim Dalı Başkanlığınca teklif edildiği şekli ile “ **Maclura Pomifera Bitkisinden İzole Edilen Osajin Maddesinin Ratlarda İndometazin ile Oluşturulan Gastirik Hasar Üzerine Etkilerinin Araştırılması** ” olarak belirlenmesine, kararın öğrenciye ve Anabilim Dalı Başkanlığına bildirilmesine mevcudun oy birliği ile

MÜDÜR

Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM

MÜDÜR YRD.

Doç. Dr. Abdulkadir YILDIRIM

MÜDÜR YRD.

Doç. Dr. Reva BALCI AKPINAR

ÜYE

Prof. Dr. Mağfiret KAŞIKCI

ÜYE

Prof. Dr. Hayati Murat AKGÜL

ÜYE

Doç. Dr. Meltem ÇETİN

Hilmi DJYARBAKIR
Enstitü Sekreteri (Raportör)



EK-3. DENEY HAYVANLARI YEREL ETİK KURUL KARARI



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 36643897-118

Konu : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı.

29.08.2013
ERZURUM

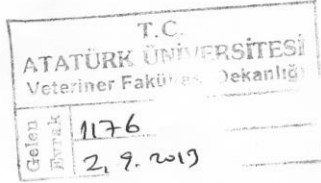
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
VETERİNER FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

25240 – Kampus / ERZURUM

İlgi : 16.08.2013 tarih ve 36643897-728 sayılı yazı.

İlgide kayıtlı yazıda belirtildiği üzere, Fakülteniz Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Mesut Bünyami HALICI'nın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezinde yürütülecek olan “**Maclura Pomifera Bitkisinden İzole Edilen Osajin Maddesinin Ratlarda İndometazin İle Oluşturulan Gastrik Hasar Üzerine Etkilerinin Araştırılması**” başlıklı araştırma çalışması, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 29.08.2013 tarih ve 3 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 100 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna mevcudun oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.



Prof. Dr. Derviş ÖZDEMİR
Başkan Vekili

Toplantı Tarihi : 29.08.2013

Toplantı Sayısı : 3

KARAR NO : 100- Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı, Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Mesut Bünyami HALICI'nın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezinde yürütülecek olan “**Maclura Pomifera Bitkisinden İzole Edilen Osajin Maddesinin Ratlarda İndometazin İle Oluşturulan Gastrik Hasar Üzerine Etkilerinin Araştırılması**” başlıklı araştırma çalışması ile ilgili Veteriner Fakültesi Dekanlığının 16.08.2013 tarih ve 36643897-728 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğunun, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Adres : Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı. 25240 – Yakutiye / ERZURUM
Telefon : 0-442-236 08 80 **Fax** : 0-442-236 08 81 **e-mail**: hadyeg@atauni.edu.tr