

**SUSAM YAĞININ GASTROPROTEKTİF ETKİ  
SÜRECİNDE MEYDANA GELEN BİYOKİMYASAL  
DEĞİŞİKLİKLERİN ARAŞTIRILMASI**

**Nurulhünda HANCI**  
**Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalı**  
**Tez Danışmanı**  
**Yrd. Doç. Dr. Fehmi ODABAŞOĞLU**  
**Yüksek Lisans Tezi - 2014**

**T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SUSAM YAĞININ GASTROPROTEKTİF ETKİ SÜRECİNDE  
MEYDANA GELEN BİYOKİMYASAL DEĞİŞİKLİKLERİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Nurulhünda HANCI**

**Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı  
Yrd. Doç. Dr. Fehmi ODABAŞOĞLU**

**ERZURUM  
2014**

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

SUSAM YAĞININ GASTROPROTEKTİF ETKİ SÜRECİNDE  
MEYDANA GELEN BİYOKİMYASAL DEĞİŞİKLİKLERİN  
ARAŞTIRILMASI

Nurulhünda HANCI

Tez Savunma Tarihi : 24.02.2014

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Fehmi ODABAŞOĞLU (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Cavit KAZAZ (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Mesut HALICI (Atatürk Üniversitesi)

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

  
Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM  
Enstitü Müdürü

Yüksek Lisans Tezi  
ERZURUM - 2014

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR .....	IV
ÖZET.....	V
ABSTRACT.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	IX
TABLolar DİZİNİ .....	XI
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	6
2.1. Bitkisel Yağlar .....	6
2.2. Uçucu Yağlar .....	7
2.3. Esansiyel Yağlar ve Genel Özellikleri.....	8
2.4. Esansiyel Yağların Etkileri ve Kullanım Alanları .....	9
2.5. Susam Yağı.....	9
2.6. Mide Ülseri.....	11
2.7. Antioksidanlar .....	19
2.7.1. Serbest Radikaller .....	20
2.7.2. Serbest Radikal Çeşitleri .....	21
2.7.3. Serbest Radikallerin Kaynakları .....	26
2.7.4. Serbest Radikallerin Etkileri .....	31
2.7.5. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	35

2.7.6. Antioksidan Etki Tipleri.....	45
<b>3. MATERYAL VE METOT .....</b>	<b>46</b>
3.1. Deneyleerde Kullanılan Kimyasallar .....	46
3.2. Deneyleerde Kullanılan Cihazlar.....	46
3.3. Deneyleerde Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları.....	47
3.4. Deney Hayvanları .....	49
3.5. İndometazin ile Ratlarda Ülserinin Oluşturulması, Famotidin ve Susam Yağının Uygulanması.....	50
3.6. Mide Dokusunun Makroskopik ve Biyokimyasal Olarak İncelenmesi .....	51
3.6.1. Mide Dokusunun Makroskopik İncelenmesi.....	51
3.6.2. Mide Dokusunun Biyokimyasal İncelenmesi.....	52
3.6.3. İstatistiksel Analizler.....	58
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>59</b>
4.1. Makroskopik Bulgular .....	59
4.2. Biyokimyasal Bulgular.....	61
4.2.1. MPx Aktivitesi Üzerine Susam Yağının Etkileri.....	61
4.2.2. LPO Miktarı Üzerine Susam Yağının Etkileri.....	63
4.2.3. CAT Aktivitesi Üzerine Susam Yağının Etkileri.....	64
4.2.4. GSH Seviyesi Üzerine Susam Yağının Etkileri.....	66
4.2.5. GR Aktivitesi Üzerine Susam Yağının Etkileri.....	68
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>70</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>75</b>

<b>KAYNAKLAR</b> .....	76
<b>EKLER</b> .....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.100
<b>EK 1. ÖZGEÇMİŞ</b> .....	100
<b>EK 2. ETİK KURUL ONAY FORMU</b> .....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.101



## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum bu çalıŐmayı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten, tezimin her aŐamasında yardımlarını esirgemeyen hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Fehmi ODABAŞOĞLU' na en derin saygı ve Őukranlarımı sunarım.

Biyokimyasal çalışmalarda yardımcı olan Sayın ArŐ. Gör. Özlem AYDIN BERKTAŐ ve ArŐ. Gör. Zerrin KUTLU KOTAN' a, çalıŐmalarım sırasında ilgi ve desteklerini esirgemeyen çalışma arkadaşlarıma, yoğun eğitim dönemim boyunca sabırla beni destekleyen aileme teşekkür ederim.

Nurulhünda HANCI

## ÖZET

### Susam Yağının Gastroprotektif Etki Sürecinde Meydana Gelen Biyokimyasal Değişikliklerin Araştırılması

**Amaç:** Bu çalışmada, ratlarda İND ile oluşturulan ülser modeli kullanılarak SY' nin (*in vivo*) antiülserojen etkisi araştırıldı.

**Materyal ve Metot:** 0.5 ve 1 ml/kg dozlarda SY, 25 mg/kg dozda FAM, pozitif kontrol ve 25 mg/kg dozda İND (negatif kontrol) oral yolla verildikten sonra deneye alındı. Çalışmalarda kontrol grubu olarak kullanılmak üzere bir gruba da musluk suyu verildi. Daha sonra tüm gruplardaki mide dokuları çıkarılarak CAT, MPx ve GR enzim aktiviteleri ile LPO ve GSH miktarları ölçüldü.

**Bulgular:** İND ile muamele edilen grupta meydana gelen ülserin, uygulanan FAM ve SY' nin her iki dozu vasıtasıyla önemli oranda ( $p<0.05$ ) azaltıldığı belirlendi. Diğer yandan, antioksidant savunma sistemlerinin antiülserojen aktivite üzerine olan etkilerini açıklamak için, gastrik hasarlı, SY ve FAM ile muamele edilmiş rat mide dokularında antioksidan enzimlerden CAT, GR ve MPx enzimlerinin aktiviteleri ile LPO ve GSH miktarları belirlendi. Bulgular, kontrol grupları ile karşılaştırılarak değerlendirildi.

**Sonuç:** Elde edilen sonuçlar, gastrik hasar oluşumunda serbest radikallerin üretildiğini ve İND' nin antioksidan savunma sistemini olumsuz etkileyerek ülser oluşumuna katkı sağladığını göstermektedir. SY ve FAM ile muamele edilmiş dokularda, İND'nin aksine bu maddeler antioksidan savunma sisteminin olumlu yönde etkilendiği ve gastrik mukozada üretilen ROS radikallerinin ülser oluşumundaki olumsuz etkilerinin azalttığı belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** antioksidan, susam yağı, peptik ülser, rat



## ABSTRACT

### **The Determination of Effect Sesame Oil on the Gastroprotective Properties and Biochemical Mechanisms**

**Objective:** The antiulcerogenic effect of sesame oil on indomethacine-induced gastric lesions was investigated in rats.

**Materials and Methods:** 0.5 and 1 ml/kg doses of SY, 25 mg/kg dose of FAM, (positive control) and 25 mg/kg dose of IND (negative control) were orally administered. A group to be used as a control group was given tap water in studies. Stomach tissue samples were obtained in all groups and of CAT, GR, MPx enzyme activity with quantities of LPO and GSH was measured.

**Results:** The present results show that all doses of SY and FAM had significant gastroprotective effect against the gastric damages caused by indomethacin.

On the other hand, to explain the effects of antioxidant defense systems on antiulcerogen activity, administration SY and FAM in stomach tissues of rats gastric damage, antioxidant enzymes such as GR, CAT and MPx with enzyme activities quantities of LPO and GSH was determined. The findings were compared with control groups.

**Conclusion:** The results shows that free radicals produce in gastric damage of the formation and IND affect negative the antioxidant defense system by contributes to ulcer formation. In the administration SY and FAM tissues were treated that effect positive the antioxidant defense system contrast to IND. ROS produced in the gastric mucosa were determined to reduce in negative effects of the formation of ulcers

**Key Words:** antioxidant, sesame oil, peptic ulcer, rat

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>ADP</b>	: Adenozin di fosfat
<b>AMP</b>	: Adenonin mono fosfat
<b>BSA</b>	: Sığır Serum Albumin
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>CCl<sub>4</sub></b>	: Karbontetraklorür
<b>CC<sub>3</sub></b>	: Triklorometil
<b>COX</b>	: Siklooksijenaz enzimi
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>GPx</b>	: Glutatyon peroksidaz
<b>GR</b>	: Glutatyon redüktaz
<b>GSH</b>	: Glutatyon
<b>GST</b>	: Glutatyon S-Transferaz
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen peroksit
<b>HO·</b>	: Hidroksil
<b>HO<sub>2</sub>·</b>	: Peroksil
<b>LPO</b>	: Lipit peroksidasyonu
<b>MDA</b>	: Malondialdehit
<b>MPx</b>	: Miyeloperoksidaz
<b>NAD</b>	: Nikotinamid adenin dinükleotid
<b>NADPH</b>	: Nikotinamid adenin dinükleotid hidrojen fosfat
<b>NO·</b>	: Nitrik oksit
<b>NO<sup>+</sup></b>	: Nitronyum iyonu
<b>NO<sub>2</sub>·</b>	: Azot protoksit

<b>NSAID</b>	: Steroid olmayan antienflamatuar ilaçlar
<b>NBT</b>	: Nitro blue tetrazolium
<b>O<sub>2</sub><sup>•-</sup></b>	: Süperoksit radikali
<b><sup>1</sup>O<sub>2</sub></b>	: Singlet oksijen
<b>PGE</b>	: Prostaglandin
<b>RNA</b>	: Reoksiribo nükleik asit
<b>RO<sup>•</sup></b>	: Alkoksil radikalleri
<b>ROO<sup>•</sup></b>	: Peroksil radikalleri
<b>ROS</b>	: Reaktif Oksijen türleri
<b>RSO<sup>•</sup></b>	: Sülfenil
<b>RSO<sub>2</sub><sup>•</sup></b>	: Tiyol peroksil
<b>SOD</b>	: Süperoksit dismutaz
<b>SY</b>	: Susam yağı
<b>UV</b>	: Ultra viyole
<b>WHO</b>	: Dünya Sağlık Teşkilatı

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>		<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1.	Midenin yerleşimi ve ülserli midenin görünümü .....	12
Şekil 2.2.	Reaktif oksijen radikallerinin (Reactive oxygen species; ROS) ile vücut savunmaları arasındaki denge.....	19
Şekil 2.3.	Genel anlamda antioksidan sistem elemanlarını bir arada gösteren şema.	35
Şekil 2.4.	Glutasyon' un molekül yapısı .....	41
Şekil 3.5.	Araştırmada kullanılan Wistar rat.....	49
Şekil 3.6.	LPO miktarlarının belirlenmesinde kullanılan standart grafik.....	54
Şekil 3.7.	GSH miktarlarının belirlenmesinde kullanılan standart grafik .....	56
Şekil 4.8.	İND (25 mg/kg) tarafından oluşturulan gastrik hasarlı dokudan (A) ve SY (1 ml) ile muamele edilmiş gruptan alınan (B) rat mideleri .....	60
Şekil 4.9.	İND (25 mg/kg), SY (0.5 ve 1 ml/kg), FAM (25 mg/kg) ve kontrol gruplarından alınan mide örneklerindeki MPx aktivitelerinin karşılaştırılmasını gösteren diyagram.....	62
Şekil 4.10.	İND (25 mg/kg), SY (0.5 ve 1 ml/kg), FAM (25 mg/kg) ve kontrol gruplarından alınan mide örneklerindeki LPO seviyelerinin karşılaştırılmasını gösteren diyagram.....	64
Şekil 4.11.	İND (25 mg/kg), SY (0.5 ve 1 ml/kg), FAM (25 mg/kg) ve kontrol gruplarından alınan mide örneklerindeki CAT aktivitelerinin karşılaştırılmasını gösteren diyagram .....	65
Şekil 4.12.	İND (25 mg/kg), SY (0.5 ve 1 ml/kg), FAM (25 mg/kg) ve kontrol gruplarından alınan mide örneklerindeki GSH seviyelerinin karşılaştırılmasını gösteren diyagram .....	67

**Şekil 4.13.** İND (25 mg/kg), SY (0.5 ve 1 ml/kg), FAM (25 mg/kg) ve kontrol gruplarından alınan mide örneklerindeki GR aktivitelerinin karşılaştırılmasını gösteren diyagram.....69



## TABLolar DİZİNİ

### Tablo No

### Sayfa No

- Tablo 4.1.** İND (25 mg/kg) tarafından oluşturulan gastrik hasar üzerine farklı dozlarda uygulanan SY (0.5 ve 1 ml/kg) ve FAM (25 mg/kg) etkilerini gösteren ölçüm sonuçları.....60
- Tablo 4.2.** İND (25 mg/kg), SY (0.5 ve 1 ml/kg), FAM (25 mg/kg) ve kontrol gruplarından alınan mide dokularındaki MPx aktivitelerini gösteren sonuçlar. ....62
- Tablo 4.3.** İND (25 mg/kg), SY (0.5 ve 1 ml/kg), FAM (25 mg/kg) ve kontrol gruplarından alınan mide dokularındaki LPO seviyelerini gösteren sonuçlar... .....63
- Tablo 4.4.** İND (25 mg/kg), SY (0.5 ve 1 ml/kg), FAM (25 mg/kg) ve kontrol gruplarından alınan mide dokularındaki CAT aktivitelerini gösteren sonuçlar.. .....65
- Tablo 4.5.** İND (25 mg/kg), SY (0.5 ve 1 ml/kg), FAM (25 mg/kg) ve kontrol gruplarından alınan mide dokularındaki GSH seviyelerini gösteren sonuçlar. ....67
- Tablo 4.6.** İND (25 mg/kg), SY (0.5 ve 1 ml/kg), FAM (25 mg/kg) ve kontrol gruplarından alınan mide dokularındaki GR aktivitelerini gösteren sonuçlar.. .....68

## 1. GİRİŞ

Ülser; mide ve duodenumun multifaktöriyel-kronik enflamatuvar bir hastalığıdır. Hastalığı meydana getiren faktörler, asit sekresyonu ve koruyucu mukoza bariyerindeki bozukluklara ilave olarak genetik yatkınlık (irsiyet), stres, kortizon türü ilaçlar, aspirin ve indometazin (İND) gibi NSAİİ (Non steroid antienflamatuvar ilaçlar)' ler, *Helicobacter pylori*, Herpes Simplex virüsü (Tip I / HSV-1) ile sigara ve alkol kullanımınıdır.<sup>1</sup>

Ülseri meydana getiren önemli sebeplerden biri düzenli NSAİİ kullanımınıdır. NSAİİ' lerin ülser yapıcı etkileri, enflamatuvar bozukluklardaki kullanımlarının en büyük dezavantajı olmaya devam etmektedir. NSAİİ' ler tarafından uyarılan gastrik mukozal ülserasyon temel olarak sitoprotektif prostaglandinlerin (PG) eksikliğine bağlanır. Bu PG' lerin eksikliği midede gastrik asitlerin, safra tuzlarının ve etil alkolün tahrip edici etkilerini artırmaktadır.

Aspirin ve İND' nin siklooksijenaz (COX) enzim sistemini inhibe ederek antienflamatuvar aktivite gösterdikleri düşünülmektedir. Aspirin ve İND gibi antienflamatuvar ilaçların COX enzim sistemini bloke etmesi ile PG biyosentezinin baskılanması ve gastrik mukozal bariyerin bozulması sonucu gastrik hasarın oluşumuna neden olur. Daha önceki araştırmalarda COX enziminin engellenmesi sonucunda araşidonik asit (AA) metabolizmasının 5-lipoksijenaz yolunda bir artış meydana geldiği ve bunun da lökotrienlerin ve hidroperoksiieikozatetraenoik asidin oksijeninden türetilen gastrik mukozada tahribata sebep olan radikallerin aşırı üretimi ile sonuçlandığı kaydedilmiştir.<sup>2-6</sup> Daha önce de belirtildiği gibi ülser midedeki koruyucu ve saldırgan faktörlerin etkileşimi sürecindeki düzensizlikten meydana gelmektedir. İND uyarımalı ülser oluşumu temel olarak COX inhibisyonuyla ilişkilidir ve COX

inhibisyonun da PG biyosentezini baskılayarak gastrointestinal hasara karşı bir savunma faktörü olan mukus oluşumunu engellediği rapor edilmiş olmasına rağmen<sup>7-9</sup> İND uyarımlı mide ülserlerinin oluşum mekanizması ayrıntılı olarak henüz tam olarak aydınlanmamış olup bu konuda alternatif sebepler üzerine tartışmalar hala devam etmektedir.

PG biyosentezinin inhibisyonu, lokal kan akışının azalması, topikal tahriş, yeniden yapılanma ve doku onarımının engellenmesi İND uyarımlı mide ülserlerinin sebeplerinden bazılarıdır.<sup>10-14</sup> İND gibi NSAİİ' ler tarafından uyarılan akut gastrik deneysel lezyonlarda oksijenden türevlenen serbest radikallerin de önemli rol oynadığını gösteren çalışmalar yayımlanmıştır.<sup>15-22</sup> Bu çalışmalarda önemli miktarlarda üretilen oksijen metabolitlerinin ise dokuyu dejenere ederek ülsera sebep oldukları bildirilmiştir.<sup>5,6</sup>

Diğer birçok doku hasarı gibi gastrik ülser de süperoksit anyonlarının oluşumuyla ilgilidir. Ayrıca gastrik mukozadaki ülserin tedavisinde antioksidan enzimlerin koruyucu etkilerine ve karşılıklı olarak bu enzimlerin birbirlerini etkilemelerine de dikkat çekilmiştir.<sup>23-39</sup> Canlı dokulardaki hücreler serbest radikallerin hasarlarını önleyebilecek veya tamir edebilecek pek çok savunma mekanizmasına sahiptir. Serbest radikallerin tahribatları, primer olarak süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon s-transferaz (GST), glutatyon redüktaz (GR) ve glutatyon peroksidaz (GPO) gibi enzimler ve sekonder olarak da antioksidan vitaminler, glutatyon (GSH), birçok makro ve mikro moleküller tarafından azaltılır.<sup>40-44</sup> Şayet süperoksit ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidroksil ( $HO^{\cdot}$ ) ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) gibi reaktif maddeler aşırı üretilirse, membran lipitlerinin, proteinlerin, nükleik asitlerin ve ekstraselüler matriks glikozaminoglikanlarının zarar görmesine bağlı olarak doku hasarı prosesi başlayabilir. Gastrik ülser oluşumunu tetikleyen mekanizmalardan birisinin de bu mekanizma



olabileceği pek çok araştırmacı tarafından da işaret edilmiştir.<sup>15-17, 20, 25, 31, 45</sup> Serbest radikalleri etkisizleştiren sekonder moleküllerden biri olan GSH, gastro intestinal dokuları makro molekül içeren lipitlerin oksidatif hasarlarından korumada önemli görev üstlenmiştir.<sup>17, 20, 37, 46-48</sup>

Temel besin maddelerinden olan ve insan beslenmesinde önemli bir yere sahip olan yağlar, insan organizması için gerekli olan ve insanların yaşamsal faaliyetlerinin sürdürülebilmesinde beslenme zinciri içerisinde mutlaka yer alması gereken ana besin maddelerindedir.

Yağlar insan vücudundaki hücre, doku ve organların yapılarında yer aldıklarından, yaşamın sürdürülebilmesi ve vücudun değişik işlevlerini sağlıklı bir şekilde yerine getirebilmesi için, mutlaka alınması gereken besin öğeleridir.<sup>49</sup>

Kimyasal olarak yağ asitlerinin trigliseridleri olarak bilinen yağlar; (3 yağ asidi+Gliserin=Yağ) ;

1) Canlının anatomik yapısının oluşum ve korunmasındaki önemli işlevleri yanında, vücudun estetik görünümünü de olumlu yönde etkilerler.

2) Vücut sıcaklığının ve suyunun korunmasında, izolatör olarak görevleri vardır.

3) Vücuda alınan gereksinim fazlası enerji, gerektiğinde kullanılmak üzere en enerji yoğun olarak yağ formunda depolanmaktadır.

4) Sindirilmeleri diğer besin öğelerine kıyasla daha uzun sürdüğünden, canlılarda daha uzun süreli bir tokluk hissi yaratırlar.

5) Yağda çözünen provitaminler ve vitaminler yanında, seksüel hormonların sentezlendiği steroidler, kimi enzimler, antioksidan etkideki terpen, glikozit ve alkolit

yapısındaki kimi aktif maddeler, kimi metallerle (iyot, mangan, demir, çinko, bakır, fosfor ve kalsiyum) bunların metaloitleri için taşıyıcılık görevi yaparlar.

6) A,D,E,K gibi yağda çözünen vitaminleri içerirler. (Bitkisel yağlar E vitamini ihtiyacının  $\frac{3}{4}$  ünü karşılar)

7) Ayrıca hayvansal organizmada sentezlenemeyen esas yağ asitleri gibi kimi elzem bileşikler için de, yegâne kaynak durumundadırlar.

8) Bilinen besin öğeleri içinde, içerdikleri yağ asitlerinin zincir uzunluğuna bağlı olarak, 9.1-9.7 (ortalama 9.3) kcal/g' lık enerjiye sahip olmaları nedeniyle, yakıldıklarında vücut ısısı için önemli bir enerji kaynağıdır.

9) Ayrıca beslenme açısından, yağlar iştah açıcı bir etkiye de sahiptirler, yemeklere lezzet ve tat kazandırır.

Susam dik büyüyen tek yıllık bir bitkidir. Boyu 30-125cm' ye kadar uzayabilir. Gövdeler uzunlamasına oluklu (karıklıdır) ve sık tüylüdür.<sup>50</sup> Tohumlarında bulunan yüksek miktar ve kalitedeki yağı ile susam (*Sesamum indicum* L.) dünyada kültürü yapılan en eski ve en önemli yağ bitkilerinden birisidir. Susam tohumlarının % 50' den, hatta bazen % 60' tan fazlası yağdır.<sup>51</sup>

Susam yağında (SY) diğer bitkisel yağlardan farklı olarak her birinin oranı yaklaşık % 35- 45 arasında değişen oleik ve linoleik asitler bulunmaktadır.<sup>52</sup> Ayrıca, sesamin (% 0.5-1.5) ve sesamolin (% 0.3-0.5) gibi ikincil maddeler nedeniyle SY oksitlenmeye karşı son derece dirençlidir. Özellikle sesamin kan kolesterol seviyelerini düşürmede çok etkilidir.<sup>53</sup>

SY' nin özelliklerinden birisi de tokoferol içeriğidir. SY' de toplam tokoferol miktarı 294-528 mg/kg arasında değişmektedir.<sup>54</sup> Yağda eriyebilen en güçlü doğal

antioksidanlar olan tokoferoller, hem yağın vitamin E olarak besleme değerini hem de sesamin ve sesamolin gibi antioksidan değerini artırmaktadır. Başlıca 4 farklı tokoferol formu vardır:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ve  $\delta$ . Bunların vitamin değeri sırasıyla 1.00, 0.50, 0.25 ve 0.01, antioksidan aktivitesi ise sırasıyla 1.0, 1.3, 1.8 ve 2.7' dir.<sup>55</sup> Susam tohumunda ayrıca önemli miktarda (% 17-32) protein bulunmakta, bu protein sülfür içeren metionin ve triptofan gibi aminoasitler yönünden yeterli, lizin bakımından fakirdir.<sup>53</sup>

Sayılan tüm bu özellik ve işlevler dikkate alındığında, pek çok otorite ve araştırmacı tarafından özet olarak vurgulandığı gibi, yağların canlı yaşamındaki temel işlevleri, “Yağ tüketimi olmaksızın, insanın yaşamını sürdürmesi olanaksızdır.” şeklinde vurgulanabilir.

Literatürlerde bitkisel yağlar hakkında yapılan antiülserojenik çalışmaların az sayıda olduğu tesbit edilmiştir. Antiülserojenik etki sürecinin mekanizmaları hakkında ise bilgiler oldukça sınırlıdır. Bu açıdan bakıldığında bu çalışma, ülserin önlenmesinde oksidatif süreç üzerinde bir bitkisel yağ olan SY' nin etkili olup olmadığının tespit edilmesi açısından yapılmıştır. Bu araştırmada; sıçanlarda İND ile oluşturulan ülser modeli kullanarak bir bitkisel yağ türü olan susam yağının *invivo* antiülser etkisi ve antioksidan etkisi; (CAT, miyeloperoksidaz (MPx), GR enzimleri ile GSH ve lipid peroksidasyon (LPO) düzeyleri) tespit edilmeye çalışılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Bitkisel Yağlar

Eski çağlardan bu yana tıbbi ve aromatik bitkilere karşı büyük ilgi duyulmuş ve bu bitkilerin yaydığı kokuları, verdiği tatları sağlayıp muhafaza edebilme işi yoğun uğraşlara konu olmuştur. Tarihin akışı içerisinde her dönemde önemini koruyan ilaç ve baharat bitkilerinin ilk kullanımlarına Mısır, İran, Çin ve Hindistan’ da rastlanmış, Avrupa’ nın bu ürünlerle tanışması daha geç olmuştur. Kutsal kitapların birçoğunda bahsi geçen hoş kokulu bitkiler o dönemlerde genellikle dini törenlerde yaygın olarak kullanılmıştır.<sup>56</sup> Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de çeşitli bitkiler yıllardan beri halk arasında çay, baharat ve tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır.<sup>57</sup>

Tıbbi bitkilerin tanımını tam olarak yapmak mümkün değildir. Günümüzde “tıbbi” ve “aromatik” bitkiler terimi genellikle birlikte kullanılmaktadır. Tıbbi ve aromatik bitkiler, hastalıkları önlemek, sağlığı sürdürmek veya hastalıkları iyileştirmek için ilaç olarak kullanılan bitkilerdir. Tıbbi bitkiler, beslenme, kozmetik, vücut bakımı, tütsü veya dini törenler gibi alanlarda yer alırken, aromatik bitkiler ise, güzel koku ve tat vermeleri için kullanılmaktadır. Aromatik bitkilerin gıda, kozmetik ve parfümeri sektöründe de geniş kullanım alanı bulunmaktadır. Tıbbi ve aromatik bitkiler denildiğinde hem bitkiler, hem etken madde yönünden ve hem de tüketim alanları bakımından çok büyük bir alanı kapsamaktadır. Bu bakımdan bugün standart hale gelmiş bir gruplandırılması bulunmamakla birlikte, genellikle familyalarına, içerdikleri etken maddelere, tüketim ve kullanımlarına, yararlanılan organlarına ve farmakolojik etkilerine göre gruplandırılabilirler. Ancak, en yaygın olarak kullanılan etken maddelerine göre yapılan gruplandırma yapılmamıştır.<sup>58</sup>

20. yüzyılda tıbbi ve aromatik bitkilerin üretim ve kullanımındaki gelişmeler incelendiğinde, yüzyılın başlarında teknolojinin getirdiği yenilikler, sosyal ve politik

değişimler, bitkilerin ilaç olarak kullanımının hızla azalmasına neden olmuştur. 1930' lu yıllarda sulfa ilaçlarının ve 1940' lı yıllarda organik kimyasalların sentezi, tıbbi bitkilere ilave olarak sentetik ilaçların üretimini teşvik etmiştir. Dünya Savaşı' nı izleyen ekonomik ve sosyal değişiklikler ile bitkiler ve tedavilerle ilgili yeni tanımlamalar, sentetik kimyasal ilaçların elde edilmesi sonucu endüstriyel ilerlemelerle modernleşen batı ülkelerinde, 1970' li yılların sonuna kadar bitki ekstraktları ile bitkilerin kullanımında azalmaya neden olmuştur. Son yıllarda ülkemizde de tıbbi ve aromatik bitkilerin ve bunlardan elde edilen ürünlerin kullanımında büyük bir artış dikkati çekmektedir. Gelecek yıllarda sürekli artan talebi karşılamak, daha kaliteli standart bir ürün elde etmek için tıbbi ve aromatik bitki üretiminin, bunlardan elde edilen bitki ekstraktlarının ve bu ürünleri işleyen sanayi kollarının büyümesi ve artması beklenmelidir. Türkiye' nin iklim ve ekolojik özelliklerinden dolayı birçok tıbbi ve aromatik bitki yetiştirilebilmekte veya dünyanın birçok yerinde olduğu gibi doğadan toplanmaktadır.<sup>58</sup>

## **2.2. Uçucu Yağlar**

Uçucu yağlar damıtma veya preslemeyle, bitkilerin yaprak, meyve, kabuk ve kök kısımlarından elde edilen kompleks karışımlardır. Esansiyel yağlar adı da verilen uçucu yağlar, oda sıcaklığında sıvı, kolaylıkla kristalleşebilen, genellikle renksiz veya açık sarı renkli, uçucu, kuvvetli kokulu, doğal bir üründür. Su ile karışmadıkları için yağ olarak tanımlansalar da yağlardan farklıdırlar. Yapılarında bulunan bileşiklerin çoğu terpenoitler (isoprenoitler), çoğunlukla monoterpenler ve sesquiterpenlerdir. Bunun yanı sıra diterpenleri, düşük molekül ağırlıklı alifatik hidrokarbonları, asitleri, alkollerini, aldehitleri, asiklik esterleri veya laktonları, istisna olarak azot ve sülfür içeren bileşikleri, kumarinleri ve fenilpropanoidlerin homologlarını da içerirler. Uçucu yağların bileşim ve miktarları; bitkinin cinsine, bitkinin hangi kısmından elde

edildiğine, üretim şekline, iklime ve yetiştirildiği bölgenin coğrafik yapısına bağlı olarak değişmektedir. Uçucu yağlar spazm çözücü, antiseptik ve antimikrobiyel özellikler göstermektedir. Uçucu yağların antibiyotik ve antiseptik özellikleri bakteriler, küf mantarları ve mayalara karşı olabilmektedir. En antiseptik yağlar, geyik otu, tarçın, kekik, karanfil, lavanta ve okaliptüs yağlarıdır. Kekik yağında bulunan bir bileşik olan timol, fenolden 20 kat daha antiseptiktir. Limonen ve  $\alpha$ -pinen antibakteriyel ve antifungal etki göstermektedir. Antimikrobiyel aktivitenin muhtemel mekanizması, lipofilik bileşiklerce hücre zarının bozulması, hidroksil grubun girişiyle lipofilikliğin azalması olarak düşünülmektedir.<sup>59</sup>

### **2.3. Esansiyel Yağlar ve Genel Özellikleri**

Esansiyel yağlar; bitkilerin yaprak, çiçek, kabuk, tohum ve köklerinden, su buharı distilasyonu veya ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen, oda sıcaklığında genellikle sıvı formda olan, kolayca kristalleşebilme özelliğine sahip, çoğunlukla renksiz veya açık sarı renkli bileşimlerdir. Bunlar aynı zamanda bulunduğu bitkiye karakteristik özellik sağlayıp bitkiye ait koku, yakıcı lezzeti veren, çok sayıda kimyasal bileşenden oluşan, ve su ile sürüklenme özelliğine sahip yağimsı karışımlardır. En belirgin özellikleri ise uçucu ve kokulu olmalarıdır. Esansiyel yağlar halk arasında; uçan yağ, eterik yağ, eteri yağ, kokulu yağ, esans yağı, uçucu yağ veya ruh gibi farklı isimlerle anılmaktadır. Esas olarak terpenlerden oluşan suda çözünmeyen, fakat organik çözücülerde kolaylıkla çözünen karışımlardır. Özellikle çiçek ve meyvelerde daha fazla bulunurlar. Antiseptik, antioksidan, sindirim uyarıcı, antimikrobiyal ve enzimatik etkileri bilinen en önemli fonksiyonlarıdır. Bileşiminde; genellikle hidrokarbonlar ile azotlu türevleri, monoterpenler, seskiterpenler ve diterpenler bulunur. Ayrıca fenil propanoitler, yağ asitleri ve esterlerine de uçucu yağlarda rastlanabilir. İlaç ve kozmetik sanayiinde yaygın olarak kullanılırlar. Alternatif bitkisel tedavilerin ana etken

maddelerindedir. Modern teknolojilerle, basınç altında fraksiyonel damıtmaya tabi tutulduklarında, herbir cins uçucu yağdan yaklaşık 20 cins kokusu, rengi, molekül dizini ve kullanım özellikleri ayrı uçucu maddeler elde edilmektedir. Bunlar pahalı bitki özleridirler. Metabolik dönüşümleri ve vücuttan ekstrakte edilmelerinin hızlı olması nedeniyle, esansiyel yağların vücut dokularında birikimleri mümkün görülmemektedir. Sürekli tüketilmeleri halinde hayvanların vücut dokularında birikimleri söz konusu olsa bile bunun doza bağımlı olacağı bildirilmiştir.<sup>60</sup>

#### **2.4. Esansiyel Yağların Etkileri ve Kullanım Alanları**

Birçok aromatik bitki; tohum, meyve, yaprak yada köklerinde bulunan aktif kimyasal bileşikler nedeniyle, farklı etki şekillerinden dolayı, çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Bu bitkilerin hayvan besleme bilimi açısından iştah açıcı ve sindirimi stimüle edici özellikleri yanında antiseptik etkileri de büyük önem taşımaktadır. Etken maddelerine göre etkileri değişmekle birlikte pek çok esansiyel yağ; antimikrobiyal, karminatif, koloretik, sedatif, diüretik, antispazmodik etkilere sahiptir. Tüm uçucu yağlar immünglobulin G (IgG) ve immünglobulin I (IgA) üretimini artırmak suretiyle, bağışıklık sistemini kuvvetlendirmektedir.<sup>60</sup>

#### **2.5. Susam Yağı (SY)**

Susam (*Sesamum indicum linn*) dünyada yaklaşık 4000 yıldır tarımı yapılan en eski yağ bitkilerinden birisidir.<sup>61</sup> Günümüzde özellikle Hindistan, Çin, Afganistan, Pakistan, Bangladeş, Endonezya ve Sri Lanka gibi Asya ülkelerinde üretilmektedir. Dünyada üretilen yağlı tohumlar içerisinde 8. sırada yer alır. Susam Türkiye’ de ekimi yapılan yağlı tohumlar içerisinde 5. sırada yer almaktadır. Susam geniş oranda bitkisel yağ için (% 77.6) değerlendirilmekte, diğer kısmı pastacılıkta (% 20.1) ve tohumluk olarak (% 2.3 ) tüketilmektedir.<sup>62</sup> Önemli bir yağlı tohum olmasının yanında içerdiği

antioksidan bileşiklerden dolayı ilaç ve kozmetik sanayinde de geniş bir kullanım alanı bulmuştur. SY yemeklik bir yağ olmasına karşın kullanımı ekonomik olmadığı için ülkemizde bitkisel yağ olarak kullanımını sınırlı kalmıştır. Susam tohumu ise ülkemizde daha çok tahin ve tahin helvası üretiminde ham maddeyi oluşturur, ayrıca baharat olarak ve pastacılık ürünlerinde de kullanılmaktadır.

Susam çeşitlerinin beyaz, sarı, kahverengi ve siyah olmak üzere 4 farklı rengi vardır.<sup>63</sup> Çeşitler yüksek oranda yağ, protein ve esansiyel aminoasitleri içerir. Susam tohumu özellikle lizin, metionin ve sistein aminoasitlerince zengindir. Susam tohumu % 40 – 60 oranında yağ içermektedir. Susam yağında en çok bulunan yağ asitleri sırasıyla; % 35.9 – 42.3 oleik asit , % 41.5 – 47.9 linoleik asit, % 7.9 – 10.2 palmitik asit, % 4.8 – 6.1 stearik asit ve düşük oranda (% 0.3 – 0.4) linolenik asit ile araşidik (% 0.3 – 0.6) asitlerdir.<sup>64</sup>

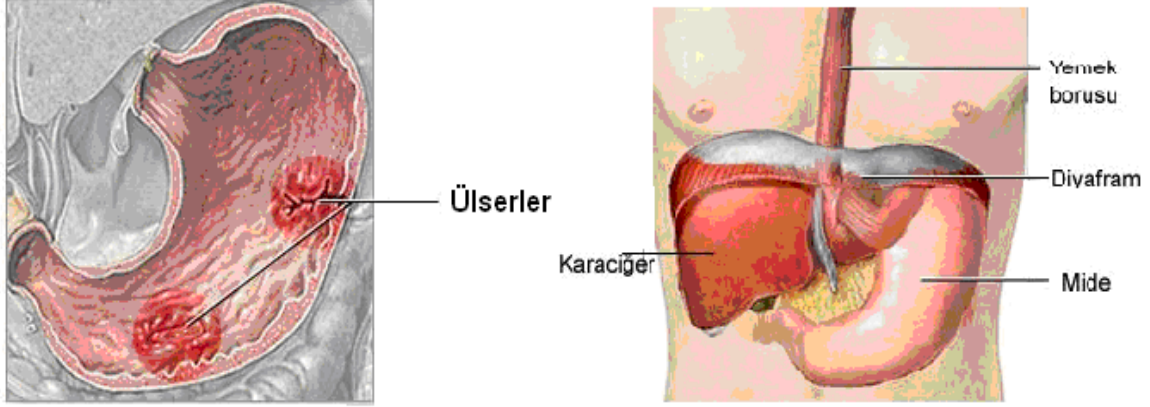
SY' nin en önemli karakteristiği oksidatif bozulmaya karşı direnç göstermesidir. SY' nin yüksek stabilitesi; bileşiminde bulunan sesamol, sesaminol gibi sadece bu yağa özgü kuvvetli antioksidan etki gösteren bileşiklerden ve bunların dışında diğer yemeklik yağlarda da bulunan tokoferoller, bazı hidrokarbonlar ve bazı sterollerin antioksidan etkilerinden kaynaklanmaktadır.<sup>65</sup> Susam lignanları ve tokoferoller SY' de bulunan en önemli antioksidan bileşiklerdir. SY' de bulunan lignanlar tokoferollerle birlikte sinerjik etki göstererek yağın stabilitesini arttırlar. Tokoferoller ile sentetik ve doğal diğer antioksidanlar olağan sıcaklıklarda,  $\Delta^{24,28}$  etilidin steroller ise yüksek sıcaklıklarda uzun süre ısıtmada antipolimerizasyon etki göstererek yağı oksidasyona karşı korurlar. Bu etkiden etilidin yan zinciri ( $\Delta^{24,28}$ ) sorumludur. SY' de bu yönde etki gösteren steroller;  $\Delta^5$  ve  $\Delta^7$ - avenasteroller ve sitrostadienol' dür.<sup>66</sup> Susam tohumunda bulunan lignanların miktarı; türe ve işlem basamaklarına göre değişiklik gösterir.



## 2.6. Mide Ülseri

Mide diyaframın (göğüsle karın boşluğunu birbirinden ayıran kas bölme) altında, epigastrik (mide hizasındaki karın duvarına ait), umbilikal (göbeğe ait) ve sol hipokondriak (lokma altı) bölgede yer alan sindirim sisteminin en geniş bölümüdür (Şekil 2.1). Midenin belirli bir şekli yoktur. Ancak içerisi orta derecede dolu olan ve iki ucundan tutulmuş sarkık bir torbaya benzetilebilir. Midenin iç hacmi yaşa göre değişir. Yeni doğanda 30 cm<sup>3</sup>, pubertede 1000 cm<sup>3</sup> ve erişkinde 1500 cm<sup>3</sup> kadardır.<sup>67</sup>

Mide fizyolojik olarak, besinlerin sindiriminde önemli rol oynayan ve sindirim enzimleri, hormonlar, hidroklorik asit, B<sub>12</sub> vitamininin ince bağırsağın son kısmından emilmesi için varlığı şart olan intrensik faktör gibi salgıları yapan, hem ekzokrin (salgılarını kanallar aracılığıyla vücut boşluklarına veya dışarı salan bez sistemleri) hem de endokrin (salgılarını bir kanal sistemi olmaksızın doğrudan kan akımına veren bez sistemi) bir organdır. Anatomik olarak beş kısımda incelenmesine rağmen histolojik olarak kardial, fundus, korpus ve pilor olmak üzere dört kısımda incelenir. Bununla birlikte fundus ve korpus mikroskobik yapı olarak aynı olduğundan histolojik olarak sadece üç bölge ayırt edilebilir. Mide histolojik olarak içten dışa doğru tunika mukoza, tunika submukoza, tunika muskularis ve tunika seroza olmak üzere 4 tabakadan meydana gelir.<sup>68</sup>



**Şekil 2.1.** Midenin yerleşimi ve ülserli midenin görünümü

**Kardia bölümü:** Midenin en proksimali (bir organizmanın orta eksenine ya da organizmanın herhangi bir parçasının bir bağlantı noktasına göre yakın olan bölgesi) olan 2–3 cm genişliğindeki bölümüdür.

**Fundus bölümü:** Midenin kardia düzeyinin üzerinde kalan kubbe şeklindeki bölümüdür.

**Korpus bölümü:** Midenin orta bölümü olup fundus ile antrum arasındaki yerdir.

**Antrum ve pilor:** Midenin korpustan sonraki antrum ve pilorik kanalın olduğu bölümdür. Pilor kanalının sonunda bulunan pilorik sfinkter, mide içeriğinin duodenuma geçişini kontrol eder.

Midenin üç temel fonksiyonu vardır:

**Depolama:** Besin maddeleri sindirilmek üzere geçici bir süre depolanır. Yeni doğanda 30 mL hacme sahip iken, yetişkinde normal şartlardaki hacmi 1–1.5 litredir. Gerekliğinde 2–3 litre besin depolayabilir.

Alınan besinleri mide salgısı ile karıştırarak yarı sıvı, yarı katı şeklindeki kimüs haline getirir.

Kimüsün ince bağırsaklara geçişini kontrol eder.

Midede sindirim ve kimüs oluşumu, mide salgısı ile sağlanır. 24 saatte 2–3 litre mide özsuyu salgılanır. Bu salgı içinde pepsin, hidroklorik asit, intrinsik faktör, mukus ve su bulunur. Mide cerrahi anatomi açısından, proksimal (organın gövdeye bağlanma noktasına yakın kısmı) mide cerrahi bölümü ve distal (organizmada ya da bir yapının bağlanma yerinden uzakta olan herhangi bir bölgesi) mide cerrahi bölümü olarak iki ana bölümden oluşur.

Midenin ön duvarı ve arka duvarı uzun eksen boyunca sağ ve solda birer eğrilikle birleşmişlerdir. Sağ taraftaki konkav eğriliğe kurvatura minör, sol taraftaki konveks eğriliğe kurvatura majör denir. Midenin küçük kurvaturu kardial ile pilor arasında ve diyaframın sağ krusunun çapraz yapan lifleri önünde uzanır. Büyük kurvatur üstte gastrointestinal ligaman, altta omentum majus ile bağlantılıdır. Omentum majusun iki yaprağı arasında sağ ve sol gastroepiploik damarlar bulunur.<sup>69, 70</sup> Torba şeklinde olduğundan şekli; doluluk derecesine, kasının kasılma durumuna (tonus), solucanvari hareketlerine, vücut yapısına, ayakta ya da yatar vaziyette oluşuna, komşu organların durumuna göre değişir. Mide boş iken yukarıya ve aşağıya, dolu iken arkaya ve öne bakar. Bu nedenle yüzlere anterosuperior ve anteroinferior yüzler denir.<sup>69, 70</sup>

Mide direkt olarak dış ortamla ilişkisi olan birkaç organdan biridir. Dışardan oral olarak aldığımız tüm besin ve kimyasal maddelerin ilk temas ettiği organ midedir. Bu nedenle gastrointestinal sistemin (GİS) en önemli organlarından olan midede birçok koruma mekanizması bulunmakla beraber birçok fizyopatolojik olayın da gelişmesi olasıdır. Ayrıca GİS direkt olarak otonom sistemle kontrol edildiği için sinirsel veya emosyonel tüm değişiklikler öncelikle mideyi etkileyecektir. Tüm bu nedenlerden dolayı mideyi etkileyen birçok sistemik hastalık bulunmakla beraber en sık karşımıza

mide ülseri çıkmaktadır. Mide ve duodenumu etkileyen patolojilerin etyolojisi farklı olmakla beraber sonuç olarak enflamasyon meydana gelmekte ve bunun sonucunda ise peptik ülser oluşmaktadır.<sup>69, 70</sup>

Peptik ülser; mide mukozasının ileri derece enflamasyonu anlamına gelir. Mide ve duodenumun multifaktöriyel-kronik enflamatuvar hastalığıdır; GİS' in sistemin herhangi bir yerinde asit-pepsinle temas etmiş bir mukoza deliği olarak da tanımlanmaktadır. Özellikle erişkinlerin ileri yaşlarında yaygın olmak üzere tüm toplumda hafif ve orta şiddette ülser oldukça sık olarak görülmektedir. Gastritte enflamasyon yüzeysel olduğundan çok zararlı değildir. Hâlbuki peptik ülser, mukozanın, mide sıvısının sindirim işlevi sonucu ortadan kaldırılmış alanıdır ve yüzeysel olmayıp daha derinlere inmektedir.<sup>69</sup> Gastrointestinal ülserasyonda enflamatuvar cevap genellikle yıkıcıdır. Çünkü hepsi doku nekrozu ve gastrik ülserasyon patogeneziye yol açan lipit türevli eikosanoidlerin yanı sıra lokal enflamasyon araçlarının salınımıyla birlikte görülür. Çalışmalar parental lökotrien uygulamasının gastrik vazokonstriksiyon, vasküler permeabilitede artış, gastrik mukozada yıkım, asit ve pepsin sekresyonunda artış meydana getirdiğini göstermiştir.<sup>3</sup>

Eğer vasküler hasar varsa, süperfisyal mukozal kapiller kan akımı yavaşlar ve dolaşımdan plazma sızar. Bu durum mukozal kan damarlarında dolaşımın tamamen durması sonucu konjesyonu hızlandırır. Nekrotik yüzey epitelinin dökülmesi ile oluşan erozyon, hipoksik ortamda genişler ve böylece hemorajik derin erozyon ve ülser meydana gelir. Şayet vasküler hasar minimal derecede ise veya yoksa kan akımı devam eder ve süperfisyal mukozal hücre hasarına rağmen gastrik pitdeki proliferatif zon çabucak hasarı karşılar ve hücre proliferasyonu gelişir. Eğer vasküler hasar yoksa veya az ise süperfisyal epitelin % 95' i etanolle yıkıldığı halde hasardan 15–60 dakika sonra derindeki kübik hücreler yüzeyi kaplar. Vasküler hasar ve derin hemorajik erozyon veya

ülserlerin yokluğunda, gastrik mukozanın epitelyal yenilenmesi son derece hızlı ve yeterlidir. Başka bir deyişle eğer vasküler hasarı farmakolojik olarak dikkate alırsak, gastrik mukozal epitel doğal ve yeterli tamir kapasitesinden dolayı kendi kendine iyileşir.<sup>71,72</sup>

Belirtildiği üzere gastrik hasarın midedeki savunma ve yıkıcı faktörlerin etkileşim sürecindeki düzensizlikten ileri geldiği iyi bilinmektedir. Gastrik hasar; mide ve duodenumda mukus, bikarbonat, PG sentezi gibi mukozal koruma mekanizmaları ile mukozaya zarar verebilen asit-pepsin arasındaki dengenin bozulması ile ortaya çıkar. Asit sekresyonu ve koruyucu mukoza bariyerindeki bozukluklara ilave olarak genetik yatkınlık (irsiyet), stres, travma, sepsis, hemorajik şok, yanıklar, pulmoner ve karaciğer hastalıkları, rezerpin, epinefrin, steroidler, sigara kullanımı, alkol, aspirin ve İND gibi NSAİİ' ler, *Helicobacter pylori* ve Herpes simplex virüsü (Tip I/HSV-1) hastalığı meydana getiren faktörlerdir. Hastaların yaklaşık % 60-80' ninde etyolojik faktör bilinmemekle beraber hastalık gelişimindeki fizyopatoloji birbirlerine benzerdir.<sup>1, 2, 5, 6, 73</sup> Bunun yanı sıra, insanlarda kronik ülserlerin % 75-85' i *Helicobacter pylori* enfeksiyonu gösterilmiş olup, bu bakteri polimorfonükleer lökositlerin oksidatif baskısına yol açar. Bunun sonucunda önemli miktarda oksijen metabolitleri üretilir ve bu metabolitler ise dokuyu dejenere ederek ülsera sebep olur.<sup>5,6</sup>

Hayvanlarla yapılan araştırmalarda, ülser hastalığının sadece insanlarda değil aynı zamanda rat, kedi, köpek, sığır, domuz, kuzu ve tavuklarda da görüldüğünü göstermiştir. Ülser hayvanlar arasında en yaygın olarak kedi, köpek gibi evcil hayvanlarda görülmektedir. Kedi ve köpeklerde gastrik 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. Ayrıca tavuk ve domuzlarda da çevresel stres ve beslenme faktörlerinin gastrik hasara

neden olduğu bildirilmiştir. Diğer yandan sığırlarda iklim, yaş ve sütün kesimin gastrik hasar oluşmasını etkilediği aynı zamanda beslenmenin, parazitik faktörlerin, savunma ve saldırgan faktörlerdeki değişikliklerin gastrik hasar oluşumu ile paralellik gösterdiği görölmektedir.<sup>74-76</sup>

NSAİİ' ler günümüzde özellikle romatizmalı hastalıklarda sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak bu ilaçlara bağlı olarak özofagus, mide, duodenum ve böbreklerde önemli yan etkiler görölmektedir.<sup>77</sup> Endoskopik taramalarda NSAİİ kullanan bireylerin % 35-60' ında midede erozyonlar ve submukozal kanamalar ile % 10-25' inde mide ve duodenumda ülserler görölmektedir. Özellikle yaşlılarda bu oranlarda ve komplikasyon riskinde daha fazla artış olmaktadır.<sup>77, 78</sup> Ayrıca NSAİİ kullananların yaklaşık % 10' nunda ölüm bildirilmiştir. NSAİİ bağlı gelişen gastroduodenal lezyonlar akut olarak 1-2 hafta içinde, kronik olarak ise dört hafta ve sonrasında gelişir.<sup>77</sup>

Daha öncede belirtildiği üzere ülseri meydana getiren önemli sebeplerden biri de NSAİİ kullanımınıdır. NSAİİ kullanımını gelişen toplumlarda kullanım sıklığı oldukça artan ilaç gruplarından biridir. Ayrıca sosyoekonomik şartların daha iyiye gitmesi sonucu artan ortalama insan ömrü nüfustaki yaşlı oranını artırmış olup kronik hastalıklara bağlı NSAİİ kullanımını artıran bir başka neden haline gelmiştir. NSAİİ' lerin ülser yapıcı etkileri, enflamatuvar bozukluklardaki kullanımlarının en büyük dezavantajı olmaya devam etmektedir. NSAİİ' ler tarafından uyarılan gastrik hasarların oluşum mekanizması ayrıntılı olarak aydınlatılmıştır. Bunlar arasında PG biyosentezinin inhibisyonu, lokal kan akışında bir azalmanın olması, topikal tahriş, yeniden yapılanma ve doku onarımının engellenmesi sayılabilir.<sup>9, 12, 14</sup>

Aspirin ve İND' nin COX enzim sistemini inhibe ederek antienflamatuvar aktivite gösterdikleri düşünülmektedir. 1990' lara kadar vücutta tek tip COX olduğu zannedilirken daha sonra COX enziminin COX-1 (yapısal) ve COX-2 (indüklenebilir) olmak üzere iki izozimi olduğu anlaşılmıştır. Bu iki izozimin genetik kodlamaları da farklıdır.<sup>79-82</sup> Vücutta predominant olan tip COX-1 olup, fizyolojik uyarılarla aktive olan formdur. COX-1 damar endoteli, mide mukozası, böbrek, kalp ve trombositlerde bulunur. COX-2 ise enflamatuvar uyarılarla aktive olan formdur. Makrofajlarda ve diğer enflamatuvar hücrelerde bulunur ve iltihap etkenleri ile indüklenebilir.<sup>83</sup> NSAİİ' lerin gastrik yan etkilerinden COX-1 inhibisyonu, antienflamatuvar etkilerinden ise daha çok COX-2 inhibisyonu sorumludur.<sup>84</sup> Aspirin ve İND, COX-1' e olan selektiviteleri COX-2' ye göre nispeten daha yüksektir. Hâlbuki flurbiprofen COX-2' yi COX-1' e göre daha fazla inhibe eder. COX-2 etkileri COX-1 e göre daha fazla olan NSAİİ' lerden meloksikam, tenoksikam ve nabumeton halen tıbbi kullanımı yaygın olan ilaçlardır.<sup>71, 82</sup>

Aspirin ve İND gibi antienflamatuvar ilaçların COX enzim sistemini bloke etmesi ise PG biyosentezinin baskılanması ve gastrik mukozal bariyerin bozulması sonucu gastrik hasarın oluşumuna neden olur.

Daha önceki araştırmalarda COX enziminin inhibisyonu sonucunda AA metabolizmasının 5-lipoksijenaz yolunda bir artış meydana geldiği ve bunun da lökotrienlerin ve hidroperoksieikosatetraenoik asidin oksijeninden türevlenen gastrik mukozada tahribata sebep olan radikallerin aşırı üretimi ile sonuçlandığı kaydedilmiştir.<sup>2, 3</sup>

Oksijen radikallerinin stres, etanol ya da NSAİİ' lerle oluşturulan akut deneysel gastrik lezyonların patogenezindeki rolü de çok iyi bilinmektedir.<sup>15, 22, 23</sup> Bununla

beraber gastrik bikarbonat ve mukus sekresyonunun azalması İND' nin hasarlayıcı etkisine yardım eder.<sup>85</sup> NSAİİ' lerin gastrik hasar oluşturmadaki temel mekanizmaların başında reaktif oksijen türlerinin artırması ve PG miktarını düşürmesi gelmektedir. Bu reaktif serbest radikallerin miktarındaki artış ve buna paralel olarak PG' lerin eksikliği midede gastrik asitlerin, safra tuzlarının ve etanolün tahrip edici etkilerini artırmaktadır. Reaktif oksijen radikallerinin gastrik ve duodenal mukozaya verdiği tahrip edici ülseratif etkileri (kanamalarda dâhil olmak üzere), hayvanlardan insanlara kadar geniş bir yelpazede araştırılmıştır.<sup>5, 86, 87</sup>

İND gibi NSAİİ' ler kullanılarak oluşturulan deneysel akut gastrik lezyonlarda oksijenden türevli serbest radikaller ve LPO' nun önemli rollerinin olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Ayrıca bu çalışmalarda lipit peroksit ve hidrojen peroksitin gastrik mukozal hücrelerde birikiminin hızlanmasına rağmen GPO aktivitesinin azaldığı görülmektedir. Hidroksil, süperoksit, hidrojen peroksit, nitrik oksit, peroksinitrit gibi radikallerin çeşitli reaksiyonlarla dokularda oluşturduğu hasarların yanısıra gastrik hasar oluşumunda da birçok reaksiyonu yönlendirdikleri görülmektedir. Bu yüzden gastrik mukozadaki ülser formasyonunun giderilmesinde antioksidan enzimlerin koruyucu fonksiyonlarının olduğu düşünülmektedir.<sup>15-19, 30, 76, 88, 89</sup>

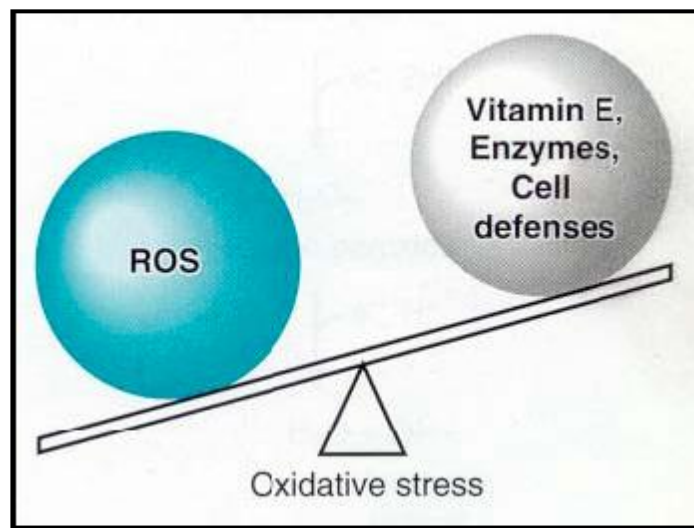
Hücreler reaktif oksijen türlerinin zararlı etkilerini önleyebilecek veya oluşan zararlı etkileri tamir edebilecek birçok mekanizmaya sahiptir. Reaktif oksijen türlerinin tahribatları, primer olarak enzimler ve sekonder olarak da antioksidan vitaminler, GSH ve melatonin gibi birçok makro ve mikro moleküller tarafından azaltılarak serbest radikallerin hücrelerde düşük ve belirli konsantrasyonlarda tutulmaları sağlanır.<sup>90, 91</sup> Şayet süperoksit ( $O_2^-$ ), hidroksil ( $HO^\cdot$ ) ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) gibi reaktif oksijen türleri aşırı üretilirse, membran lipitlerinin, proteinlerin, nükleik asitlerin ve ekstraselüler matriks glikozaminoglikanlarının zarar görmesine bağlı olarak doku hasarı



prosesi başlayabilir. Gastrik hasar oluşumunu tetikleyen mekanizmalardan birisinin de bu mekanizma olabileceği pek çok araştırmacı tarafında öne sürülmüştür.<sup>15-17, 20, 31, 37</sup> Serbest radikalleri etkisizleştiren sekonder moleküllerden GSH ise, gastrointestinal doku lipitlerini oksidatif hasardan korumada önemli görev üstlenmiştir.<sup>34-36, 45, 47, 48, 90-92</sup> Bu gün bilinen pek çok etken madde ve bitki ekstraktlarının İND ile uyarılan gastrik hasar üzerine pozitif etkileri gösterilmiştir.<sup>93-97</sup>

## 2.7. Antioksidanlar

Serbest radikallere karşı (antioksidan savunma sistemleri, antioksidanlar) reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinirler. Organizmalarda ROS' ların üretimi ve yıkılması arasında sürekli bir denge vardır. Bu dengenin ROS' ların lehine kayması oksidatif stresi artırırken (Şekil 2.2) organizmalar pek çok hastalığın ortaya çıkmasına elverişli hale gelmiş sayılır.<sup>98</sup> Bu yüzden öncelikle serbest radikalleri iyi tanımak gereklidir.



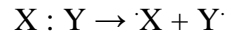
**Şekil 2.2.** Reaktif oksijen radikallerinin (Reactive oxygen species; ROS) ile vücut savunmaları arasındaki denge

### 2.7.1. Serbest Radikaller

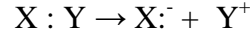
Serbest radikaller orbitallerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron ihtiva eden atom veya moleküllerdir. Serbest radikaller için birçok tanım yapılmasına rağmen otoritelerin üzerinde birleştiği tanım; bir serbest radikalın moleküler ya da atomik yörüngesinde bulunan ve genelde çok reaktif olan çiftleşmemiş elektron bulunduran bir kimyasal ürün olduğu şeklindedir.<sup>99</sup>

Elektronlar atomlar içerisinde orbital olarak bilinen uzay bölgelerinde en fazla iki tane olacak şekilde ve birbirlerine zıt konumda bulunmaktadır. Demir, bakır, mangan gibi geçiş metalleri yörüngelerinde birer elektron taşımalarına rağmen radikal karakter göstermezken bazı atom kombinasyonları (nitrit dioksit, nitrik oksit) bir orbitalinde tek elektron bulunduran dağılımları nedeni ile radikal özellik gösterirler. Serbest radikal kabul edilen atom ve moleküller elektron dizilişlerinin yanında termodinamik yapıları ve lokal kinetik reaktiviteleri ile de değerlendirilmelidir. Serbest radikaller üç yolla meydana gelir.<sup>100</sup>

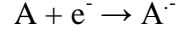
1) Hemolitik bağ ayrılması ve bir elektronun bir molekülden diğerine transfer edilmesi sonucu oluşan serbest radikallerdir. En yaygın görülen serbest radikal oluşumu hemolitik bağ ayrılmasıdır.



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



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

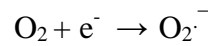


Biyolojik sistemlerdeki en büyük radikal kaynağı oksijendir. Çünkü oksijen atomu orbitallerinde iki eşleşmemiş elektrona sahiptir. Oksijenin bu özelliği onun diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesini sağlarken, radikal olmayan maddelerle ise daha yavaş reaksiyona girmesini sağlamaktadır. Oksijen atomu orbitallerindeki elektronların farklı dizilimi ile de süperoksit, peroksit ve singlet oksijen gibi radikallerin oluşumuna da neden olur. Ayrıca serbest oksijen radikali oluşumunun anahtar maddeleri arasında oksijenin kendisi, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metal iyonları ve hidroksil radikalleri de yer almaktadır. Oksijenli (aerobik) solunum yapan canlılar dışardan aldıkları besin maddelerini oksijeni kullanarak enerjiye çevirirler. Dolayısıyla aerobik solunum yapan canlılar serbest radikallerin en fazla olduğu canlı grubudur. Bu yüzden aerobik solunum yapan canlılar serbest radikallerin etkilerine daha fazla maruz kalırlar.<sup>101</sup>

### **2.7.2. Serbest radikal çeşitleri:**

#### **Süperoksit radikali (O<sub>2</sub><sup>-</sup>):**

Oksijen molekülünün içerdiği iki serbest elektrondan bir tanesini dışarıdan bir elektron alarak indirgenmesi sonucu süperoksit radikali oluşur.



Süperoksit radikali ( $O_2^{\cdot-}$ ) hemen hemen bütün aerobik hücrelerde bulunmaktadır. Süperoksit radikalının eozinofil, monosit, makrofaj ve nötrofil gibi fagositik hücreler tarafından üretilerek radikal oluşunu artırdığı bilinmektedir.<sup>101</sup>

Süperoksit radikali nadir olarak oksidatif hasara neden olur. Çünkü SOD ile hızlı bir şekilde hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) çevrilir. Buna ilaveten asidik durumlarda hidrojen peroksit ve peroksil ( $HO_2^{\cdot}$ ) radikallerini üreten spontan reaksiyona da uğrayabilir. Süperoksit radikallerinin asıl zararları hidrojen peroksit kaynağı ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmalarıdır.<sup>102</sup>

İki süperoksit radikalının bir araya gelmesi sonucu hidrojen peroksit oluşur.



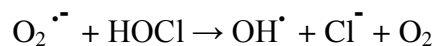
Süperoksit radikali ve peroksil radikali birbirleriyle reaksiyona girince biri okside olurken diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonu sonucu da hidrojen peroksit ve oksijen oluşur.



Süperoksit radikalının nitrik oksit radikali ile birer eşleşmemiş elektronlarını kovalent bağ ile bağlamaları sonucu peroksinitrit meydana gelir.<sup>103</sup>

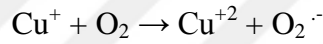
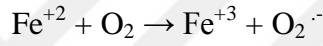


Hipoklorik asit (HOCl) oksijen metabolitleri ile reaksiyona girme özelliğine sahip olması nedeniyle ilgi uyandırmıştır. Hipoklorik asitin süperoksit radikali ile reaksiyona girmesi sonucunda oldukça güçlü oksidan olan hidroksil ( $OH^{\cdot}$ ) radikalının oluştuğu görülmüştür<sup>104</sup>



Süperoksit anyonu hem indirgeyici hem yükseltgeyici özelliğe sahiptir. Adrenalin, dopamin, askorbat ve hidroksilamini oksitler nitrobluetetrazolium ve sitokrom c' yi indirger. Redüktan olarak görev yaptığında ferrisitokrom c' nin redüksiyonunda bir elektron kaybeder ve oksijene okside olur. Oksidan olarak görev yaptığında ise epinefrinin oksidasyonunda bir elektron alır ve hidrojen peroksite indirgenir.<sup>105</sup>

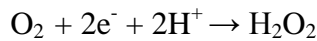
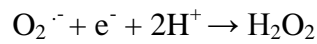
Diğer taraftan geçiş metallerinin otooksidasyonu sonucunda da süperoksit radikali oluşabilmektedir.



Bu reaksiyonlar geri dönüşümlü redoks reaksiyonları olup serbest radikal reaksiyonlarının hızlanmasında çok büyük öneme sahiptir.<sup>106</sup>

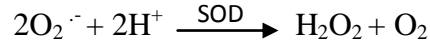
### **Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>):**

Asidik ortamda moleküler oksijenin ortamdaki iki elektron alması veya süperoksitin bir elektron alması sonucu hidrojen peroksit meydana gelir.<sup>107</sup>

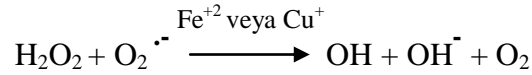


Biyolojik sistemlerdeki hidrojen peroksitin asıl kaynağı herhangi bir sistem tarafından üretilen süperoksit radikalinin dismutasyon reaksiyonudur. Ayrıca ürat

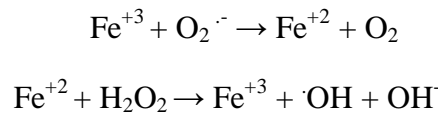
oksidaz, glukoz oksidaz, ve D-aminoasit oksidaz gibi enzimler iki elektronunu oksijene vererek H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluştururlar.



Hidrojen peroksit kendi başına çok zayıf oksidan özellik gösterir. Çünkü ortaklanmamış bir elektron içermemektedir. Hidrojen peroksit gerektiğinde hücreler tarafından selenyum içeren GPO, CAT ve belirli peroksidazlar tarafından ortadan kaldırılabilir. Hidrojen peroksit serbest bir radikal olmadığı halde, ROS' lar içine girer ve serbest radikaller içerisinde önemli bir rol oynar. Çünkü Fe ve Cu gibi geçiş metalleri varlığında süperoksit ile reaksiyona girerek en reaktif ve en zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir.<sup>107</sup>

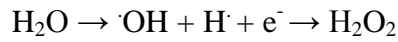


Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu adı verilir. Haber- Weiss reaksiyonu katalizörlü veya katalizörsüz olarak meydana gelebilir. Ancak katalizör olmadığı zaman çok yavaş ilerler. Bu reaksiyonda önce ferri demir (Fe<sup>+3</sup>) süperoksit tarafından ferro demir'e (Fe<sup>+2</sup>) indirgenir. Daha sonra bu ferro demir kullanılarak Fenton reaksiyonu ile hidrojen peroksitten ·OH ve OH<sup>-</sup> üretilir.<sup>108, 109</sup> Reaksiyonun mekanizması aşağıdaki şekildedir.

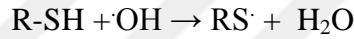


### **Hidroksil radikali (OH·):**

Hidroksil radikalleri, hidrojen peroksinin geçiş metalleri varlığında yani fenton reaksiyonu sonucu ve suyun yüksek enerji ile iyonlarına ayrılması ile oluşan son derece reaktif oksidan radikaldir. Hidroksil radikali özellikle biyolojik moleküller üzerine saldıran ve oluştuğu yerde büyük hasarlara neden olan oldukça hareketli bir oksidandır.<sup>110</sup>



Hidroksil radikali birçok biyolojik molekülden hidrojen atomu koparır. Bunlardan birisi de tiollerdir.



Meydana gelen sülfür radikali oksijenle birleşerek tiyol peroksil (RSO<sub>2</sub>) ve sülfenil (RSO) gibi oksisülfür radikallerini meydana getirir. Bu radikaller de biyolojik moleküllerde hasar yapıcı etkiye sahiptir.

Belki de OH· en iyi tanımlanmış biyolojik hasarı LPO' yu artırmasıdır. Bu durum hidroksil radikallerinin membrana yakın bir yerde üretilmesi ve membran fosfolipid zincirinin yağ asidi tabakasına atak yapması ile meydana gelir. Ayrıca hidroksil radikalının AA gibi doymamış yağ asitlerine olan ilgisinin de fazla olduğu ileri sürülmektedir.

### **Singlet Oksijen (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>):**

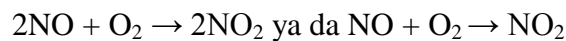
Singlet oksijen eşleşmemiş elektron ya da elektronlara sahip olmadığından dolayı bir serbest radikal değildir. Oksijenin eşleşmemiş elektronlardan birinin verilen

enerji sonucu bulunduğu orbitalden başka bir orbitale veya kendi spininin ters yönünde yer değiştirmesiyle oluşur. Ancak orbitalinde içerdiği elektronların aynı yönlü olması singlet oksijenin diğer ROS' lar ile okside olmasını artırmaktadır. Singlet oksijen özellikle fotokimyasal reaksiyonlar için oldukça önemlidir.<sup>98, 111</sup>

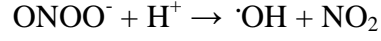
### **Nitrik oksit (NO<sup>•</sup>) ve nitrojen dioksit (NO<sub>2</sub><sup>•</sup>):**

Nitrik oksit ve nitrojen dioksit eşleşmemiş elektronları ile birer radikaldirler. Nitrojen dioksit, nitrik oksitin oksijen ile reaksiyona girmesi sonucu meydana gelir. NO<sub>2</sub> oldukça zehirli ve çok güçlü bir oksidandır. Oksijen redüksiyonu sırasında NO<sub>2</sub>' ye maruz kalması durumunda AA metabolizmasının NO<sub>2</sub> konsantrasyonuna bağlı olarak değiştiği görülmektedir. Düşük miktarda NO<sub>2</sub>' nin AA metabolizmasını büyük oranda artırdığı gözlenmiştir.<sup>107, 112, 113</sup>

Nitrik oksit L-arjinin amino asitinden in vivo olarak üretilmektedir. NO kokusuz, renksiz ve az indirgenebilen oksidan bir gazdır. Son yıllarda radikal olan nitrik oksit üzerinde oldukça fazla durulmaya başlanmıştır. Nitrik oksit eşleşmemiş elektronları sayesinde süperoksit, tiyol grupları ve nitrojen dioksit ile hızlı reaksiyonlar oluşturmaktadır. Diğer radikallerle birlikte diabetes mellitus, septik şok, kalp bozuklukları, Alzheimer hastalığı ve gastrik ülserlerin oluşumunda etkili olduğu düşünülmektedir.<sup>107, 113, 114</sup>







### **Diğer Serbest Radikaller:**

ROS' ların etkisi sonucu karbon merkezli radikaller (R·), peroksil radikalleri (ROO·), alkoksil radikalleri (RO·), tiyol radikalleri (RS·) gibi önemli serbest radikallerde oluşabilir. Bunlardan özellikle polidoymamış yağ asitlerinden meydana gelen peroksil radikali yarı ömrü uzun olan bir radikaldir. Tiyol radikalleri de tekrar oksijenle reaksiyona girerek sülfenil (RSO·) veya tiyol peroksil (RSO<sub>2</sub>·) vb. gibi radikalleri oluşturabilirler.<sup>76</sup>

### **2.7.3. Serbest Radikal Kaynakları:**

Serbest radikaller organizmanın normal yaşamını sürdürmesi için gerekli olan metabolik faaliyetlerini devam ettirmesi için gerekli olan reaksiyonların sonunda oluşabildiği gibi stres ve radyasyon gibi çevresel faktörlerin etkisiyle de oluşmaktadır. Bu nedenle serbest radikal kaynakları endojen ve ekzojen olmak üzere ikiye ayrılır.

#### **Ekzojen radikal kaynakları:**

- 1) İlaç oksidasyonları
- 2) Radyasyon
- 3) Güneş ışığı, UV-ışınları
- 4) Sigara dumanı, egzoz gazları
- 5) Kükürtdioksit
- 6) Alışkanlık yapan maddeler
- 7) Çevresel ajanlar: Hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, hiperoksitler, pestisitler, solventler, anestezi maddeler, aromatik hidrokarbonlar gibi ksenobiyotikler.

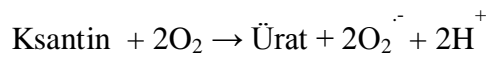
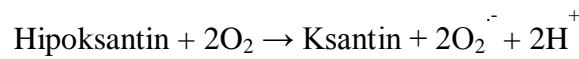
8) Stres: Stres katekolamin düzeyini artırır ve artan katekolaminlerin oksidasyonu ile serbest radikal oluşumu gözlenir.<sup>74, 75, 98</sup>

**Endojen radikal kaynakları:**

**Küçük moleküllerin otooksidasyonu:** Normal ortamda tiyoller, hidrokinonlar, katekolaminler, flavinler, tetrahidrobiyopterin gibi pek çok bileşik otooksidasyon reaksiyonları ile serbest radikalleri oluşturur.<sup>115, 116</sup>

**Enzimler ve proteinler:** Birçok enzimin katalitik çevrimleri sırasında da serbest radikaller açığa çıkar. Ksantin oksidaz, aldehit oksidaz ve triptofan dioksijenaz böyle enzimlerden olup, serbest radikal oluşumuna neden olurlar.<sup>86, 98</sup>

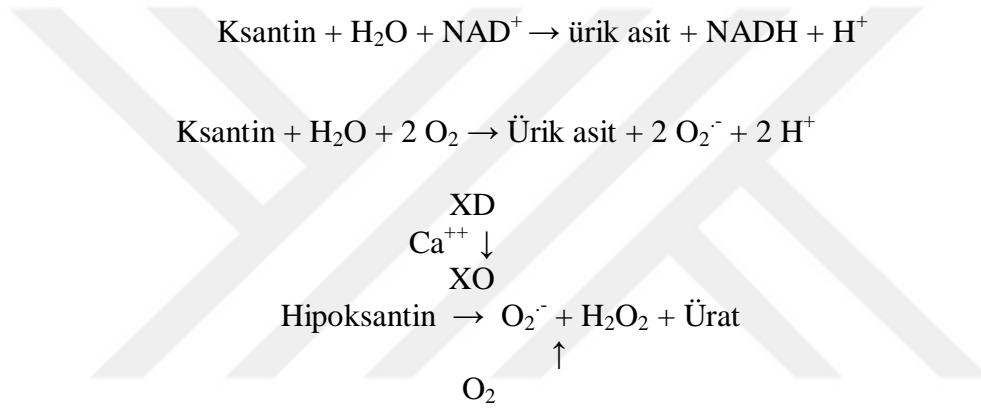
Ksantin oksidaz normalde nikotinamid adenin dinükleotid (NAD)-bağımlı dehidrogenaz olarak etki eder ve herhangi bir serbest radikal üretimine sebep olmaz. Fakat in vivo olarak oluşturulan iskemi, enzimin dehidrogenaz formundan oksidaz formuna dönüşmesine ve süperoksit radikalinin üretimine sebep olur. Ksantin oksidaz enzimi oksijen varlığında hipoksantini ksantine veya ksantini ürata oksitler. Bu reaksiyonda elektron alıcısı moleküler oksijendir.<sup>76, 87, 98</sup>



Hipoksantin- ksantin arasındaki bu tepkime sonucu oluşan süperoksitin yarattığı en büyük hasar vasküler sistemdedir. Fakat yapılan araştırmalar ksantin oksidaz enziminin barsak, akciğer, karaciğer, böbrek gibi dokularda da hasara neden olduğu gözlenmiştir.<sup>82, 89</sup>

Normalde NAD bağımlı dehidrogenaz olarak etki eder ve herhangi bir serbest radikal oluşumuna neden olmaz. Ancak ilk iskemi atağından sonra hücre membranı

sahte sodyum-kalsiyum pompası oluşturma eğilimine girer. Hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artması proteazların miktarı artsa bile devam eder. Bu sırada hücre ksantin dehidrogenazın (XD) ksantin oksidaz (XO)' a dönüşümüne izin verir. Bu oluşan hücre içi olayların sonunda XD enzimi dehidrojenaz formundan oksidaz formuna dönüşür ve süperoksit ( $O_2^-$ ) radikalinin üretimine neden olur. Oluşan süperoksit radikalleri hızlı bir şekilde hidrojen peroksit'e dönüşür. Hidrojen peroksit güçlü bir radikal olmasa da,  $Fe^{+2}$  varlığında fenton reaksiyonu oluşturarak güçlü bir radikal olan hidroksil radikalinin oluşmasına neden olur.<sup>81, 100, 117</sup>



Aldehit oksidaz yapı itibariyle ksantin oksidaza benzer ve substratlarının çoğunu da aynı şekilde kullanarak süperoksit radikali üretirler.<sup>118</sup>

**Mitokondriyal elektron transferi:** Normalde hücrelerde en büyük serbest radikal kaynaklarından biri elektron taşıma sisteminden (ETS) sızan elektronlardır. Mitokondriyal ETS' den elektron iki yerde sızmaktadır. Birincisi, nikotinamid adenin dinükleotid hidrojen fosfat (NADH)-dehidrogenaz basamağında, ikincisi olarak da koenzim Q ya da ubikinon basamağında elektron sızması görülmektedir. ETS' nin son basamağında elektronların oksijene taşınmasından sorumlu olan sitokrom oksidaz enzimi oksijenin % 97-99' unu harcayarak suya indirger. Ancak oksijenin % 1-3' ü ETS' den sızan elektronlarla bir araya gelerek süperoksit radikalinin üretimini arttırır. Böylece  $\text{NAD}^+$  bağlı substratlar, süksinat, adenozin di fosfat (ADP) ve oksijen gibi

endojen faktörler oksidatif fosforilasyonu regüle ederek mitokondriyal radikal üretimine etki eder.<sup>76, 80, 98, 117</sup>

### **Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri:**

Endoplazmik retikulum ve nükleer membranda ise serbest radikal üretimi membrana bağlı sitokromların oksidasyonundan kaynaklanır. Membrana bağlı sitokrom P-450 ve b<sub>5</sub>, doymamış yağ asitleri ve ksenobiyotikleri redükte ederken dioksijen ve diğer substratları ise okside ederler.

**Peroksizomlar:** Peroksizomlar çok önemli hücre içi hidrojen peroksit kaynağıdır. Bu organeldeki D-aminoasit oksidaz, urat oksidaz, L-hidroksilizin oksidaz ve yağ asidi açıl- CoA oksidaz gibi oksidazlar O<sub>2</sub><sup>-</sup> üretmeden, bol miktarda hidrojen peroksit üretimine sebep olurlar. Ancak CAT aktivitesi çok yüksek olduğu için bu organelden sitozole ne kadar hidrojen peroksit geçtiği bilinmemektedir.<sup>105, 119</sup>

**Plazma membranı:** Plazma membranı serbest radikal üretimi için kritik bir yer oluşturmaktadır. Ekstraselüller olarak üretilen serbest radikaller diğer hücre komponentlerine ulaşmadan önce plazma membranını geçmesi gerekir. Bu geçiş sırasında membranda toksik reaksiyonların oluşmasına da neden olabilirler. Membranda yer alan fosfolipidler, glikolipidler, gliseridler ve membran proteinleri serbest radikallerden çabuk etkilenirler. LPO veya yapısal proteinlerin oksidasyonu sonucu membran permabilitesinde bozukluklar meydana gelmektedir.<sup>83, 84, 98, 119</sup>

Hidrojen peroksit membranları neredeyse su kadar kolay geçebilen güçlü oksidandır. Bu nedenle proteinlerin ve lipidlerin hidrofobik kısımlarını daha iyi parçalayabileceği ve toksik etkisinin daha fazla olacağı tahmin edilmektedir.

Serbest radikallerin nonfagositik hücre membranlarında NADPH-oksidaz aracılığı ile üretiminin serbest radikal oluşumunun önemli bir kaynağı olarak görülmektedir.<sup>71, 98</sup>

Lipooksijenaz ve COX gibi plazma membranıyla bağlantılı enzimler ile mikrozomlar tarafından serbest radikal üretimi, bu enzimlerin predominant substratı olan AA metabolizması ile ilişkili pek çok yeni buluş ve biyolojik açıdan önemli ürünlerin meydana gelmesinden dolayı ilginçtir. Bu ürünler PG' leri, tromboksanları, lökotrienleri ve anafleksinin slow-reakting substratını içerir. Son zamanlarda araşidonat metabolizmasında yer alan bu enzimatik proseslerin otokatalitik LPO' ya öncülük etmesi bu konuya olan ilgiyi artırmıştır.

Serbest radikal üretimini bazı toksik maddeler artırabilir. Bu maddeler dört gruba ayrılır.<sup>85, 105</sup>

- 1) Toksinin kendisi bir serbest radikaldir.
- 2) Toksin bir serbest radikale metabolize olabilir. Örneğin toksik bir madde olan karbontetra klorür ( $CCl_4$ ) karaciğerde sitokrom P-450 tarafından triklorometil ( $.CCl_3$ ) serbest radikale dönüştürülür. Bu radikalın oksijenle reaksiyona girmesi neticesinde meydana gelen peroksil radikali güçlü LPO başlatıcıdır.
- 3) Toksinin metabolizması sonucu serbest oksijen radikali meydana gelir. Bunun en basit örneği paraguattır.
- 4) Toksin antioksidan aktiviteyi düşürebilir. Örneğin parasetamolün karaciğerde sitokrom P-450 tarafından glutatyonla reaksiyona girerek ve miktarını azaltan bir ürün meydana getirir.

#### **2.7.4. Serbest radikallerin etkileri:**

Serbest radikaller etkilerini özellikle canlı hücreler için yaşamsal öneme sahip olan DNA, yağlar, proteinler ve karbonhidratlara saldırarak gösterirler. Mitokondride oksijenli solunum sonucunda meydana gelen serbest radikallerin alveolar epitel tabakada ve DNA'ya zarar vererek yapısal ve metabolik çeşitli hastalıkların oluşmasına neden olduğu düşünülmektedir.<sup>72, 98, 117, 120</sup>

**Membran lipidleri üzerine etkileri:** Membranlar üzerindeki birçok bileşik ve molekülün serbest radikallerden etkilenmesine rağmen, radikallerin en belirgin etkileri yağ asitleri üzerine etki ederek LPO'yu başlatmaları olarak bilinir. LPO, polidoymamış yağ asitlerinin radikaller ile oksidasyonu sonucu başlayan ve otokatalitik zincir reaksiyonları şeklinde devam eden birçok biyolojik yapıda hasarlara neden olan reaksiyon sürecidir. LPO membranlarda oluşturduğu yıkıcı etkisi genellikle reaksiyon sırasında açığa çıkan  $\cdot\text{OH}$  radikalinin membran yağ asidi yan zincirlerine saldırmasıyla oluşur. LPO ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür.<sup>98, 117, 121, 122</sup>

LPO'yu başlatan ilk hareket membran ya da polidoymamış yağ asitlerinin içerdiği metilen grubundan ( $-\text{CH}_2-$ ) bir hidrojen atomunun çıkartılması ile başlar. Böylece tek elektron içeren hidrojenin uzaklaştırılması sonucu karbon merkezli  $-\text{CH}$ -lipid radikali meydana gelir. Oluşan lipid radikali dayanıksız bir bileşiktir. Bir dizi değişikliğe uğrayarak molekül içi çift bağların pozisyonlarının değişmesiyle konjuge dien yapıları ve daha sonra lipid radikallerinin moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipid peroksil radikali meydana gelir. 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 ederek zincir reaksiyonlarının başlamasına neden olur.<sup>74, 98, 107, 117</sup>

Lipid hidroperoksitlerinin membranlarda birikimi sonucu, membran fonksiyonlarında bozukluklar meydana gelir. 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. Bu sayede MDA ölçümü ile LPO' nun değerlendirilmesi yapılabilmektedir. Bu bileşikler ya hücrel olarak metabolize olurlar ya da başlangıçta etkili oldukları bölgeden diffüze olup hasarlı hücrenin diğer bölümlerine yayırlar. Lipid radikallerinin hidrofobik yapıda olması dolayısı ile reaksiyonların çoğu membrana bağlı moleküllerde meydana gelir. Peroksil radikalleri ve aldehitler, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olarak membranlarda, reseptörleri ve membrana bağlı enzimleri inaktive etmek suretiyle membran proteinlerinde de ciddi hasarlar meydana getirebilirler. İyon transportunu etkileyebilirler.<sup>85,99,123,124</sup>

LPO reaksiyonu ya toplayıcı antioksidan reaksiyonlarla sonlandırılır veya otokatalitik yayılma reaksiyonları ile devam eder.<sup>107</sup> LPO sonucunda membran yapısında çeşitli değişiklikler meydana gelir.<sup>125</sup> Bunlar kısaca:

- 1) LPO sırasında oluşan lipid hidroperoksitleri biomembranlar üzerinde yerleşmiş halde bulunan bazı enzimleri inhibe eder.
- 2) Tiyol gruplarını oksidasyona uğratarak membran üzerindeki protein-lipid ilişkisini bozar.
- 3) Membranın yapı taşlarından olan lipitlerin akışkanlığını bozar.
- 4) LPO sonucu oluşan serbest radikaller membran dışında da çeşitli yapısal moleküllerde bozulmalara neden olurlar.

**Proteinler üzerine etkileri:** Proteinler, lipitlere göre serbest radikallerden daha az etkilenirler. Proteinlerin etkilenme dereceleri içerdikleri aminoasit kompozisyonuna

bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren amino asitlerden (triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metiyonin, sistein gibi) meydana gelmiş proteinler serbest radikallerden daha çabuk etkilenirler. Proteinlerin radikaller ile reaksiyona girmesi sonucu karbon merkezli radikaller ve sülfür radikalleri meydana gelir. Bu karbon merkezli radikallerden karbonillerin (PCO) ölçülmesi ile proteinlerde meydana gelen oksidatif hasar ölçülebilir. Serbest radikallerin oluşturduğu hasar sonucunda proteinlerde parçalanma, çapraz bağlanmalar ve proteinlerin agregasyonu meydana gelebilir. Birçok biyokimyasal yapının ve özellikle enzimlerin yapısında bulunan proteinlerin hasar görmesi sonucu hücrenin normal fonksiyonlarında bozukluklar ve enzim aktivitelerinde aksaklıklar meydana gelir.<sup>98, 117, 126</sup>

Proteinlerin çok farklı şekillerde modifikasyona uğramasına bağlı olarak, protein oksidasyonunun tek bir evrensel belirteci yoktur. Bazı oksidatif protein modifikasyonları, hem oksidasyona uğrayan amino asit miktarı, hem de oluşturulan ürünler bakımından gayet spesifiktir. Bazı oksidatif protein modifikasyonları ise geniş çaplı özellik taşır ve çok sayıda amino asitte değişikliğe yol açarak, yine çok sayıda ürün oluşturabilir. Spesifik modifikasyonlara tirozin' nin 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.<sup>127, 128</sup>

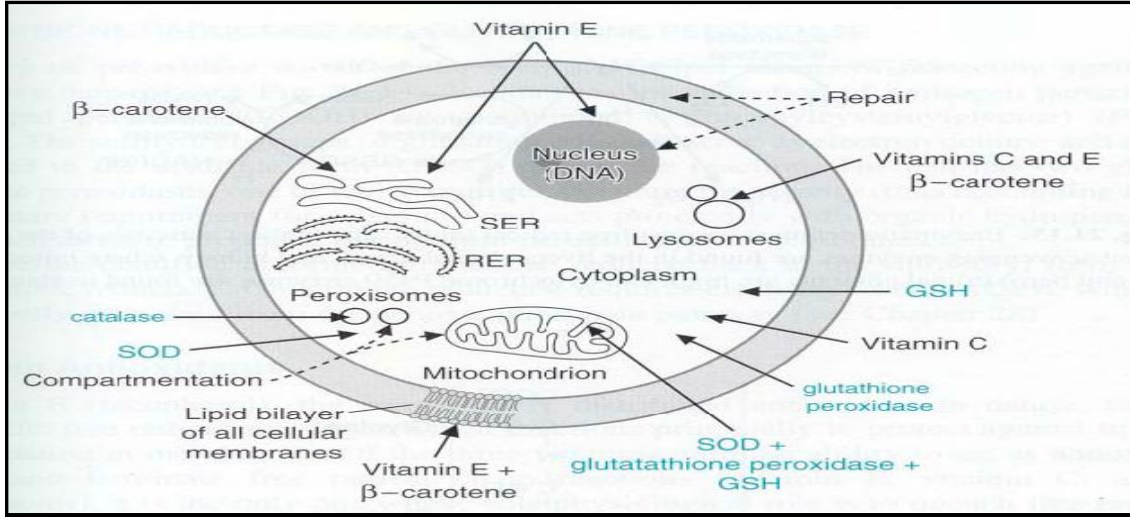
**DNA üzerine etkileri:** İyonize edici radyasyondan kaynaklanan hücre ölümünün başlıca nedeni olarak nükleik asitlerin ROS' ler ile reaksiyona girmesi ve bu reaksiyon sonucunda DNA' da mutasyona ve hücre ölümüne yol açtığı düşünülmektedir. Ayrıca LPO sonucu oluşan malondialdehit (MDA)' nın nadirde olsa DNA' da mutasyona sebep olduğu, beslenme ve yaşam şekli gibi faktörlerle bir araya gelerek kanser ve genetik bazı hastalıklara neden olduğu düşünülmektedir.<sup>129, 130</sup>



Hidroksil radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar. Eğer hidroksil radikali DNA' nın yakınında meydana gelirse mutasyonlara neden olabilir. Hidroksil radikali, nükleik asitlerde doymuş karbon atomlarından hidrojen çıkarır veya çift bağlara katılma tepkimeleri ile sonuçlanan tepkimelere girer ve DNA hasarına neden olurlar. Hidroksil radikali singlet oksijenin nükleik asitlerle tepkimeye girme yeteneği daha sınırlıdır. Süperoksit anyonu güçlü bir oksitleyici olduğundan, guanin gibi yüksek elektron yoğunluklu bölgeler içeren moleküllerle daha kolay tepkimeye girer.<sup>131, 132</sup> Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir. Reaktif oksijen türleri, DNA' nın oksidatif hasarı sonucu karsinogenesis ve çeşitli hastalıklara neden olabilir.<sup>98, 117, 119, 130, 133, 134</sup>

### **2.7.5. Antioksidan savunma sistemleri**

Canlılar serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek için hem hücre içerisinde hem de hücre membranının da etki gösteren birçok koruyucu mekanizmaya sahiptirler. Bu mekanizmalar gerek radikal üretimini engelleyerek gerekse oluşan radikallerin zararlı etkilerini ortadan kaldırmak için tasarlanmıştır. İşte 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 (Şekil 2.3).



**Şekil 2.3.** Genel anlamda antioksidan sistem elemanlarını bir arada gösteren şema

**A) Endojen (Doğal) Antioksidanlar:**

**1) Primer Antioksidanlar (Enzimler):**

***Süperoksit dismutaz (SOD):***

SOD enzimi süperoksitin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen enzimdir. SOD' nin aktivitesi yaş artışıyla beraber artar. SOD yaklaşık olarak 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.<sup>135-137</sup>



Süperoksit radikallerinin dismutasyonunu katalizleyen bu enzim ilk olarak inek eritrositlerinden saflaştırılmış ve daha sonraki çalışmalarda insan eritrositlerinde de tesbit 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 radikalin etkisini ortadan kaldıran SOD' nin canlılarda önemli roller üstlendiği ve yaşamsal etkiye sahip olduğu düşünülmektedir.<sup>98, 117, 119, 138, 139</sup>

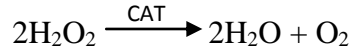
Cu-Zn SOD; ilk kez 1969 yılında Mc Cord ve Fridovich tarafından tanımlanmıştır. Cu-Zn SOD, hayvansal hücrelerin sitozolünde yer alan enzimin molekül ağırlığı yaklaşık olarak 32.000 Daltondur. Birbirinin aynı olan iki alt üniteden meydana gelir. Her alt ünite de bir Cu atomu ve bir Zn atomu, bir zincir içi disülfür köprüsü, bir sülfhidril grubu ve bir asetilenmiş terminal amino grubu bulunduğu tesbit edilmiştir.<sup>115, 138</sup>

Mn-SOD; prokaryotik hücreler molekül ağırlığı 40.000 Dalton olan, birbirinin aynı olan 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 molekül ağırlığında tetramer yapıdadır. Mitokondri ve diğer prokaryotların dismutazlarının pek çok ortak özelliği primer yapıları da birbirine çok benzerdir. Ancak aynı tepkimeyi katalizlemeleri dışında Mn-SOD ile Cu-Zn SOD arasında hiçbir ortak yapısal özellik yoktur.<sup>140</sup>

Bazı bakteriler birden fazla SOD içerirler. Bunlardan biri bütün prokaryotlarda bulunan Mn-SOD olup, hücre sitoplazmasında bulunur. Bazı bakteriler periplazmik bölgelerinde demir içeren bir SOD (FeSOD) bulundurur.<sup>141</sup> Serbest radikallerin oluşturduğu yıkıcı etkinin önlenmesinde SOD enziminin CAT 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 CAT tarafından birikimi önlenmektedir.<sup>119, 139, 142</sup>

### ***Katalaz (CAT):***

CAT, 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 hidrojen peroksiti moleküler oksijen ve suya katalizlemektir.<sup>98, 117, 119, 139, 143, 144</sup>

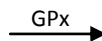


CAT enzimi daha çok peroksizomlarda lokalizedir. CAT' in indirgeyici aktivitesi hidrojen peroksit ile metil, etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerine etki etmez. Kan, kemik iliği, mukoz membranlar, karaciğer ve böbreklerde yüksek miktarda bulunmaktadır.<sup>105, 145, 146</sup>

### ***Glutasyon peroksidaz (GPO):***

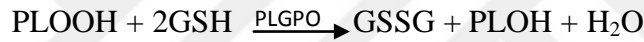
GPO enziminin varlığı ilk defa Mills tarafından 1957 yılında memeli eritrositlerinde saptanmıştır. Hücrelerde oluşan hidroperoksitlerin uzaklaştırılmasından sorumlu olan bir enzimdir. Molekül ağırlığı ise yaklaşık olarak 85.000 Dalton' dur. Birbirinin aynı dört subünitten oluşan tetramerik bir enzimdir. Her subünit bir selenyum atomu içerir. Bu nedenle hücreleri çeşitli hasarlara karşı koruyan bir selenoenzim olduğu düşünülmektedir.<sup>98, 117, 119, 147, 148</sup>

Enzim aktivitesinin % 60-75' i ökaryot hücrelerin sitoplazmasında bulunur. % 25-40' ı ise mitokondridedir. GPO, intrasellüler mesafede lipidleri peroksidasyondan koruyan en önemli enzimdir. Bu nedenle hücrenin özellikle sitozolik kompartmanında yer alan bu enzim hücrenin yapısını ve fonksiyonunu korur.<sup>149, 150</sup> GPO, aşağıdaki reaksiyonları katalizler.<sup>119, 147, 151</sup>

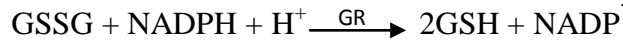




Membran fosfolipid hidroperoksitlerini alkole indirgeyen fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz (PLGPO) da selenyum atomu içerir ve monomerik yapıdadır. Ayrıca sitozolik bir enzimdir. Membrana bağlı antioksidan olan vitamin E'nin yetersiz olduğu durumlarda PLGPO membranın peroksidasyonuna karşı korunmasını sağlar.<sup>152, 153</sup>



Hidroperoksitlerin redükte olması ile meydana gelen okside glutatyon (GSSG), glutatyon redüktazı (GR) katalizlediği reaksiyon ile tekrar GSH' ye dönüşür.

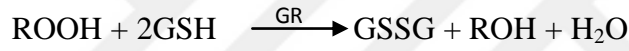


GPO' nun, hücredeki dağılımı, GR' ye bağımlıdır. Her iki enzim de sitozolde en yüksek konsantrasyonlarda bulunur.<sup>153</sup>

### ***Glutatyon-s-transferaz (GST):***

“Selenyuma bağlı olmayan GPO” olarak adlandırılır. GST' ler, sisteyinin sülfür atomu üzerinden çeşitli elektrofillere glutatyonu aktaran proteinlerdir. E. coli' den insana kadar çok çeşitli türlerden GST saflaştırılabilirken en çok da sıçan karaciğerinden saflaştırılmıştır.<sup>154</sup>

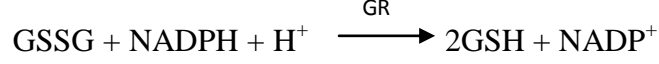
GST' ler başta araşidonik ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere LPO' lara karşı Se-bağımsız GSH peroksidaz aktivitesi koruyucu mekanizma oluştururlar.<sup>155</sup> GST' ler antioksidan aktivitelerine ilave olarak çok önemli biyokimyasal fonksiyonlara da sahiptirler. Katalitik ve katalitik olmayan çok sayıda fonksiyona sahip GST' lerin tüm canlı hücrelerde bulunması hayati önemlerinin bir göstergesidir. Hem detoksifikasyon yaparlar, hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolleri vardır. Katalitik olarak, yabancı maddeleri GSH' deki 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' den glutamat ve glisinin koparılmasından sonra sisteinin serbest amino grubu asetillenerek merkaptürik asitlere dönüştürülür.<sup>155</sup>



#### ***Glutasyon redüktaz (GR):***

GR 50.000 Daltonluk alt birimlere sahip bir dimerdir. Görevi yükseltgenmiş glutasyonu (GSSG) indirgenmiş GSH hale çevirmektir. Bu indirgenme işlemi sırasında NADPH' den gelen elektronlar GSG' nin disülfid bağına direkt olarak transfer edilemezler. Sıklıkla önce NADPH' den sıkıca bağlı bulunan fenil adenin difosfat (FAD)' a transfer edilirler. Daha sonraki alt birimlerdeki 2 sistein arasında bulunan disülfid köprüsüne transfer edilmek suretiyle GSSG' ye aktarılmış olurlar. Her bir subunit 3 tane yapısal alan içerir, bunlar: FAD bağlayıcı olan, NADPH bağlayıcı olan ve ara yüz alanıdır. FAD alanı ve NADP<sup>+</sup> alanı birbirine benzer ve diğer dehidrojenazlardaki nükleotid bağlayıcı alanlara benzerler. FAD ve NADP<sup>+</sup>' nin izoalloksozin ve nikotinamid halkaları birbirine geçecek şekilde geniş ölçüde aralarında

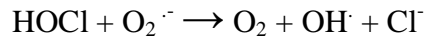
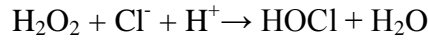
bağlanırlar. GSSG için bağlayıcı alanın bir alt biriminin FAD alanı ile diğer alt birimin ara yüz alanından meydana geldiği belirtmek gerekir.<sup>156</sup>



Alyuvarlardaki pentoz fosfat yolu ise, GR' nin GSSG' yi GSH' ye çevrimi için gereken NADPH' yi sağlar.<sup>157</sup>

### ***Miyeloperoksidaz (MPO):***

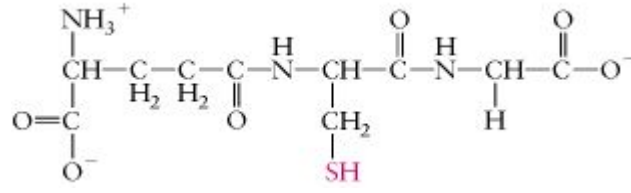
Nötrofil granüllerde bol miktarda bulunan MPO enzimi hidrojen peroksitten hipoklorik asit (HOCl) oluşturmak üzere etki eder. Asidik pH oluşumuna bağlı olarak MPO aktivitesi artmakta ve membranı kolayca geçen hidrojen peroksit bakteriyeye toksik etki yapmakta ya da hidroksil (OH<sup>•</sup>) radikaline dönüşmektedir. Bu tepkimede HOCl yer almaktadır. Hidrojen peroksit ile MPO Cl<sup>-</sup> iyonlarını HOCl' ye dönüştürmektedir. Çok reaktif olan HOCl birçok biyolojik molekülü oksitlemektedir.<sup>11, 157, 158</sup>



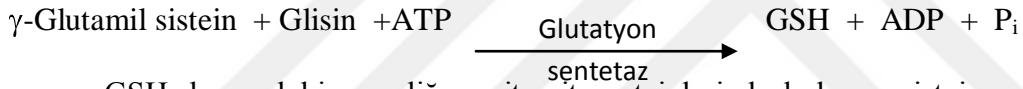
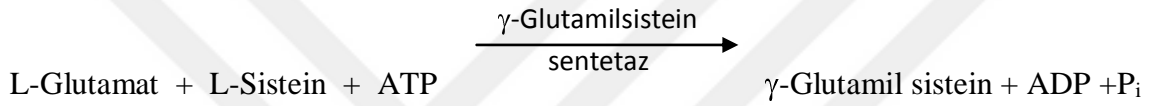
### **b) Sekonder antioksidanlar:**

#### ***Glutasyon (GSH):***

GSH, birçok hücrede bulunur ve bir tripeptiddir (Şekil 2.4). GSH L-glutamat, L-sistein ve glisinden iki basamakta sentezlenir. Oluşan her peptid bağı için bir molekül ATP harcanır.<sup>159</sup>



**Şekil 2. 4.** Glutasyon' un molekül yapısı



GSH, 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 hidrojen peroksit ve organik peroksitlerle reaksiyona girerek antioksidan etki sergiler ve hidrojen peroksiti alyuvarlardan uzaklaştırır. Hidrojen peroksit birikmesi hemoglobinin methemoglobine oksidasyon hızını artırarak alyuvarların yaşama süresini azaltabildiğinden bu tepkime çok önemlidir. Ayrıca alyuvarlarda hemoglobinin methemoglobine otooksidasyonu ile süperoksit oluşurken diğer dokularda ise bu sitokrom P-450 redüktaz ve ksantin oksidaz gibi enzimlerle oluşur.<sup>119, 157, 159, 160</sup>

GSH, hidrojen peroksidi veya organik oksitleri kimyasal olarak detoksifiye edebilir. GSH' yi peptid bağından dolayı düşük enerjili bileşikler arasında kabul



edebiliriz. GSH, hücre proteinlerini indirgemiş şekilde tutan disülfid-sülfidril değişimi tepkimelerinde etki gösterir. Belirli oksidaz tepkimeleriyle oluşan hidrojen peroksidi uzaklaştıran enzim GPO' ya substratlık yaparak proteinlerin sülfidril gruplarını da korur. GSH yokluğunda hidrojen peroksit birikir. GSSG, GR tarafından sürekli GSH' ye indirgenerek GSH miktarı düzenlenir.<sup>119, 161</sup> Moleküler oksijenden türeyen oksidatif radikaller iki mekanizmayla uzaklaştırılır. Birincisi, toksik radikallerin enzimatik inaktivasyonudur. Örneğin GPO ve CAT, reaktif oksijen ara ürünlerini suya indirger. İkinci mekanizma ise oksijen radikallerini kimyasal olarak inaktive eden askorbik asit,  $\alpha$ -tokoferol ve  $\beta$ -karoten gibi diyetle alınan antioksidanlarla ilgilidir.<sup>98, 117, 119, 162</sup>

Birçok enzimin şayet sistein tiyol grubu (-SH) oksitlenecek olursa inaktive ya da inhibe olur. GSH, Gama-glutamilsisteinilglisin, duyarlı ve esansiyel -SH gruplarını içeren enzimlerin doğal aktivatörüdür. GSH, hücrede bir ko-enzimden 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' nin hücre içi derişimi kontrol edilerek birçok enzimin aktivitesi düzenlenebilir.<sup>161</sup>

### ***Diğer sekonder antioksidanlar:***

Canlı vücudunda oldukça az miktarlarda bulunmasına rağmen vitaminlerin vücuttaki görevleri oldukça fazladır. Vitaminlerin bir bölümü, besinlerle aldığımız karbonhidrat, 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, hücreleri, serbest radikalleri nötrleştirerek korurlar. Bunlar uyum içerisinde çalışan bir takım gibi radikalik saldırılara karşı koyarlar.  $\beta$ -Karatenin, askorbik asitin ve tokoferolün antioksidan etkileri yıllardan beri bilinmektedir.  $\beta$ -Karatene organizmada A vitamininin 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  $\beta$ -Karatene nöbet tutarken; hücre duvarından, içeri girmek isteyen saldırganlara karşı savunmayı ise eser elementlerden selenyumun da yardımıyla E vitaminini üstlenmiştir.<sup>98, 163</sup>

Suda çözünen vitaminlerden birisi olan askorbik asit yapı itibariyle en basit vitaminlerden biridir. Bir şeker asidinin laktonundan ibarettir. 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 lipitleri oksidatif hasardan korumaktır. İnce barsaklardan kolayca emilir ve vücudun tüm dokularına taşınarak hücre membranları etrafında depolanır. Böylece hücre membranında koruyucu bir tabaka oluşturmuş olur.<sup>98, 117, 164-166</sup>

### **B) Ekzojen antioksidanlar:**

a) Ksantin oksidaz inhibitörleri: Tungsten, allopürinol, oksipürinol, folik asit ve pterin aldehit

b) Soya fasulyesi inhibitörleri: Ksantin dehidrojenazın proteolitik etki sonucu ksantin oksidaza dönüşümünü inhibe ederler.

c) NADPH oksidaz inhibitörleri: Adenozin, lokal anestetikler, kalsiyum kanal blokerleri, non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar, cetiedil ve difenilin iyodonyum

d) Rekombinant süperoksit dismutaz

e) Troloks-c: E vitamini analogu

f) Endojen antioksidan aktiviteyi artıran maddeler: GPO aktivitesini artırır. Bunlar; Ebselen ve asetil sisteindir.

g) Diğer nonenzimatik serbest radikal toplayıcıları: Mannitol ve albümin

h) Demir redoks döngüsünün inhibitörleri: Desferroksamin ve seruloplazmin

ı) Nötrofil adezyon inhibitörleri

i) Sitokinler:

- *Tümör Nekroz Faktör (TNF)*

- *Interlökin 1*

k) Barbitüratlar

l) Demir şelatörleri<sup>167</sup>

### **C) Gıda antioksidanları:**

- Butillenmiş hidroksitoluen (BHT)

- Etoksiguin

- Butillenmiş hidroksianisol (BHA)

- Propilgalat

- Sodyum benzoat

- Fe-superoksid dismutaz<sup>98, 167</sup>

### **2.7.6. Antioksidan etki tipleri:**

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler:<sup>98, 117, 119, 158, 163, 167</sup>

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): ROS' ler 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): ROS' ları 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. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Deneylerde Kullanılan Kimyasallar

Biyokimyasal ölçümlerde kullanılan bütün kimyasal malzemeler Sigma Chemicals Company (Germany)' den, ülser deneylerinde kullanılan ilaçlar ise aşağıda listelendiği gibi farklı firmalardan temin edilmiştir;

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

Famotidin (FAM) : (Neotab tablet, 40 mg) Deva İlaç

#### 3.2. Deneylerde Kullanılan Cihazlar

Soğutmalı santrifüj : Hettich Universal 32 R

UV-visible spektrofotometre : Thermo Spectronic-HEMIOS  $\beta$

pH metre : Schott CG 842

Hassas terazi : Scaltec SPB 31

Derin dondurucu : Sanyo MDF - 235

Magnetik karıştırıcılar : Boeco MSH 300

Otomatik pipetler : Eppendorf

Buzdolabı : Profilo

Distile su cihazı : GFL 2012

Çalkalayıcı su banyosu : Memmert

Homojenizatör : Ika-Werke

### 3.3. Deneylerde Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları:

1) MPx Homojenat Tamponu (50 mM pH 6.0, % 0.5 HTAB (MA, 364.5-hexadecy three methyl ammonium bromide) içeren Fosfat Tamponu: 1.02 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ve 0.75 g HTAB alınarak 125 ml saf suda çözüldü, pH' sı pH metre ile 6.0' a ayarlandı ve hacmi saf su ile 150 ml' ye tamamlandı.

2) MPx Ölçüm karışımı 50 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  pH 6' sı (MA, 136.09) olan 0.167 mg/ml o-dianizidin-HCl ve % 0.0005  $\text{H}_2\text{O}_2$  içeren 45 ml ölçüm karışımı):

A) 0.167 mg/ ml o-dianizidin-HCl 45 ml: (MA, 317.2), 7.5 mg o-dianizidin-HCl

B) % 0.0005  $\text{H}_2\text{O}_2$  (% 30) 45 ml için: 83.3  $\mu\text{l}$  % 30' luk  $\text{H}_2\text{O}_2$ ' den alınarak 500 ml' ye tamamlanmış çözeltiden 4.5 ml alındı.

C) 50 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  pH 6.0: 0.3062 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  alındı.

Bu üç tartım alındı, 40 ml saf suda çözüldü, pH' sı 6.0' ya ayarlandı ve hacmi saf su ile 45 ml' ye tamamlandı.

3) LPO Homojenat Tamponu ( % 10 KCl ): 10 g KCl alınarak bir miktar saf suda çözüldü ve hacmi saf su ile 100 ml' ye tamamlandı.

4) LPO Ölçüm karışımı:

A) % 8 Sodyum lauril sülfat (SLS): 0.8 g SLS alınıp bir miktar saf suda çözüldü ve hacmi saf su ile 10 ml' ye tamamlandı.

B) % 0.08 Tiyobarbütirik (TBA): 0.48 g TBA alınarak 1–2 damla 1 M NaOH çözeltisi ilavesi ile bir miktar saf suda çözüldü. Daha sonra distile su ile hacmi 60 ml' ye tamamlandı.

C ) % 20 Asetik asit: 13 ml glasiyel asetik asit alındı, üzerine 65 ml saf su eklendi.

5) CAT Homojenat Tamponu (50 mM pH 7.8, %1 Triton X-100 içeren Fosfat Tamponu): 1.7 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ve 2.5 ml Triton X-100 alınarak 200 ml saf suda çözüldü, pH' sı bir pH metre kullanılarak 7.8' e ayarlandı ve sonra hacmi saf su ile 250 ml' ye tamamlandı.

6) CAT Ölçüm Karışımı (40 mM, pH 7' de  $\text{H}_2\text{O}_2$  içeren 50 mM Fosfat Tamponu): 1020  $\mu\text{l}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  ve 1.7 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  200 ml saf suda çözüldü, pH' sı bir pH metre kullanılarak 7.0' ye ayarlandı ve sonra hacmi 250 ml' ye tamamlandı.

7) GSH Homojenat Tamponu ( 50 mM, pH 7.4, Tris - HCl Tamponu ): 1.514 g Tris-HCl 200 ml saf suda çözüldü, pH' sı bir pH metre kullanılarak 7.4' e ayarlandı ve sonra hacmi saf su ile 250 ml' ye tamamlandı.

8) GSH Ölçüm Tamponu (200 mM pH 8.2, 0.2 mM EDTA içeren Tris-HCl Tamponu): 6.05 g Tris-HCl ve 0.0146 g EDTA alınarak 200 ml saf suda çözüldü, pH' sı bir pH metre kullanılarak 8.2' ye ayarlandı ve sonra hacmi saf su ile 250 ml' ye tamamlandı.

9) GSH miktarını ölçmek için gereken çözelti (10 mM DTNB (5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoic acid) ): 0.03963 g DTNB alındı ve bir miktar metil alkolde çözülerek hacmi yine metil alkol ile 10 ml ye tamamlandı.

10) GR Homojenat Tamponu (50 mM K-Fosfat Tamponu, pH 7.8): 1.7 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  alınarak 200 ml saf suda çözüldü, pH' sı pH metre kullanılarak 7.8' e ayarlandı ve hacmi saf su ile 250 ml' ye tamamlandı.

11) GR ölçüm karışımı: sırayla 3 ml' de

A ) 0.2 M Fosfat Tamponu (pH 7. 2 mM EDTA içeren): 0.02922 g EDTA ve 1.3609  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  45 ml saf suda çözüldü, pH' sı pH metre kullanılarak 7.0' a ayarlandı ve hacmi saf su ile 50 ml' ye tamamlandı.

B) 2 mM NADPH (MA, 833.4), 10mM Tris-HCl pH 7.0 içinde): 0.06057 g Tris alınarak 45 ml saf suda çözüldü, pH' sı pH metre yardımıyla HCl çözeltisi ilave edilerek 7.0' a ayarlandı ve hacmi saf su ile 50 ml' ye tamamlandı. 2 mM NADPH çözeltisini hazırlamak için 0.0083g  $\beta$ -NADPH alındı ve hacmi yukarıda hazırlanan Tris-HCl çözeltisi ile 5 ml' ye tamamlandı.

C) 20 mM GSSG (MA, 612.6) : 0.06126 g alınarak bir miktar saf suda çözüldü ve hacmi saf su ile 5 ml' ye tamamlandı.

### **3.4. Deney Hayvanları**

Tez çalışmasında 180–200 g ağırlıkta 30 adet erkek Wistar ratlar (Şekil 3.1) kullanılmıştır. Deney hayvanları, Atatürk Üniversitesi, Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarlarından temin edildi ve deneyler Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalında gerçekleştirildi. Hayvanlar deneye alınmadan önce gruplara ayrıldı ve standart şartlar altında muhafaza edildi ve beslendi.<sup>168</sup>



**Şekil 3.5.** Araştırmada kullanılan Wistar rat

### **3.5. İndometazin ile Ratlarda Ülserinin Oluşturulması, Famotidin (FAM) ve Susam Yağının (SY) Uygulanması**

İND ile uyarılan gastrik hasarlı doku üzerine susam yağının antiülser etkisini araştırmak üzere yapılan bu çalışma, Guidobono ve arkadaşlarının yöntemi temel alınarak bazı değişiklikler yapılmak suretiyle gerçekleştirildi.<sup>169, 170</sup>

Deney prosedürü aşağıda belirtilen şekilde gerçekleştirildi.

1) Her bir grupta 6 adet rat kullanılarak deney grupları oluşturuldu ve bir gün boyunca aç bırakıldı. Bu gruplar;

a) İND) grubu: Ülser gelişimini kontrol etmek amacıyla sadece İND' nin verildiği grup (negatif kontrol),

b) Referans grubu: Ülser tedavisinde yaygın olarak kullanılan FAM, gibi ticari referans ilacın verildiği gruplar,

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



d) Uygulama grupları: Antiülser etkisini incelemek üzere SY' nin 2 farklı dozunun verildiği gruplardır.

2) Hayvanlar aç bırakıldıktan bir gün sonra, her bir uygulama grubunda bulunan ratlara; SY farklı dozlarda (0.5 ve 1 ml) olmak üzere oral yoldan steril metal bir sonda ile verildi. Referans gruplarına ise FAM (20 mg/kg), saf suda preparatları hazırlanarak oral yoldan steril metal bir sonda ile verildi. Sağlıklı gruba ise hiçbir muamele yapılmadan, diğer hayvanlar ile aynı şartlar altında (oda, sıcaklık, nem, güneş ışığı, karanlık vb.) muhafaza edildi.

3) Yukarıda belirtilen tüm maddeler belirtilen doz ve miktarlarda oral olarak verildikten 5 dakika sonra tüm sıçanlara aynı şekilde oral yolla İND (25 mg/kg dozda) verildi.

4) İND' nin verilmesinden 6 saat sonra yüksek dozda anestezi madde (thiopental sodium 50 mg/kg) kullanılarak tüm gruplardaki hayvanlar sakrifiye edildi ve mideleri çıkarıldı.

5) Mideler büyük kuvartur boyunca açılarak serum fizyolojik ile yıkandı ve makroskopik olarak incelendikten sonra tüm sıçan gruplarına ait mide dokuları biyokimyasal incelemeler için -20 °C' de saklandı.

6) SY' nin antiülser ve antioksidan etkileri, makroskopik ve biyokimyasal analizlere dayandırılmak suretiyle belirlendi. SY' nin verildiği gruplardan elde edilen sonuçlar, İND ve referans ilaçlarının verildiği gruplardan elde edilen sonuçlar ile mukayese edildi.

### **3.6. Mide Dokusunun Makroskopik ve Biyokimyasal Olarak İncelenmesi**

#### **3.6.1. Mide Dokusunun Makroskopik İncelenmesi:**

Gastrik lezyonların belirlenmesi için rat mideleri makroskopik değerlendirmeye alındı ve rat mideleri, büyük kuvartur boyunca açılarak serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra ülser sayısı ve alanları tespit edildi. Ülser alan genişlikleri milimetrik kâğıt kullanılarak bir büyüteç yardımıyla ölçüldü. SY' nin ve FAM' in antiülser etkileri aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\text{Antiülser etki (\%)} = \frac{\text{İG-DG}}{\text{İG}} \times 100$$

(İG; İND grubu ülser alanını, DG ise deney gruplarının ülser alanını göstermektedir)

### **3.6.2. 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 hazırlandı. Mide dokusu homojenatlarından elde edilen süpernatantlarda MPx, CAT ve GR enzim aktiviteleri ile LPO ve GSH miktarları literatürlere dayalı, uygun metotlar kullanılmak suretiyle tespit edildi. Tüm ölçümler oda sıcaklığında, altı paralel tekerrür olarak gerçekleştirildi.

#### **1) Doku Homojenatlarının Hazırlanması**

Mide dokuları bir havan içinde sıvı azot ile öğütülerek toz haline getirildi. Her bir rat grubu dokularından 0.5 g tartıldı, üzerlerine 4.5 ml uygun tampon çözeltilerden (her parametre için farklı bir tampon sistemi kullanılarak) ilave edilerek 1/10 oranında seyreltildi. Bu homojenatlar sonra homojenizatörde 10 dakika süreyle buz üzerinde homojenize edildi. Homojenatlar bir süzgeç kağıdından süzildikten sonra soğutmalı santrifüj kullanılarak her enzim için literatürlerde belirtilen hızlarda 4°C' de santrifüj edildi ve hazırlanan bu süpernatantlarda biyokimyasal araştırmalar yapıldı.<sup>119, 171-173</sup>

#### **Miyeloperoksidaz (MPx) aktivitesinin ölçümü:**

**Ölçüm prensibi:** MPx enzimleri nötrofillerin solunum patlaması esnasında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> vasıtası ile hipoklorik asit üretirler ve kofaktör olarak Hem' e ihtiyaç duyarlar. Aktivite ölçüm ortamındaki H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, MPx vasıtasıyla harcanırken oluşan hipoklorit

absorbansta bir artışa sebep olur. Ölçüm prensibi, meydana gelen absorbans artışının 460 nm' de ölçülmesi esasına dayanır. Oluşan hipoklorit miktarından MPx aktivitesi hesaplanabilir.

**MPx ölçümü:** MPx aktivitesi Bradley' in belirttiği yöntem esas alınarak ölçüldü.<sup>174</sup> 0.1 g doku alınarak üzerine 10 ml 50 mM fosfat tamponu (pH 6.0) ilave edilerek homojenize edildi. Oluşan homojenat 3500 g 4°C' de 30 dakika santrifüj edilerek süpernatantlar MPx aktivitesi ölçümünde enzim kaynağı olarak kullanıldı. Kuvartz spektrofotometre küveti içerisine 2.8 ml ölçüm tamponu, 0.12 ml homojenat tamponu ve 0.12 ml numune çözeltisinden ilave edildiği anda kronometre çalıştırıldı. Kuvartz küvet spektrofotometrede 460 nm dalga boyunda 30 saniye aralıklarla ve 5 dakika süreyle ölçülerek absorbans azalması köre karşı kaydedildi.

**MPx aktivitesinin hesaplanması:** Ölçümlerde lineer olarak absorbans azalması olan aralıktan dakika başına absorbans azalması hesaplandı. Işık yolu (b)= 10mm, ekstinksiyon katsayısı ( $\epsilon_{H_2O_2}$ ), 0.00394 ( $\mu\text{mol}^{-1} \times \text{mm}^{-1}$ ) alınarak  $A = \epsilon \cdot b \cdot c$  formülünden 460 nm' de, dakikada 1 mmol  $H_2O_2$ ' nin harcanmasını sağlayan enzim miktarı (EÜ) hesaplandı. Formül pratik olarak  $\text{mmol}/\text{min} = A/39.4 \times 30$  şekline getirildi ve bütün aktiviteler bu formülde yerine konulan absorbans değerlerinden hesaplandı. MPx aktivitesi, seyrelme faktörleri dikkate alınarak  $\mu\text{mol}/\text{dakika}/\text{mg}$  doku olarak tarif edildi. Deneyler 6 tekrar yapılarak verildi.

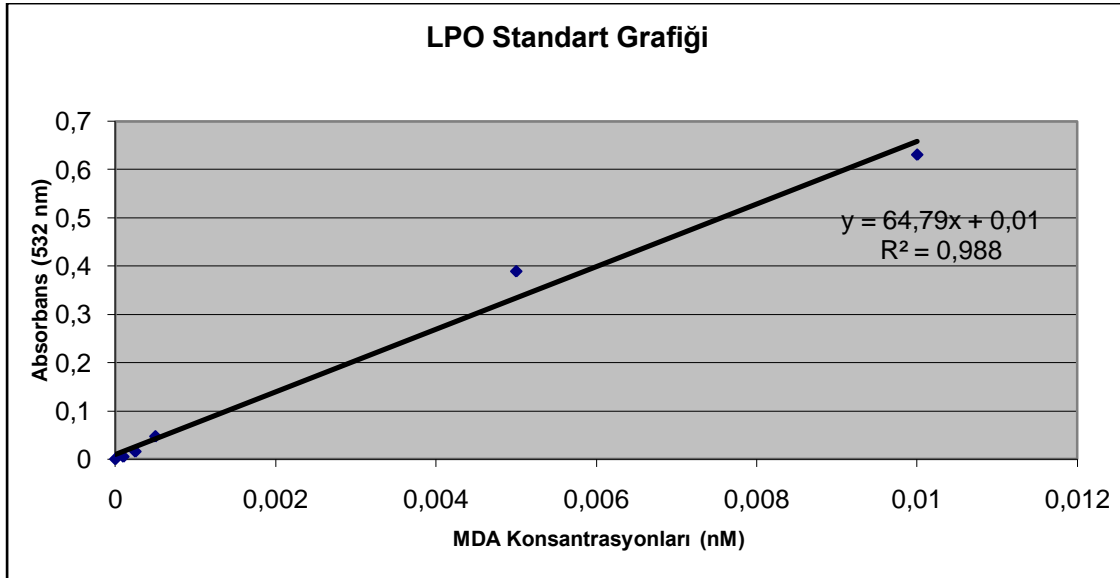
#### **Lipid peroksidasyon (LPO) miktarı ölçümü:**

**Ölçüm prensibi:** Serbest radikallerin hücre zarında oluşturduğu LPO' nun son ürünlerinden olan MDA düzeyini belirlemek için kullanılan yöntemlerin çoğu MDA' nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile verdiği reaksiyonu temel alır. Bir molekül MDA iki molekül TBA ile stabil kırmızı renk oluşturmak üzere reaksiyona girer. LPO ölçümü,

Ohkawa ve arkadaşlarının metoduna göre MDA' nın asidik ortamda TBA ile oluşturduğu rengin 532 nm' de ölçülmesi prensibine dayanarak yapıldı.<sup>175</sup>

**LPO ölçümü:** 0.5 g doku üzerine 4.5 ml % 10 KCl ilave edilerek homojenize edildi. Homojenatlar, 5000 g 4°C' de 20 dakika santrifüj edildi ve bu süpernatantlar, LPO miktarının belirlenmesinde kullanıldı. Kapaklı deney tüpleri içerisine 250 µl homojenat, 100 µl %8 sodium lauril sulfat (SLS), 750 µl % 20 asetik asit, 750 µl % 0.08 TBA ve 150 µl distile su pipetlenerek vortekslendi. Karışım 100°C' de 60 dakika inkubasyona bırakıldıktan sonra üzerine 2.5 ml n-bütanol ilave edildi ve ölçüm alındı.

**LPO miktarının hesaplanması:** Oluşan kırmızı renk miktarları 532 nm' de 3 ml' lik cam küvetler kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan MDA stok çözeltisi kullanılarak oluşturulan standart grafikten yararlanarak ölçümler yapıldı (Şekil 3.2). Numunelerin LPO miktarları, nmol MDA/g doku olarak tarif edildi. Her bir faktörün etkisi 6 tekrar yapılarak verildi.



Şekil 3.6. LPO miktarlarının belirlenmesinde kullanılan standart grafik

### **Katalaz (CAT) aktivitesinin ölçümü:**

**Ölçüm prensibi:** Aktivite ölçüm ortamındaki H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' nin CAT vasıtasıyla suya dönüşümü sağlanırken meydana gelen absorbans azalmasının 240 nm' de ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Harcanan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarından CAT aktivitesi aşağıda bahsedilen yönteme göre hesaplanmıştır.

**CAT ölçümü:** CAT' ın aktivitesi Aebi' nin belirttiği kurallar uygulanarak ölçüldü.<sup>176</sup> 0.5 g doku alınarak üzerine 4.5 ml 50 mM K-fosfat tamponu (pH 7.8) ilave edilerek homojenize edildi. Oluşan homojenat 18.000 g' de 4°C' de 60 dakika santrifüj edilerek süpernatantlar CAT aktivitesi ölçümünde enzim kaynağı olarak kullanıldı. Kuvartz spektrofotometre küveti içerisine son konsantrasyonu 20 mM olacak şekilde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisinden 1.5 ml konularak numune çözeltisinden 1.5 ml ilave edildiği anda kronometre çalıştırıldı. Kuvartz küvet alt üst etme sonrası spektrofotometrede 240 nm dalga boyunda 15 saniye aralıkla 3 dakika süreyle ölçülerek absorbans azalması köre karşı kaydedildi.

**CAT aktivitesinin hesaplanması:** Ölçümlerde lineer olarak absorbans azalması olan aralıktan dakika başına absorbans azalması hesaplandı. Işık yolu (b)= 10mm, azalma katsayısı ( $\epsilon_{H_2O_2}$ ), 0.00394 (mmol<sup>-1</sup> x mm<sup>-1</sup>) alınarak  $A = \epsilon \cdot b \cdot c$  formülünden 240 nm' de, dakikada 1 mmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' nin harcanmasını sağlayan enzim miktarı (=EÜ) hesaplandı. Formül pratik olarak mmol/min=  $A/39.4 \times 30$  şekline getirildi ve bütün aktiviteler bu formülde yerine konulan absorbans değerlerinden hesaplandı. CAT

aktivitesi, seyrelme faktörleri dikkate alınarak mmol/dakika/mg doku olarak tarif edildi.

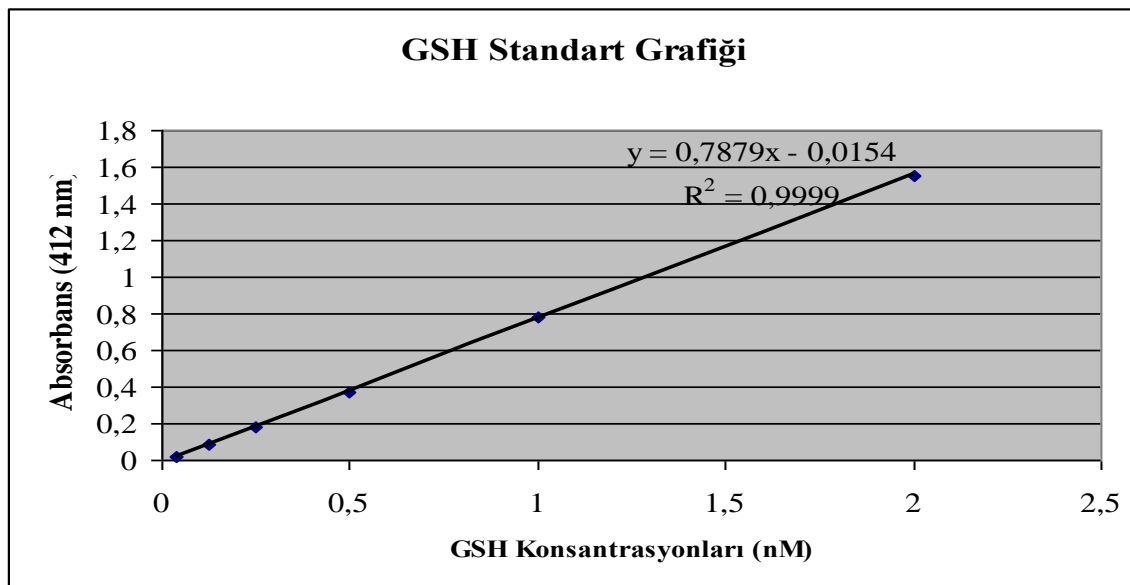
Deneyler 6 tekrar yapılarak verildi.

### **Total glutatyon (GSH) miktarı ölçümü:**

**Ölçüm prensibi:** Ölçüm ortamındaki DTNB [5.5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit)] disülfid bir kromojendir ve sülfhidril gruplu bileşikler tarafından kolayca indirgenir. Meydana gelen sarı renk 412 nm' de spektrofotometrik olarak ölçülebilir.

**GSH miktarının ölçülmesi:** Sedlak ve Lindsay' in geliştirdiği yöntem esas alınarak gerçekleştirildi.<sup>177</sup> 0.5 g doku üzerine 4.5 ml 50 mM Tris-HCl (pH 7.4) ilave edilerek homojenize edildi. Homojenatlar, 12.000 g 4°C' de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatantlar, GSH miktarının belirlenmesinde kullanıldı. 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 vortekslendi. Karışım 37°C' de 30 dakika inkubasyona bırakıldı ve sonra ölçümleri alındı.

**GSH miktarının hesaplanması:** Oluşan sarı renk miktarları 412 nm' de 3 ml' lik kuvartz küvetler kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan GSH stok çözeltisi kullanılarak oluşturulan standart grafikten (Şekil



3.3) yararlanarak ölçümler yapıldı. Numunelerin GSH miktarları, nmol/mg doku olarak tarif edildi. Her bir faktörün etkisi 6 tekrar yapılarak belirlendi.

**Şekil 3.7.** GSH miktarlarının belirlenmesinde kullanılan standart grafik

### **Glutasyon redüktaz (GR) aktivitesinin ölçümü:**

**Ölçüm prensibi:** GSSG' nin aktivite ölçüm ortamındaki NADPH vasıtasıyla GSH' ye indirgenmesi sağlanırken, NADPH' den gelen absorbans azalmasının 340 nm' de ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Harcanan NADPH miktarından GR aktivitesi aşağıda bahsedilen yöntemle göre hesaplanmıştır.

**GR ölçümü:** GR aktivitesi Carlberg' in yönteminde tarif edildiği şekilde ölçüldü.<sup>178</sup> 0.5 g doku alınarak üzerine 5 ml 50 mM K-fosfat tamponu (pH 7.8) ilave edilerek homojenize edildi. Oluşan homojenat 20.000 g' de 4°C' de 20 dakika santrifüj edildi. Çökelek uzaklaştırıldı ve süpernatantlar GR aktivitesi ölçümünde kullanıldı. 1.5 ml ölçüm tamponu, 1.2 ml homojenat, 0.15 ml NADPH ve son konsantrasyonu 20 mM olacak şekilde GSSG çözeltisinden 0.15 ml ilave edildiği anda kronometre çalıştırıldı. Kuvartz küvet alt üst etme sonrası spektrofotometrede 340 nm dalga boyunda 30 saniye aralıklarla 5 dakika süreyle ölçülerek absorbans azalması köre karşı kaydedildi.

**GR Aktivitesinin Hesaplanması:** Ölçümlerde lineer olarak absorbans azalması olan aralıktan dakika başına absorbans azalması hesaplandı. Işık yolu (b)= 10mm, ekstinksiyon katsayısı ( $\epsilon_{\text{NADPH}_2}$ ),  $0.00622 (\mu\text{mol}^{-1} \times \text{mm}^{-1})$  alınarak  $A = \epsilon \cdot b \cdot c$  formülünden 340 nm' de, dakika başına NADPH harcanmasından enzim miktarı (EÜ) hesaplandı. Formül pratik olarak  $\text{mmol}/\text{min} = A/6.22 \times 30$  şekline getirildi ve bütün aktiviteler bu formülde yerine konulan absorbans değerlerinden hesaplandı. GR

aktivitesi, seyrelme faktörleri dikkate alınarak  $\mu\text{mol/dakika/mg}$  doku olarak tarif edildi.

Deneyler 6 tekrar yapılarak verildi.

### **3.6.3. İstatistiksel Analizler**

İstatistiksel analizler SPSS 20.0 yazılım programı kullanılarak yapıldı. Bütün ölçümlerde istatistiksel farklılıklar ve önem seviyeleri one-way variance analyzes (ANOVA) testi ile belirlendi ve  $p<0.05$  seviyesindeki sonuçlar önemli kabul edildi.

Çoklu karşılaştırmalarda Duncan testi uygulandı.





## 4. BULGULAR

Yaptığımız in vivo deneylerden elde ettiğimiz veriler, bu bölümde Tablo ve Şekiller ile gösterilmiş olup İND grubuna göre mukayeseler “antiülser etki (%)” olarak ifade edilmiştir. Deneylerde pozitif kontrol olarak FAM negatif kontrol olarak da İND kullanılmıştır. Her deneye ait veriler değişik muamele grupları arasındaki farkın daha iyi görülmesi amacıyla tablo ve şekiller halinde sunulmuştur.

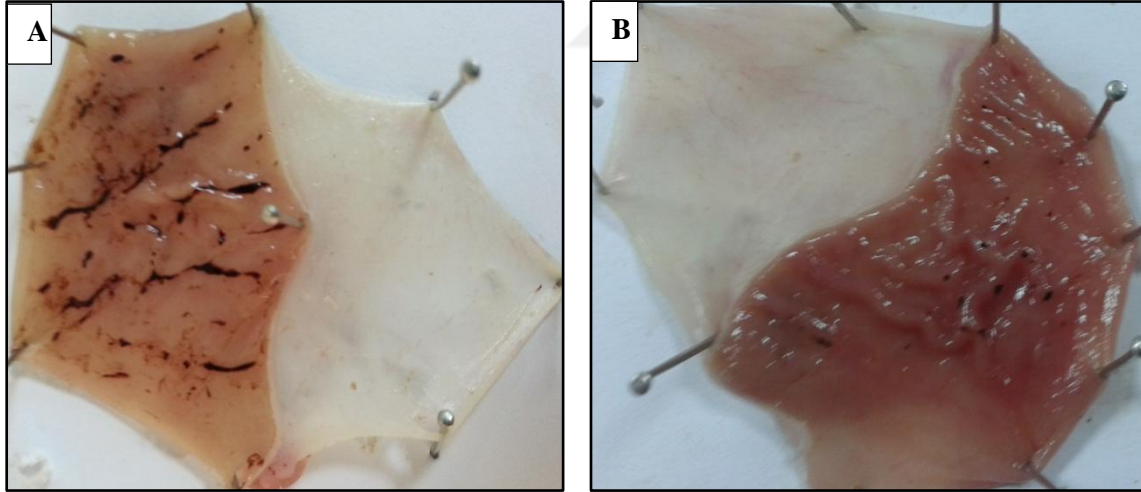
Bulgular kısmında tablo halinde sunulan veriler, 6 tekerrür olarak yapılan deney sonuçlarının ortalaması  $\pm$  standart sapma (SD) olarak sunulmuştur. Bütün verilere SPSS 20.0 software kullanılarak one-way variance analyzes (ANOVA) testi uygulanmış ve  $p < 0.05$  seviyesindeki sonuçlar önemli kabul edilmiştir. Çoklu karşılaştırmalarda ise Scheffe’ s multiple comparison testi uygulanmıştır.

### 4.1. Makroskopik Bulgular

Altışar rattan oluşturulan deney grupları bir gün süreyle aç bırakıldıktan sonra her bir grupta bulunan ratlara sırasıyla susam yağı (0.5 ve 1 ml), FAM (25 mg/kg) ve musluk suyu oral olarak verildikten 5 dakika sonra da İND (25 mg/kg) yine aynı şekilde, oral olarak verildi. Uygulamalardan 6 saat sonra yüksek dozda anestezi madde (thiopental sodium, 50 mg/kg) kullanılarak hayvanlar sakrifiye edildi ve sonra da mideleri çıkarıldı. Mide büyük kuvartur boyunca açılarak serum fizyolojik ile yıkandı ve mide dokusu makroskopik olarak incelendi. Makroskopik inceleme sonuçları Tablo 4.1 ve Şekil 4.8’ de sunulmuştur.

Muameleler	N	Doz (mg/kg vücut ağ.)	Ülser alanı (mm <sup>2</sup> )	Antiülser etki (%) <sup>§</sup>
İND+SY	6		21.0±0.05d	48.7*
İND+SY	6		16.0±0.05c	60.9*
İND+FAM	6	25	7.0±0.05b	82.9
İND	6	25	40.9±0.2e	0
Sağlıklı	6	-	0.0±0.0a	-

**Tablo 4.1.** İND (25 mg/kg) tarafından oluşturulan gastrik hasar üzerine farklı dozlarda uygulanan SY (0.5 ve 1 ml/kg) ve FAM (25 mg/kg) etkilerini gösteren ölçüm sonuçları SY iki; FAM ise tek doz olarak verilmiş ve sonuçlar 6 rattaki (N) ölçümün ortalaması [ $\pm$  standart hata (SE)] olarak gösterilmiştir. Aynı harfe sahip olan değerler Duncan testine göre istatistiksel olarak farklıdır ( $\alpha=0.05$ ). İND grubu ile mukayese edildiğinde istatistiksel açıdan farklı gruplar ( $p<0.05$ ) \* ile gösterilmiştir. <sup>§</sup> % olarak İND' ye göre hasar alanlarındaki inhibisyon miktarını ifade etmektedir.



**Şekil 4.8.** İND (25 mg/kg) tarafından oluşturulan gastrik hasarlı dokudan (A) ve SY (1 ml) ile muamele edilmiş gruptan alınan (B) rat mideleri

Tablo 4.1' den görüldüğü üzere sadece musluk suyu verilen grup ülser oluşmazken İND ile muamele edilen midelerde  $40.9\pm 0.2$  mm<sup>2</sup>, FAM grubunda  $7.0\pm 0.05$  mm<sup>2</sup>, SY' nin 0.5 ve 1 ml/kg dozları ile muamele edilen gruplarda ise sırası ile

21.0±0.05, 16.0±0.05 mm<sup>2</sup> ülser alanı tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre SY ve FAM'ın İND ile oluşturulan ülseri bütün dozlarda önemli oranda (P<0.05) azaltmıştır (Tablo 4.1).

Şekil 4.8' den da çok net bir şekilde görülebileceği üzere İND grubunda meydana gelen ülser, uygulanan FAM ve SY' nin her iki dozu vasıtasıyla önemli oranda (p<0.05) azaltılmıştır. İND' nin meydana getirdiği ülser dikkate alındığında FAM' ın % 82.9 ve SY' nin 0.5 1 ml/kg dozlarının ise sırasıyla % 48.7, % 60.9 oranında ülseri engellediği belirlenmiştir.

## 4.2. Biyokimyasal Bulgular

Rat mideleri makroskopik olarak incelendikten sonra mide dokuları biyokimyasal incelemeler için -20 °C' de saklandı ve dokuların enzim aktiviteleri en geç üç gün içerisinde analiz edildi. Mide dokusu homojenatlarından elde edilen süpernatantlarda MPx, CAT ve GR enzim aktiviteleri ile LPO ve GSH miktarları literatürlere göre uygun metodlar kullanılarak tespit edildi.

### 4.2.1. MPx Aktivitesi Üzerine SY' nin Etkileri:

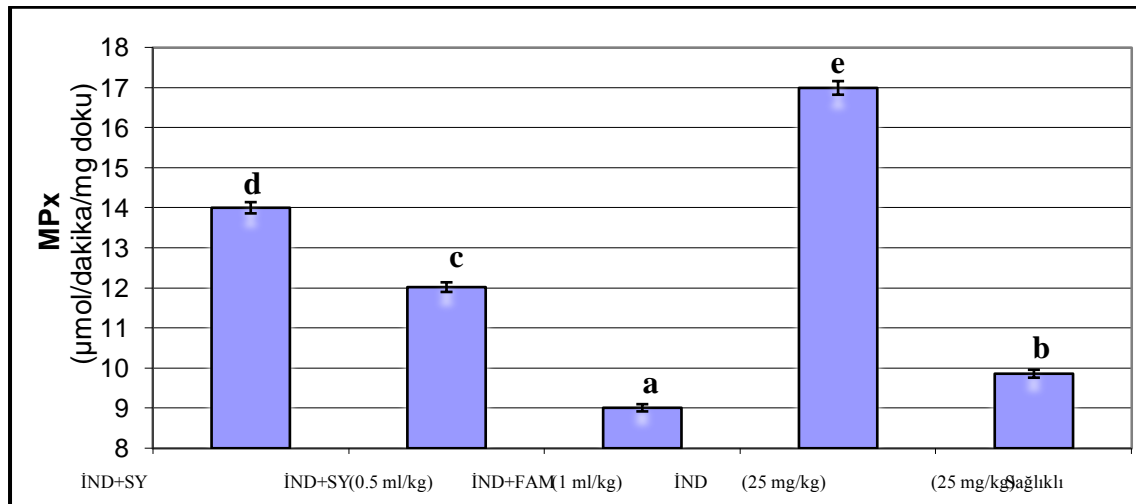
SY (0.5 ve 1 ml/kg), FAM, İND ve kontrol gruplarının mide dokularında belirlenen MPx aktivitelerini gösteren sonuçlar Tablo 4.2 ve Şekil 4.9' da gösterilmiştir. Numunelerin MPx aktiviteleri µmol/dakika/mg doku olarak tarif edilmiştir.

Tablo 4.2' den görüldüğü üzere MPx aktiviteleri sağlıklı grupta  $9.9 \pm 0.01$ , İND grubunda  $16.9 \pm 0.7$ , FAM grubunda  $9.01 \pm 0.06$  ve İND ile birlikte uygulanan SY' nin 0.5 ve 1 ml/kg dozları sırası ile  $14.0 \pm 0.05$  ve  $12.0 \pm 0.05$  olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre İND' nin önemli oranda (P<0.05) artırdığı MPx aktivitesini, İND ile birlikte uygulanan SY' nin ve FAM' ın önemli oranda azalttığı (P<0.05) tespit edilmiştir.

Gruplar	N	MPx ( $\mu\text{mol/dakika/mg}$ doku)	% Aktivite
İND+SY (0.5 ml)	6	14.0 $\pm$ 0.05d	141.4*
İND+SY (1 ml)	6	12.0 $\pm$ 0.05c	121.2*
İND+FAM (25 mg/kg)	6	9.0 $\pm$ 0.06a	91*
İND (25 mg/kg)	6	16.9 $\pm$ 0.7e	170.7*
Sağlıklı	6	9.9 $\pm$ 0.1b	100

**Tablo 4.2.** İND (25 mg/kg), SY (0.5 ve 1 ml/kg), FAM (25 mg/kg) ve kontrol gruplarından alınan mide dokularındaki MPx aktivitelerini gösteren sonuçlar. Sonuçlar, paralel altı ölçümün ortalaması ( $\pm$  standart sapma) olarak verilmiş ve  $p < 0.05$  seviyesinde istatistiksel olarak önemli kabul edilmiştir.

SY iki, FAM ise tek doz olarak verilmiş ve sonuçlar 6 rattaki (N) ölçümün ortalaması [ $\pm$  standart hata (SE)] olarak gösterilmiştir. Aynı harfe sahip olan değerler Duncan testine göre istatistiksel olarak farksızdır ( $\alpha=0.05$ ). İND grubu ile mukayese edildiğinde istatistiksel açıdan farklı gruplar ( $p<0.05$ ) \* ile gösterilmiştir. <sup>s</sup> % olarak İND' ye göre hasar alanlarındaki inhibisyon miktarını ifade etmektedir.



**Şekil 4.9.** İND (25 mg/kg), SY (0.5 ve 1 ml/kg), FAM (25 mg/kg) ve kontrol gruplarından alınan mide örneklerindeki MPx aktivitelerinin karşılaştırılmasını gösteren diyagram

Tablo 4.2 ve Şekil 4.9'dan de çok net bir şekilde görülebileceği üzere kontrol grubuna göre İND ile muamele sonrası meydana gelen MPx aktivitesindeki artışı ( $p<0.05$ ) İND ile birlikte uygulanan 1 ml/kg SY tarafından net bir şekilde azaltmış ve kontrol grubundaki seviyeye getirilmiştir ( $p>0.05$ ). Bu bulgular susam yağının her iki dozunun da MPx aktivitesi üzerine inhibisyon etkisine sahip olduğunu göstermektedir.

#### 4.2.2. LPO Miktarı Üzerine SY' nin Etkileri:

SY (0.5 ve 1 ml/kg), FAM, İND ve kontrol gruplarının mide dokularında LPO miktarını gösteren sonuçlar Tablo 4.3 ve Şekil 4.10' da gösterilmiştir. Numunelerin LPO miktarları, nmol/ g doku olarak tarif edilmiştir.

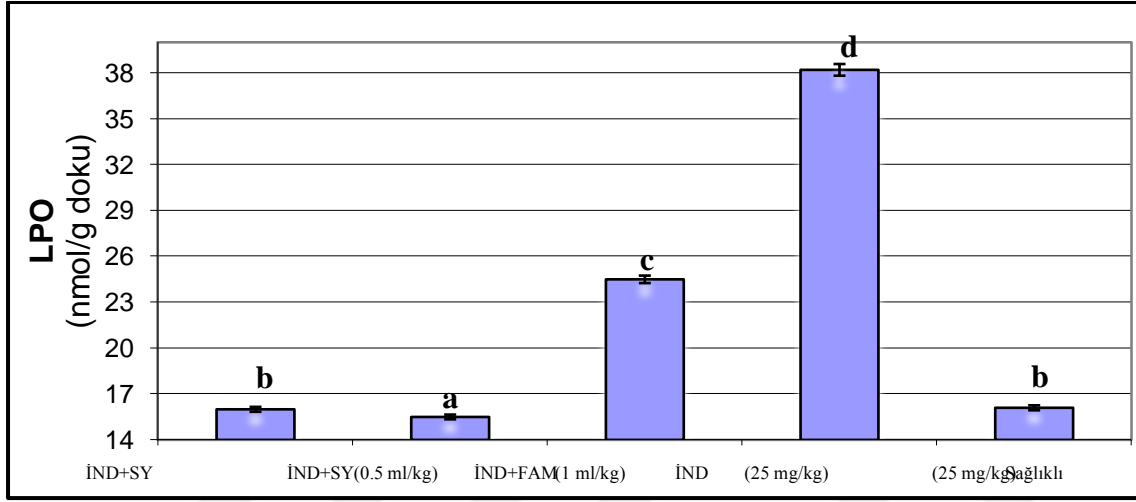
Tablo 4.3' den görüldüğü üzere LPO seviyeleri sağlıklı grupta  $16.0 \pm 0.04$ , İND grubunda  $38.2 \pm 0.02$ , FAM grubunda  $24.5 \pm 0.2$  ve İND ile birlikte uygulanan SY' nin 0.5 ve 1 ml/kg dozları sırası ile  $16.0 \pm 0.04$  ve  $15.5 \pm 0.02$  olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre İND' nin önemli oranda ( $P<0.05$ ) artırdığı LPO seviyesini, İND ile birlikte uygulanan SY' nin ve FAM' ın önemli oranda azalttığı ( $P<0.05$ ) tespit edilmiştir.

Gruplar	N	LPO (nmol/g doku)	%Aktivite
İND+SY (0.5 ml)	6	$16.0 \pm 0.04b$	99.4*
İND+SY (1 ml)	6	$15.5 \pm 0.02a$	96.3*
İND+FAM (25 mg/kg)	6	$24.5 \pm 0.2c$	152.2*
İND (25 mg/kg)	6	$38.2 \pm 0.02d$	237.3*
Sağlıklı	6	$16.1 \pm 0.04b$	100

**Tablo 4.3.** İND (25 mg/kg), SY (0.5 ve 1 ml/kg), FAM (25 mg/kg) ve kontrol gruplarından alınan mide dokularındaki LPO seviyelerini gösteren sonuçlar. Sonuçlar, paralel altı ölçümün ortalaması ( $\pm$  standart sapma) olarak verilmiş ve  $p < 0.05$  seviyesinde istatistiksel olarak önemli kabul edilmiştir.

SY iki, FAM ise tek doz olarak verilmiş ve sonuçlar 6 rattaki (N) ölçümün ortalaması [ $\pm$  standart hata (SE)] olarak gösterilmiştir. Aynı harfe sahip olan değerler Duncan testine göre istatistiksel olarak

farksızdır ( $\alpha=0.05$ ). İND grubu ile mukayese edildiğinde istatistiksel açıdan farklı gruplar ( $p<0.05$ ) \* ile gösterilmiştir. § % olarak İND' ye göre hasar alanlarındaki inhibisyon miktarını ifade etmektedir.



**Şekil 4.10.** İND (25 mg/kg), SY (0.5 ve 1 ml/kg), FAM (25 mg/kg) ve kontrol gruplarından alınan mide örneklerindeki LPO seviyelerinin karşılaştırılmasını gösteren diyagram

Tablo 4.3 ve Şekil 4.10' dan de çok net bir şekilde görülebileceği üzere kontrol grubuna göre İND ile muamele sonrası meydana gelen LPO seviyesindeki artışı ( $p<0.05$ ) İND ile birlikte uygulanan 0.5 ve 1 ml/kg SY tarafından net bir şekilde azaltmış ve kontrol grubundaki seviyeye getirilmiştir ( $p>0.05$ ). Bu bulgular SY' nin her iki dozunun da LPO seviyesi üzerine inhibisyon etkisine sahip olduğunu göstermektedir.

#### 4.2.3. CAT Aktivitesi Üzerine SY' nin Etkileri

SY (0.5 ve 1 ml/kg), FAM, İND ve kontrol gruplarının mide dokularında belirlenen CAT aktivitelerini gösteren sonuçlar Tablo 4.4 ve Şekil 4.11’de gösterilmiştir.

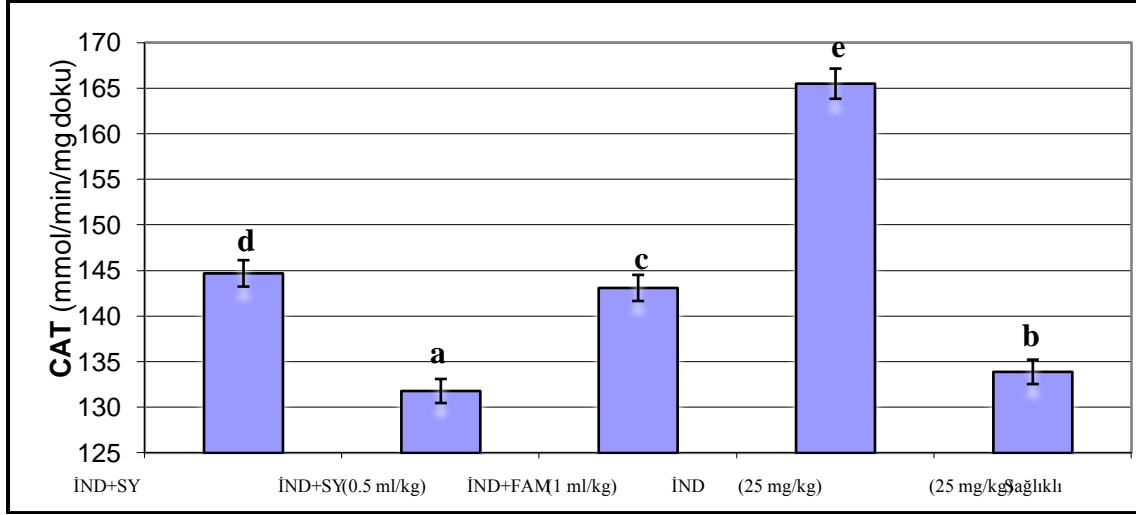
Tablo 4.4’ den görüldüğü üzere CAT aktiviteleri sağlıklı grupta  $133.09 \pm 0.3$ , İND grubu midelerinde  $165.5 \pm 0.2$ , FAM grubunda  $143.1 \pm 0.3$  ve İND ile birlikte uygulanan SY’ nin 0.5 ve 1 ml/kg dozları ile muamele edilen gruplarda ise sırası ile  $144.7 \pm 0.2$  ve  $131.8 \pm 0.3$  olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre İND’ nin önemli

Gruplar	N	CAT (mmol/dakika/ mg doku)	% Aktivite
İND+SY (0.5 ml)	6	144.7±0.2d	108.1*
İND+SY (1 ml)	6	131.8±0.3a	98.4*
İND+FAM (25 mg/kg)	6	143.1±0.3c	106.9*
İND (25 mg/kg)	6	165.5±0.2e	123.6*
Sağlıklı	6	133.9±0.3b	100

oranda ( $P<0.05$ ) artırdığı CAT aktivitesini, İND ile birlikte uygulanan SY’ nin ve FAM’ in önemli oranda azalttığı ( $P<0.05$ ) tespit edilmiştir.

**Tablo 4.4.** İND (25 mg/kg), SY (0.5 ve 1 ml/kg), FAM (25 mg/kg) ve kontrol gruplarından alınan mide dokularındaki CAT aktivitelerini gösteren sonuçlar. Sonuçlar, paralel altı ölçümün ortalaması ( $\pm$  standart sapma) olarak verilmiş ve  $p < 0.05$  seviyesinde istatistiksel olarak önemli kabul edilmiştir.

SY iki, FAM ise tek doz olarak verilmiş ve sonuçlar 6 rat’taki (N) ölçümün ortalaması [ $\pm$  standart hata (SE)] olarak gösterilmiştir. Aynı harfe sahip olan değerler Duncan testine göre istatistiksel olarak farksızdır ( $\alpha=0.05$ ). İND grubu ile mukayese edildiğinde istatistiksel açıdan farklı gruplar ( $p<0.05$ ) \* ile gösterilmiştir. <sup>§</sup> % olarak İND’ ye göre hasar alanlarındaki inhibisyon miktarını ifade etmektedir.



**Şekil 4.11.** İND (25 mg/kg), SY (0.5 ve 1 ml/kg), FAM (25 mg/kg) ve kontrol gruplarından alınan mide örneklerindeki CAT aktivitelerinin karşılaştırılmasını gösteren diyagram

Tablo 4.4 ve Şekil 4.11' den de çok net bir şekilde görülebileceği üzere kontrol grubuna göre İND ile muamele sonrası meydana gelen CAT aktivitesinde ki artışı ( $p < 0.05$ ) İND ile birlikte uygulanan 1 ml/kg SY tarafından net bir şekilde azaltmış ve kontrol grubundaki seviyeye getirilmiştir ( $p > 0.05$ ). Bu bulgular SY' nin her iki dozunun da CAT aktivitesi üzerine inhibisyon etkisine sahip olduğunu göstermektedir.

#### 4.2.4. GSH Seviyesi Üzerine SY' nin Etkileri:

SY (0.5 ve 1 ml/kg), FAM, İND ve kontrol gruplarının mide dokularında GSH miktarını gösteren sonuçlar Tablo 4.5 ve Şekil 4.12' de gösterilmiştir. Numunelerin GSH miktarları, nmol/mg doku olarak tarif edildi.

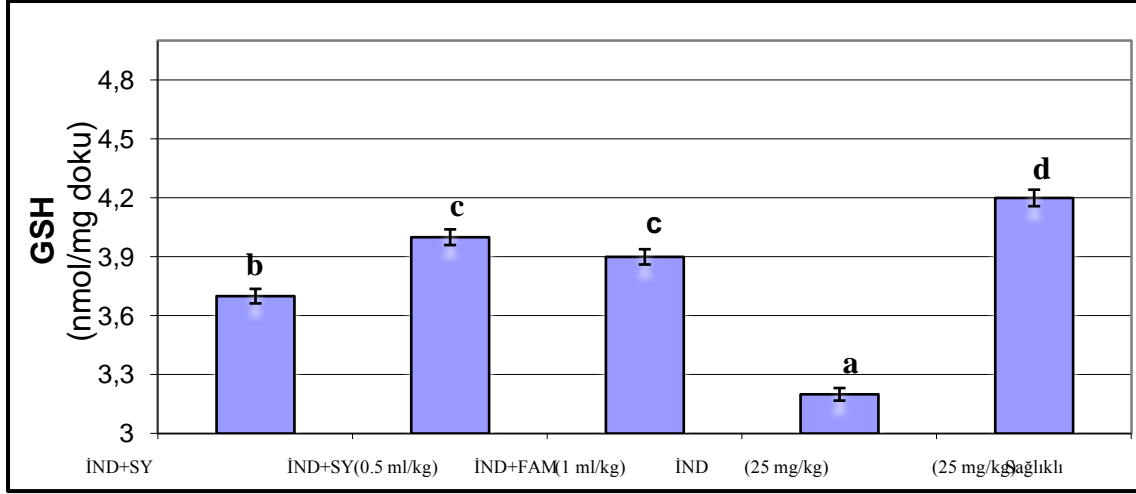
Tablo 4.5' den görüldüğü üzere GSH seviyeleri sağlıklı grupta  $4.2 \pm 0.02$ , İND grubunda  $3.2 \pm 0.03$ , FAM grubunda  $3.9 \pm 0.03$  ve İND ile birlikte uygulanan SY' nin 0.5 ve 1 ml/kg dozları sırası ile  $3.7 \pm 0.02$  ve  $4.0 \pm 0.04$  olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre İND' nin önemli oranda ( $P < 0.05$ ) azalttığı LPO seviyesini, İND ile birlikte uygulanan SY' nin ve FAM' ın arttırdığı ( $P < 0.05$ ) tespit edilmiştir.



Gruplar	N	GSH (nmol/mg doku)	% Aktivite
İND+SY (0.5 ml)	6	3.7±0.02b	88.1*
İND+SY (1 ml)	6	4.0±0.04c	95.2*
İND+FAM (25 mg/kg)	6	3.9±0.03c	92.9*
İND (25 mg/kg)	6	3.2±0.03a	76.2*
Sağlıklı	6	4.2±0.02d	100

**Tablo 4.5.** İND (25 mg/kg), SY (0.5 ve 1 ml/kg), FAM (25 mg/kg) ve kontrol gruplarından alınan mide dokularındaki GSH seviyelerini gösteren sonuçlar. Sonuçlar, paralel altı ölçümün ortalaması ( $\pm$  standart sapma) olarak verilmiş ve  $p < 0.05$  seviyesinde istatistiksel olarak önemli kabul edilmiştir.

SY iki, FAM ise tek doz olarak verilmiş ve sonuçlar 6 rattaki (N) ölçümün ortalaması [ $\pm$  standart hata (SE)] olarak gösterilmiştir. Aynı harfe sahip olan değerler Duncan testine göre istatistiksel olarak farksızdır ( $\alpha=0.05$ ). İND grubu ile mukayese edildiğinde istatistiksel açıdan farklı gruplar ( $p<0.05$ ) \* ile gösterilmiştir. <sup>§</sup> % olarak İND' ye göre hasar alanlarındaki inhibisyon miktarını ifade etmektedir.



**Şekil 4.12.** İND (25 mg/kg), SY (0.5 ve 1 ml/kg), FAM (25 mg/kg) ve kontrol gruplarından alınan mide örneklerindeki GSH seviyelerinin karşılaştırılmasını gösteren diyagram

Tablo 4.5 ve Şekil 4.12'den de çok net bir şekilde görülebileceği üzere kontrol grubuna göre İND ile muamele sonrası meydana gelen GSH seviyesindeki azalışı ( $p < 0.05$ ) İND ile birlikte uygulanan 0.5 ve 1 ml/kg SY tarafından net bir şekilde artırılmış ve kontrol grubundaki seviyeye getirilmiştir ( $p > 0.05$ ). Bu bulgular SY' nin her iki dozunun da GSH seviyesi üzerine inhibisyon etkisine sahip olduğunu göstermektedir.

#### 4.2.5. GR Aktivitesi Üzerine SY' nin Etkileri:

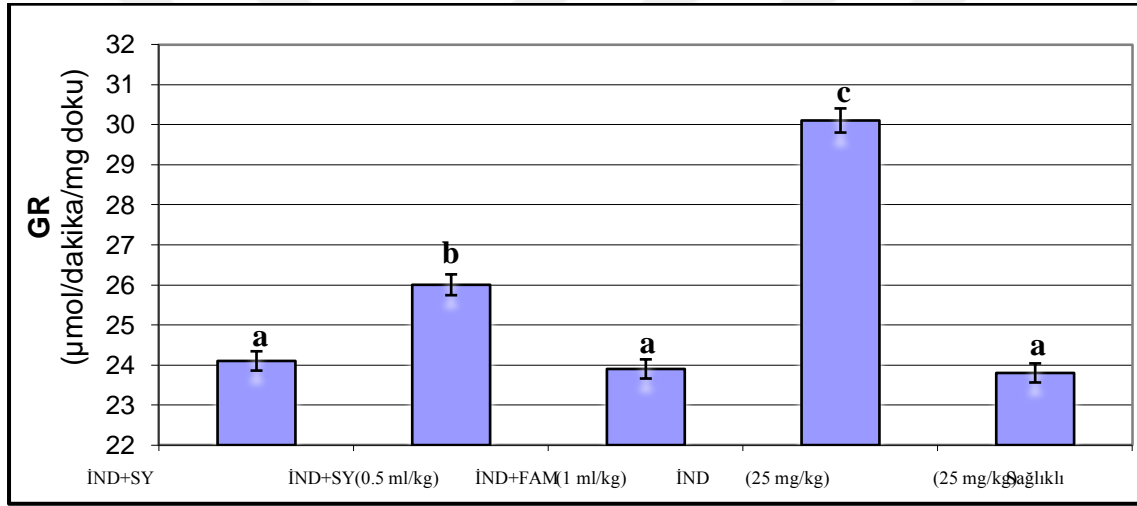
SY (0.5 ve 1 ml/kg), FAM, İND ve kontrol gruplarının mide dokularında belirlenen GR aktivitelerini gösteren sonuçlar Tablo 4.6 ve Şekil 4.13' de gösterilmiştir. Numunelerin GR miktarları,  $\mu\text{mol/dakika/mg doku}$  olarak tarif edildi.

Tablo 4.6' dan görüldüğü üzere GR aktiviteleri sağlıklı grupta  $23.8 \pm 0.1$ , İND grubunda  $30.1 \pm 0.1$ , FAM grubunda  $23.9 \pm 0.1$  ve İND ile birlikte uygulanan SY' nin 0.5 ve 1 ml/kg dozları sırası ile  $24.1 \pm 0.05$  ve  $26.0 \pm 0.2$  olarak tespit edilmiştir. Bu

sonuçlara göre İND' nin önemli oranda ( $P<0.05$ ) artırdığı GR aktivitesini, İND ile birlikte uygulanan SY' nin ve FAM' ın önemli oranda azalttığı ( $P<0.05$ ) tespit edilmiştir.

**Tablo 4.6.** İND (25 mg/kg), SY (0.5 ve 1 ml/kg), FAM (25 mg/kg) ve kontrol gruplarından alınan mide dokularındaki GR aktivitelerini gösteren sonuçlar. Sonuçlar, paralel altı ölçümün ortalaması ( $\pm$  standart sapma) olarak verilmiş ve  $p < 0.05$  seviyesinde istatistiksel olarak önemli kabul edilmiştir.

SY iki, FAM ise tek doz olarak verilmiş ve sonuçlar 6 rattaki (N) ölçümün ortalaması [ $\pm$  standart hata (SE)] olarak gösterilmiştir. Aynı harfe sahip olan değerler Duncan testine göre istatistiksel olarak farksızdır ( $\alpha=0.05$ ). İND grubu ile mukayese edildiğinde istatistiksel açıdan farklı gruplar ( $p<0.05$ ) \* ile gösterilmiştir. <sup>s</sup> % olarak İND' ye göre hasar alanlarındaki inhibisyon miktarını ifade etmektedir.



Gruplar	N	GR (µmol/dakika/mg doku)	%Aktivite
İND+SY (0.5 ml)	6	24.1±0.05a	101.3*
İND+SY (1 ml)	6	26.0±0.2b	109.2*
İND+FAM (25 mg/kg)	6	23.9±0.1a	100.4*
İND (25 mg/kg)	6	30.1±0.1c	126.5*
Sağlıklı	6	23.8±0.1a	100

**Şekil 4.13.** İND (25 mg/kg), SY (0.5 ve 1 ml/kg), FAM (25 mg/kg) ve kontrol gruplarından alınan mide örneklerindeki GR aktivitelerinin karşılaştırılmasını gösteren diyagram

Tablo 4.6 ve Şekil 4.13' den de çok net bir şekilde görülebileceği üzere kontrol grubuna göre İND ile muamele sonrası meydana gelen GR aktivitesindeki artışı ( $p<0.05$ ) İND ile birlikte uygulanan 0.5 ve 1 ml/kg SY tarafından net bir şekilde azaltmış ve kontrol grubundaki seviyeye getirilmiştir ( $p>0.05$ ). Bu bulgular SY' nin özellikle 0.5 ml/kg' lık dozunun GR aktivitesi üzerine daha fazla inhibisyon etkisine sahip olduğunu göstermektedir.



## 5. TARTIŞMA

Temel besin maddelerinden olan ve insan beslenmesinde önemli bir yere sahip olan yağlar, insan organizması için gerekli olan ve insanların yaşamsal faaliyetlerinin sürdürülebilmesinde beslenme zinciri içerisinde mutlaka yer alması gereken ana besin maddelerindendir.

Eski çağlardan bu yana tıbbi ve aromatik bitkilere karşı büyük ilgi duyulmuş ve bu bitkilerin yaydığı kokuları, verdiği tatları sağlayıp muhafaza edebilme işi yoğun uğraşlara konu olmuştur. Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de çeşitli bitkiler yıllardan beri halk arasında çay, baharat ve tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır.<sup>49,57</sup>

Mevcut çalışmada da; tohumlarında bulunan yüksek miktar ve kalitedeki yağı ile susam (*Sesamum indicum* L.) yağının, ülserin önlenmesinde oksidatif süreç üzerindeki etkilerinin olup olmadığı araştırılmıştır.

SY' nin özelliklerinden en önemisi de tokoferol içeriğidir. SY' de toplam tokoferol miktarı 294-528 mg/kg arasında değişmektedir.<sup>54</sup> Yağda eriyebilen en güçlü doğal antioksidanlar olan tokoferoller, hem yağın vitamin E olarak besleme değerini hem de sesamin ve sesamolun gibi antioksidan değerini artırmaktadır.

Susam tohumu ve yağı yaşlanmayı geciktirici ve bazı hastalıkları önleyici etkisi nedeniyle birçok ülkede fonksiyonel gıda olarak kullanılmaktadır. Susam tohumu ve yağında bulunan antioksidanlar, gıda ürünlerini stabilize etme etkisi yanında lipid peroksidasyonunun fizyolojik baskılanmasında da etkin rol oynar. Canlı sistemler kullanılarak yapılan çalışmalarda, lipid peroksidasyonunu baskılamada susamda bulunan fenolik lignanların etkisinin tokoferollere eşdeğer ya da daha yüksek bulunmuştur.<sup>179</sup>

Araştırmamızda İND ile muamele edilen rat midelerinde meydana gelen ülserli doku hasarını (Tablo 4.1, Şekil 4.8), SY' nin 0.5 ve 1 ml/kg dozlarda İND' ye göre sırasıyla % 48.7 ve 60.9 ( $p<0.05$ ) azalttığı gözlenmiştir. Diğer taraftan, FAM' ın İND ile oluşturulan ülseri % 82.9 oranında ( $p<0.05$ ) azalttığı tespit edilmiştir (Tablo 4.1 ve Şekil 4.8). SY' nin uygulanan dozları arasında en etkili doz 1 ml/kg olup FAM ile mukayese edildiğinde ülser önleyici etkisinin fazla olduğu görülmektedir.

Gastrik mukozal dokuların içerisindeki nötrofil salınımı MPx enzimi ile kontrol altında tutulmaya çalışılır. MPx deneysel olarak oluşturulmuş çeşitli gastrik yaralarda nötrofil salınımının bir göstergesi olarak kullanılır.<sup>180, 181</sup> Gastrik mukozal dokuların içerisindeki nötrofil salınımı çeşitli gastrik lezyonların patolojisinde tehlikeli bir oluşumdur.<sup>181, 182</sup> Nötrofil salınımının artması durumunda MPx ve ROS' ları içeren doku zararlılarının hücre içerisinde dışarıya doğru salınımında bir artışın olduğu artık iyi bilinmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar da mide dokusunda oluşan gastrik mukozal hasarların MPx aktivitesini artırdığını göstermektedir.<sup>181, 183</sup>

Tablo 4.2 ve Şekil 4.9' dan da görüldüğü üzere kontrol grubunda ki MPx aktivitesi  $9.9\pm 0.1$  ve İND grubu midelerinde ise  $16.9\pm 0.7$  olarak ölçülmüştür. İND muamelesi sonucu mide dokusundaki yüksek MPx aktivitesi gastrik dokuya nötrofil salınımının arttığını göstermektedir. Bu enzimin aktivitesi İND ile birlikte uygulanan

FAM ve SY' nin de tüm dozları tarafından önemli oranda azaltılmıştır (p<0.05). SY grubunun neredeyse sağlıklı gruba yakın etki gösterdiği bulunmuştur.

İND' nin gastrik hasar oluşturmasının sebepleri arasında; mide dokusundaki sitoprotektif PG' lerin sentezini inhibe etmesi.<sup>184</sup> LPO' yu artırması,<sup>37, 185</sup> doku glukoz seviyesini azaltması,<sup>186</sup> doku glukoz seviyesini azaltması,<sup>186</sup> MPx aktivitesini ve NOS aktivitesini artırması<sup>187, 188</sup> sayılabilir. İND, etanol ve diğer ajanlar ile oluşturulan mukozal hasarların ROS' lar ile ilişkili olduğu da literatürde kaydedilmiştir.<sup>189</sup> Literatürde rapor edilmiş çok sayıda araştırmada İND gibi antiinflamatuvar ilaçların hem prooksidan hem de lipid peroksit oluşturucu etkilerinin olduğu ve bu tür ilaçların mukozal hücrelerin antioksidan sistemlerini süratle bloke ederek ROS' ların oluşumuna ve bu reaktif maddelerin oluşumunun da LPO' ya neden olabileceği öne sürülmüştür.<sup>47, 190</sup> Oksidatif hasarlar nedeni ile kontrol edilemeyen LPO bir süre sonra proteinlerde oksidasyona ve sonunda da hücre ölümüne yol açabilmektedir. İND ile oluşturulan gastrik hasarlı dokularda LPO miktarının arttığı üzerine çok sayıda rapor mevcuttur.<sup>26, 31, 117, 119, 158, 191, 192</sup>

Bizim bulgularımızda da İND ile muamele sonrası LPO miktarı önemli oranda arttığı belirlenmiştir (p<0.05). Bu sonuçlar bize İND' nin mide dokusunda oksidatif stresi artırarak LPO' ya neden olduğunu ve bununda gastrik hasara neden olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan, İND ile birlikte uygulanan SY' nin tüm dozları önemli oranda LPO miktarını azaltmıştır (p<0.05) Pozitif kontrol olarak kullanılan FAM grubu ile karşılaştırıldığında ise SY' nin her iki dozu da LPO seviyesini neredeyse sağlıklı gruba yaklaştırmış olduğu görülmektedir (Tablo 4.3 ve Şekil 4.10).

İND vasıtasıyla oluşturulan gastrik hasarın en önemli sebebi olarak PG sentezinin engellenmesi gösterilmektedir<sup>7, 193, 194</sup> PG sentezini gerçekleştiren PG-H sentaz, hem COX hem de hidroperoksidaz aktivitesine sahiptir. İND, gastrik toksisitesinin COX enzimini inhibe etme yeteneğine bağlı olduğu düşünülmektedir. Fakat PG-H sentazın gastrik toksisite ile ilgili olan aktivitesinin COX aktivitesinin yanı sıra peroksidaz aktivitesine bağlı olabileceği de göz ardı edilmemelidir.<sup>194</sup> Zira İND ortamda mevcut olan bir peroksidaz enzimi vasıtasıyla hidrojen peroksit ile reaksiyona girerek süperoksit oluşturabilir, süperoksit ise membranlarda hasara yol açabilir. PG-H sentaz, hidrojen peroksit varlığında İND tarafından inhibe edilmez, PG-H sentazın peroksidaz aktivitesi göstermesi İND tarafından inhibe edilmediğine işaret eder.<sup>195</sup> İND, hidrojen peroksit varlığında LPO' yu uyaracak şekilde aksiyon göstererek ülser oluşturabilir. Bu bilgiler İND ile rat midelerinde ülser oluşumunun mekanizmasının COX enzimleri inhibisyonunun yanı sıra LPO yoluyla da olabileceğinin göz ardı edilmemesi gerektiğini doğrulamaktadır. Bu nedenle İND' nin LPO' ya yönelmemesi için ortamdaki H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' nin harcanması gerekir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, CAT enziminin substratı olduğu için CAT aktivitesinde meydana gelen artış daha fazla H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' nin suya dönüştürülmesi anlamına gelecek ve ortamda harcanacak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> olmadığı için İND, LPO' ya yönelmeyecektir.

Antioksidan savunma sisteminin diğer önemli bir üyesi ise CAT enzimidir. CAT enzimi dokularda oluşan hidrojen peroksiti, su ve oksijen molekülüne dönüştürür. Araştırmamızda İND tarafından önemli oranda artırılan CAT aktivitesinin SY' nin tüm dozları ve FAM tarafından yeniden azaltıldığı tespit edilmiştir (p>0.05) (Tablo 4.4 ve Şekil 4.11). Bu bilgiler antiülser etkide CAT enziminin de önemli bir rol oynadığını göstermektedir.

Çeşitli kimyasal ajanların çoğu GSH ve GSH-bağlı enzimlerin konsantrasyonunu artırarak etki gösterirler.<sup>196-198</sup> Diğer yandan bazı kemopreventif ajanların çeşitli dokularda GSH ve GSH-bağlı enzimleri uyardığı da belirlenmiştir.<sup>199</sup> Özellikle GPx ve GST gibi faz II enzimlerinin uyarıcıları potansiyel kemopreventif ajanlar olarak düşünülmektedir.<sup>200</sup> Çeşitli dokulardaki GSH ve GSH-bağlı enzimler (GPx, GST ve GGT) antioksidan ve detoksifikasyon özelliklerinden dolayı kemoprevensiyon biomarkırları olarak dikkate alınırlar.<sup>201, 202</sup>

Şekil 4.5 ve Tablo 4.12' den görülebileceği gibi GSH miktarı İND tarafından önemli oranda azaltılmıştır ( $P<0.05$ ). İND ile birlikte uygulanan SY' nin bütün dozları GSH miktarını artırmış ve kontrol seviyesine getirmiştir ( $P<0.05$ ). Aynı şekilde pozitif kontrol grup olan FAM, GSH miktarını kontrol seviyesine yükseltmiştir ( $P<0.05$ ). Bu bulgular İND tarafından meydana getirilen gastrik hasarın temel sebeplerinden birisinin gastrik GSH düzeyinin azaltılması olduğunu göstermektedir. Bulgularımız literatürlerdeki bulgular ile tam bir uyum içerisindedir.<sup>171, 193, 203</sup>

Antioksidan savunma sisteminin diğer önemli bir bileşeni ise GR enzimi olup bu enzim NADPH'ı kullanarak GSSG' yi GSH' ye dönüştürür.<sup>204</sup> Mevcut araştırma sonuçlarımız İND' nin sağlıklı dokuya nazaran GR aktivitesini artırdığını göstermektedir (Tablo 4.6 ve Şekil 4.13). İND ile muamele edilmiş dokularda GSH miktarındaki azalma (Tablo 4.5 ve Şekil 4.12) dokulardaki GSSG/GSH oranını korumak üzere GR aktivitesindeki artış ile sonuçlanmış olabilir. Bununla beraber, SY' nin muamelesi ile bu enzimin aktivitesindeki artış yeniden tersine döndürülmüştür (Tablo 4.6 ve Şekil 4.13). Bu sonuçlar literatür ile de uyumlu olup İND ile muamele edilmiş mide dokusunda GR aktivitesinin artışı belirtilmiştir.<sup>185, 205, 206</sup>

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak bu çalışmada;

1) İND ile oluşturulan ülser modelinde susam yağının gastroprotektif etkisin belirlenmiştir.

3) İND ile oluşturulan ülser modeli üzerine reaktif oksijen türlerinde etkin rol oynadığı hipotezi; susam yağının GR aktivitesini ve GSH miktarını artırıcı; MPx ve CAT aktivitesi ve LPO miktarı üzerine azaltıcı etki çok net bir şekilde tesbit edilmek suretiyle desteklendi.

4) Susam yağının gastroprotektif etkisinin antioksidan savunma sistemi üzerine dokuların lehine olacak şekilde modölatör etkiye sahip olmasından kaynaklanabileceği hipotezine dayandırıldı.

5) Bu çalışmadan elde edilen bulguların “İND ile oluşturulan ülser modelinde reaktif oksijen türlerinin etkin rol oynadığı” hipotezini desteklediği ve antiülserojenik süreçte NOS gibi önemli parametrelerin etkileri araştırılarak ve başka ülser modellerinde değerlendirilebileceği sonucuna varıldı.



## KAYNAKLAR

1. Feldman M FL, Sleisenger MH. . *Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease*. WB Saunders Co 6th ed. Baskı. Philadelphia, 2002.
2. Song-Ze D S-KL, Siu-Tsan Y, Benjamin Chen-Yu W, Wei-Mo H, Joanna H, Xin G, Chi-Hin C. . Prostaglandin, tumor necrosis factor a and neutrophils: causative relationship in indomethacin-induced stomach injuries. *European Journal of Pharmacology*, 1998, 348: 257-263.
3. Sen T ASC, Pal S, Sen S, Chaudhuri AKN. Effect of dothiepin on gastric ulceration mediated by lipid derived eicosanoids. *Life Sciences*, 2000, 66 325-330.
4. Wallace JL, Granger DN. Pathogenesis of NSAID gastropathy: are neutrophils the culprits? *Trends in Pharmacological Sciences*, 1992, 13: 129-131.
5. Banerjee S, Hawksby C, Miller S, Dahill S, Beattie AD, McColl KE. Effect of *Helicobacter pylori* and its eradication on gastric juice ascorbic acid. *Gut*, 1994, 35: 317-322.

6. Davies GR, Simmonds NJ, Stevens TR, Sheaff MT, Banatvala N, Laurenson IF, Blake DR, Rampton DS. *Helicobacter pylori* stimulates antral mucosal reactive oxygen metabolite production in vivo. *Gut*, 1994, 35: 179-185.
7. Whittle BJR. Temporal Relationship between Cyclooxygenase Inhibition, as Measured by Prostacyclin Biosynthesis, and the Gastrointestinal Damage Induced by Indomethacin in the Rat. *Gastroenterology*, 1981, 80: 94-98.
8. G. K. Aspirin induced gastric mucosal injury: lessons learned from animal model. *Gastroenterology*, 1989, 96: 606-614.
9. Hudson N HA, Cole AT, Jones PD, Howley CJ. . Mechanism of gastric and duodenal damage and protection. *Hepatogastroenterol*, 1992, 39 (Suppl. 1): 31-36.
10. Ito S LE. Morphology of rat gastric mucosal damage, defence and restitution in the presence of luminal ethanol. *Gastroenterology*, 1985, 88: 250-260.
11. Hudson N ES, Edwards T. Elevation of gastric mucosal leukotriene B4 levels of patients on long-standing NSAID therapy. *Gastroenterology*, 1991, 100: A86.
12. Lau AT, Graham GG, Day RO, Perry MA. Effect of aspirin on ulcer site blood flow in cat stomachs. *American Journal of Physiology*, 1992, 263: G155-160.
13. Lanza LL, Walker AM, Bortnichak EA, Dreyer NA. Peptic ulcer and gastrointestinal hemorrhage associated with nonsteroidal anti-inflammatory drug use in patients younger than 65 years. A large health maintenance organization cohort study. *Archives of Internal Medicine*, 1995, 155: 1371-1377.
14. Taha AS, Sturrock RD, Russell RI. Mucosal erosions in longterm non-steroidal anti-inflammatory drug users: predisposition to ulceration and relation to *Helicobacter pylori*. *Gut*, 1995, 36: 334-336.

15. Isenberg JI MQK, Laine L, Walsh JH. . *Acid peptic disorders*. In: Yamada, T. (Ed.) Baski. Philadelphia, 1995.
16. Das D BD, Bhattacharjee M, Banerjee RK. Hydroxyl radical is the major causative factor in stress-induced gastric ulceration. *Free Radical Biology & Medicine*, 1997, 23: 8-18.
17. Takuji M SH, Hirose F, Doteuchi M. . Effects of antioxidative drugs on gastric damage induced by ethanol in rats. *Life Sciences*, 1987, 41: 755-763.
18. Hung CR, Neu SL. Acid-induced gastric damage in rats is aggravated by starvation and prevented by several nutrients. *Journal of Nutrition*, 1997, 127: 630-636.
19. 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.
20. Hye Kyung J KEL, Sang Hui C, Sun Young Y. Helicobacter pylori infection reactive oxygen species activity, mucosal lipoperoxidation and glutathione in helicobacter pylori-infected gastric mucosa. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2001, 16: 1336-1340.
21. Alarcon de la Lastra C, Barranco MD, Martin MJ, Herrerias J, Motilva V. Extra-virgin olive oil-enriched diets reduce indomethacin-induced gastric oxidative damage in rats. *Digestive Diseases and Sciences*, 2002, 47: 2783-2790.
22. Itoth M GP. Role of oxygen derived free radicals in hemorrhagic shock induced gastric lesions in the rat. *Gastroenterology*, 1985, 88: 1165-1167.
23. Das D, Banerjee RK. Effect of stress on the antioxidant enzymes and gastric ulceration. *Mol Cell Biochem*, 1993, 125: 115-25.

24. O. H. Mechanism of free radicals in gastrointestinal and liver diseases. *134*, 1993, *J Clinical Biol*: 675- 683.
25. Lutnicki K, Wrobel J, Ledwozyw A, Trebas-Pietras E. The effect of ethyl alcohol on peroxidation processes and activity of antioxidant enzymes in rat's gastric mucosa. *Archivum Veterinarium Polonicum*, 1992, 32: 117-123.
26. Sandip K BS, Pakrashi C, Pakrashi A. . The role of antioxidant activity of *Phyllanthus emblica* fruits on prevention from indomethacin induced gastric ulcer. *Journal of Ethnopharmacology*, 2000, 70: 171-176.
27. DM. MC. Mechanism of mucosal injury and healing: the role of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 1995, 30: Suppl 208: 24-29.
28. Villegas I, Martin MJ, La Casa C, Motilva V, Alarcon de la Lastra C. Effects of meloxicam on oxygen radical generation in rat gastric mucosa. *Inflammation Research*, 2000, 49: 361-366.
29. Sánchez S MM, Ortiz P, Motilva V, Alarcón de la Lastra C. . Effects of dipyrrone on inflammatory infiltration and oxidative metabolism in gastric mucosa. Comparison with acetaminophen and diclofenac. *Digestive Diseases and Sciences*, 2001, 47: 1389-1398.
30. Van der Vliet A, Bast A. Role of reactive oxygen species in intestinal diseases. *Free Radical Biology & Medicine*, 1992, 12: 499-513.
31. Yoshikawa T, Naito Y, Kishi A, Tomii T, Kaneko T, Inuma 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.

32. Ukawa H, Yamakuni H, Kato S, Takeuchi K. Effects of cyclooxygenase-2 selective and nitric oxide-releasing nonsteroidal antiinflammatory drugs on mucosal ulcerogenic and healing responses of the stomach. *Digestive Diseases and Sciences*, 1998, 43: 2003-2011.
33. Halliwell BJ GJ. *Free radicals in biology and medicine*. Baskı. Oxford, Clarendon Pres, 1989.
34. 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.
35. Yamasaki K, Ishiyama H, Imaizumi T, Kanbe T, Yabuuchi Y. Effect of OPC-12759, a novel antiulcer agent, on chronic and acute experimental gastric ulcer, and gastric secretion in rats. *Japanese Journal of Pharmacology*, 1989, 49: 441-448.
36. 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.
37. Naito Y, Yoshikawa T, Matsuyama K, Nishimura S, Yagi N, Kondo M. Effects of free radical scavengers on indomethacin-induced aggravation of gastric ulcer in rats. *Digestive Diseases and Sciences*, 1995, 40: 2019-2021.
38. Pohle T, Brzozowski T, Becker JC, Van der Voort IR, Markmann A, Konturek SJ, Moniczewski A, Domschke W, Konturek JW. Role of reactive oxygen metabolites in aspirin-induced gastric damage in humans: gastroprotection by vitamin C. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 2001, 15: 677-687.
39. Tanaka J, Yuda Y. Lipid peroxidation in gastric mucosal lesions induced by indomethacin in rat. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 1996, 19: 716-720.

40. Anderson D. Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage. *Mutation Research*, 1996, 350: 103-108.
41. Bast A, Haenen GR, Doelman CJ. Oxidants and antioxidants: state of the art. *American Journal of Medicine*, 1991, 91: 2S-13S.
42. Conner EM, Grisham MB. Inflammation, free radicals, and antioxidants. *Nutrition*, 1996, 12: 274-7.
43. Halliwell B, Aeschbach R, Loliger J, Aruoma OI. The characterization of antioxidants. *Food and Chemical Toxicology*, 1995, 33: 601-617.
44. G. Ö. *Reaktif Oksijen Partikülleri (ROP)*. Baskı. İstanbul, İstanbul Roche Bilimsel Eserler Serisi, 1993.
45. Naito Y, Yoshikawa T, Tanigawa T, Sakurai K, Yamasaki K, Uchida M, Kondo M. Hydroxyl radical scavenging by rebamipide and related compounds: electron paramagnetic resonance study. *Free Radical Biology & Medicine*, 1995, 18: 117-123.
46. Matersson JA MT, Krauss AN, Auld PA, Meister A. . Ascorbic acid prevents oxidative stress in glutathione-deficient mice: effects of lung type 2 cell lamellar bodies, lung surfactant, and skeletal muscle. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1991, 89: 5093-5097.
47. 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 & Medicine*, 1997, 23: 243-250.
48. Hirashi H TA, Ota S et al. . Protection of cultured rat gastric cells against oxidant-induced damage by exogenous glutathion. *Gastroenterology*, 1994, 106: 1199-1207.

49. Göksu Ç. Bitkisel Yağlar.
50. ayvaciktarim.gov.trteknikbilgilerliftletlertarlasusam.pdf.
51. Yermanos DM, Hemstret, S., Salieb, W. and Huszar, C. K. . Oil content and composition of the seed in the world collection of sesame introductions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 1972, 49: 20-25.
52. Liu JR, Zheng, Y. Z. and Xu, R. Q. . Analysis of nutrient quality of seed and screening for prominent germplasms in sesame. *Oil Crops of China*, 1992, 1: 24-26.
53. Salunkhe DK, Chavan, J. K., Adsule, R. N. and Kadam, S. S. Sesame in world oilseeds.
54. Yoshida HaT, S. . Effects of seed roasting temperature and time on quality characteristics of sesame (*Sesamum indicum*). Oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1997, 75: 19-26.
55. Pongracz G, Weiser, H. and Matzinger, D. . Tocopherole, antioxidation der natur. *Fat Science Technology*, 1995, 97: 90-104.
56. Ü. E. Akdeniz Defnesi (*Laurus nobilis* L.)'nde Mevsimsel Varyabilite ve Optimal Kurutma Yöntemlerinin Araştırılması. Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı. Adana: Çukurova Üniversitesi, 2005.
57. Sevil TOROĞLU MÇ. Tedavi Amaçlı Kullanılan Bazı Bitkilerin Kullanım Alanları ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi İçin Kullanılan Metodlar. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü. Kahramanmaraş, KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi*, 2006, 9.
58. Emine BAYRAM SK, Güngör YILMAZ, Olcay ARABACI, Süleyman KIZIL, İsa TELCİ. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Üretiminin Arttırılması Olanakları.

59. Mustafa Evren BT. Uçucu Yağların Antimikrobiyel Özellikleri. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 2011, 09: 28-40.
60. Ezgi Şengezer TG. Esansiyel Yağlar ve Hayvanlar Üzerindeki Etkileri. *Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg*, 2008, 48: 101-110.
61. Morris JB. Food, industrial, nutraceutical, and pharmaceutical uses of sesame genetic resources.
62. Susam, Sanayi Bitkileri Alt Komisyon Raporu, Baskı, 2001: 447.
63. Dashak DAaF, C.N. Chemical Composition of Four Varieties of Nigerian benniseed (*Sesamum indicum*). *Food Chemistry*, 1993, 47: 253 - 255.
64. Türk Gıda Kodeksi, Baskı, 2001: 24552.
65. Mohamed HMAaA, I.I. The Use of Sesame Oil Unsaponifiable Matter as a Natural Antioxidant. *Food Chemistry*, 1998, 62: 269-276.
66. Eldin KA, Appelqvist,L.A. The Effects of Extraction Methods on Sesame Oil Stability. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 1995, 72: 967 - 969.
67. Arıncı K EA. *Anatomi* Baskı. Ankara, Güneş Kitabevi, 2001: 241-245.
68. Junquiera L-C CJ, Keley RO. . *Basic Histology*. Baskı. İstanbul, Barış Kitabevi, 1993: 356.
69. Guyton AC HJ. *Tıbbi fizyoloji*. Baskı. TÜRKİYE, Nobel Tıp Kitabevi, 2001: 1013.
70. C. K. lasik ve çapraz gastrojejunostomi yapılan ratlarda mide boşaliminin karşılaştırılması. . KTC Sağlık Bakanlığı Taksim Eğitim Ve Araştırma Hastanesi 1. Genel Cerrahi Kliniği. İstanbul: 2006.
71. O. K. *Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji*. 3. Cilt, 7.Baskı Baskı. Feryal Matbaacılık Sanayi ve Tic Ltd Şti, 1997: 2818-2856.



72. Schmassmann A. Mechanisms of ulcer healing and effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *American Journal of Medicine*, 1998, 104: 43S-51S; discussion 79S-80S.
73. Mozsik G, Javor T. A biochemical and pharmacological approach to the genesis of ulcer disease. I. A model study of ethanol-induced injury to gastric mucosa in rats. *Digestive Diseases and Sciences*, 1988, 33: 92-105.
74. Sullivan M, Yool DA. Gastric disease in the dog and cat. *The Veterinary Journal*, 1998, 156: 91-106.
75. Vatn S SO, Ulvund MJ. Histamine in lambs with abomasal bloat, hemorrhage and ulcers. *Journal of Veterinary Medicine*, 2000, 47: 251-255.
76. 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 & Medicine*, 2006, 40: 1397-1408.
77. A. Ö. İşte *Helicobacter pylori*, gastrit, peptik ülser. *Türk Gastroenteroloji derneği yayını*, 1996.
78. Jouzeau JY, Terlain B, Abid A, Nedelec E, Netter P. Cyclo-oxygenase isoenzymes. How recent findings affect thinking about nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Drugs*, 1997, 53: 563-582.
79. Lee S SM. Role and regulation of cyclooxygenase-2 during inflammation. *American Journal of Medicine*, 1999, 106: 37-42.
80. Maricic N, Ehrlich K, Gretzer B, Schuligoi R, Respondek M, Peskar BM. Selective cyclo-oxygenase-2 inhibitors aggravate ischaemia-reperfusion injury in the rat stomach. *British Journal of Pharmacology*, 1999, 128: 1659-1666.

81. Burke A SE, Fitz Gerald GA. . *In Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*. . Baski. New-York, Hill Companies, 2006.
82. Suleyman H, Demircan B, Karagoz Y. Anti-inflammatory and side effects of cyclooxygenase inhibitors. *Pharmacological Reports*, 2007, 59: 247-258.
83. Hawkey CJ. COX-1 and COX-2 inhibitors. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 2001, 15: 801-820.
84. Laine L. Gastrointestinal effects of NSAIDs and coxibs. *Journal of Pain and Symptom Management*, 2003, 25: S32-40.
85. Takeuchi K, Kagawa S, Mimaki H, Aoi M, Kawauchi S. COX and NOS isoforms involved in acid-induced duodenal bicarbonate secretion in rats. *Digestive Diseases and Sciences*, 2002, 47: 2116-2124.
86. JRW. B. Mechanisms underlying intestinal injury induced by anti-inflammatory COX inhibitors. *European Journal of Pharmacology*, 2004, 500: 427-439.
87. Villegas I, La Casa C, de la Lastra CA, Motilva V, Herrerias JM, Martin MJ. Mucosal damage induced by preferential COX-1 and COX-2 inhibitors: role of prostaglandins and inflammatory response. *Life Sciences*, 2004, 74: 873-884.
88. Jung H KEL, Sang Hui C, Sun Young Y. . Helicobacter Pylori infection reactive oxygen species activity, mucosal lipoperoxidation and glutathione in helicobacter pylori-infected gastric mucosa. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2001, 16: 1336-1340.
89. Jainu M, Devi CS. 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.
90. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol*, 1997, 82: 291-5.

91. Ajaikumar KB, Asheef M, Babu BH, Padikkala J. The inhibition of gastric mucosal injury by *Punicagranatum L.* (pomegranate) methanolic extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 2005, 96: 171-176.
92. Jain A, Martensson J, Mehta T, Krauss AN, Auld PA, 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 U S A*, 1992, 89: 5093-5097.
93. Fornai M, Natale G, Colucci R, Tuccori M, Carazzina G, Antonioli L, Baldi S, Lubrano V, Abramo A, Blandizzi C, Del Tacca M. Mechanisms of protection by pantoprazole against NSAID-induced gastric mucosal damage. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2005, 372: 79-87.
94. 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: 7168-7171.
95. Berenguer B, Sanchez LM, Quilez A, Lopez-Barreiro M, de Haro O, Galvez J, Martin MJ. Protective and antioxidant effects of *Rhizophora mangle L.* against NSAID-induced gastric ulcers. *Journal of Ethnopharmacology*, 2006, 103: 194-200.
96. de Barros MP, Sousa JP, Bastos JK, de Andrade SF. Effect of Brazilian green propolis on experimental gastric ulcers in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 2007, 110: 567-571.
97. Monteiro MV, de Melo Leite AK, Bertini LM, de Morais SM, Nunes-Pinheiro DC. Topical anti-inflammatory, gastroprotective and antioxidant effects of the essential oil of *Lippia sidoides Cham.* leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, 2007, 111: 378-382.

98. Odabaşoğlu F. Antioksidan Vitaminler. 1999, Erzurum.
99. T. A. *Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri*. Baskı. Konya, Mimoza Yayınları, 1995: 1-80.
100. Rucker RB SF. Vitamin C. *Encyclopedia of Biological Chemistry*, 2004, 4: 367-371.
101. Kanfer J, Ashwell G, Burns JJ. Formation of L-lyxonic and L-xylonic acids from L-ascorbic acid in rat kidney. *Journal of Biological Chemistry*, 1960, 235: 2518-2521.
102. KA. N. Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. *Journal of Nutrition*, 2003, 2: 1-10.
103. ŞD. T. *Vitaminler: Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları*. Baskı. Ankara, Pozitif yayıncılık, 2006.
104. Fox PF MP. Dairy Chemistry and Biochemistry. *London: Blackie Academic & Professional, an Imprint of Yhomson Science*, 1998: 289-291.
105. İmik H FU, Sel T. . Ankara Keçisi oğlaklarında C ve E vitaminlerinin metabolik strese karşı etkisi. *Veteriner Bilim Dergisi*, 1999, 15: 47-53.
106. Padayatty SJ, Katz A, Wang Y, Eck P, Kwon O, Lee JH, Chen S, Corpe C, Dutta A, Dutta SK, Levine M. Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *Journal of the American College of Nutrition*, 2003, 22: 18-35.
107. Malo C, Wilson JX. Glucose modulates vitamin C transport in adult human small intestinal brush border membrane vesicles. *Journal of Nutrition*, 2000, 130: 63-69.
108. Rose RC, Choi JL. Intestinal absorption and metabolism of ascorbic acid in rainbow trout. *American Journal of Physiology*, 1990, 258: R1238-1241.

109. Olson JA, Hodges RE. Recommended dietary intakes (RDI) of vitamin C in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1987, 45: 693-703.
110. DA. H. Dietary antioxidants and human immune function. *Founda British Nutrition*, 2000, 25: 35-41.
111. McCorkle F, Taylor R, Stinson R, Day EJ, Glick B. The effects of a megalevel of vitamin C on the immune response of the chicken. *Poultry Science*, 1980, 59: 1324-1327.
112. Wu CC, Dorairajan T, Lin TL. Effect of ascorbic acid supplementation on the immune response of chickens vaccinated and challenged with infectious bursal disease virus. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2000, 74: 145-152.
113. Perdue SL TJ, Brake J. Role of ascorbic acid in chicks exposed to high environmental temperature. *Journal of Applied Physiology*, 1985, 58: 1511-1516.
114. Iqbal K KA, Khattak MMAK. Biological significance of ascorbic acid (vitamin C) in human health - A review. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2004, 3: 5-13.
115. SL. H. Quick reference to clinical nutrition a guide for physicians. *America*, 1979: 175-176.
116. Belaiche J, Burette A, De Vos M, Louis E, Huybrechts M, Deltenre M, Belgian Study Group of N-GIC. Observational survey of NSAID-related upper gastrointestinal adverse events in Belgium. *Acta Gastro-Enterologica Belgica*, 2002, 65: 65-73.
117. 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.

118. Simon LS. Role and regulation of cyclooxygenase-2 during inflammation. *American Journal of Medicine*, 1999, 106: 37S-42S.
119. 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: 656-62.
120. Dündar Y AR. *Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar*. Baskı. Afyon, AKÜ Yayın, 2000: 1-35.
121. Halliwell B, Gutteridge JM. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical Journal*, 1984, 219: 1-14.
122. Weiss SJ, LoBuglio AF. Phagocyte-generated oxygen metabolites and cellular injury. *Laboratory Investigation*, 1982, 47: 5-18.
123. Buonocore G, Groenendaal F. Anti-oxidant strategies. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*, 2007, 12: 287-295.
124. Slater TF CK, Davies MJ, Proudfoat K, Xin W. Nutritional aspects of free radicals. *Proceedings of The Nutrition Society*, 1987, 46: 1-12.
125. Aust SD, Morehouse LA, Thomas CE. Role of metals in oxygen radical reactions. *Journal Free Radical Biology and Medicine*, 1985, 1: 3-25.
126. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*, 1995, 41: 1819-1828.
127. 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 - Supplement*, 1987, 127: 21-28.

128. Afanas'ev IB. Signaling functions of free radicals superoxide & nitric oxide under physiological & pathological conditions. *Molecular Biotechnology*, 2007, 37: 2-4.
129. O. A. Free radicals, antioxidants and international nutrition review. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 1999, 8: 53- 63.
130. B. H. Tell me about radicals, doctor: a review. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 1989, 82: 747-752.
131. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences U S A*, 1993, 90: 7915-7922.
132. 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 NO<sub>2</sub>. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 1993, 38: 273-292.
133. Aslan R DY. Bir fizyolojik eleman ve radikal olarak azot oksit. *Hayvan Araştırma Dergisi*, 1998, 8: 34-38.
134. Lohinai ZM SC. Role of nitric oxide in physiology and patophysiology of periodontal tissues. *Medical Science Monitor*, 1998, 4: 1089-1095.
135. 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.
136. NV. G. Oxidative stress as a factor of disrupted ecological oxidative balance in biological systems - A Review. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 2005, 8: 11.

137. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Laboratory Investigation*, 1982, 47: 412-426.
138. Baccanari DP. Coupled oxidation of NADPH with thiols at neutral pH. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1978, 191: 351-357.
139. 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.
140. Cavdar C SA, Camsarı T. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Office J Turk Nephrol Assoc*, 1997, 3-4: 92-95. .
141. 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: 310-314.
142. Seifried HE, Anderson DE, Sorkin BC, Costello RB. Free radicals: the pros and cons of antioxidants. Executive summary report. *Journal of Nutrition*, 2004, 134: 3143S-3163S.
143. 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.
144. 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.
145. JM. M. Oxygen-derived free radicals in postistemic tissue injury. *The New England Journal of Medicine*, 1985, 312: 159-163.



146. 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.
147. Hung-Hai K BU, Sohala RS. . Relationship between mitochondrial superoxide and hydrogen peroxide production and longevity of mammalian species. *Free Radical Biology & Medicine*, 1993, 15: 621-627.
148. Ersoy A DK. Hemodiyaliz Hastalarında Eritrosit Membran Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidatif Homeostazis Değişiklikleri. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Derg*, 1999, 1: 1-4.
149. Jana AK AS, Chatterjee SN. Membrane lipid peroxidation by ultrasound: Mechanism and implications. *Journal of Biosciences*, 1990, 15: 211-215.
150. Li JM, Shah AM. ROS generation by nonphagocytic NADPH oxidase: potential relevance in diabetic nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2003, 14: S221-226.
151. Comporti M. Lipid peroxidation and cellular damage in toxic liver injury. *Laboratory Investigation*, 1985, 53: 599-623.
152. Halliwell B, Aruoma OI. DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS Letters*, 1991, 281: 9-19.
153. 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: L1220-1227.

154. Davies KJ, Goldberg AL. Oxygen radicals stimulate intracellular proteolysis and lipid peroxidation by independent mechanisms in erythrocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 1987, 262: 8220-8226.
155. Thomas CE, Aust SD. Free radicals and environmental toxins. *Annals of Emergency Medicine*, 1986, 15: 1075-1083.
156. Goulart M, Batoreu MC, Rodrigues AS, Laires A, Rueff J. Lipoperoxidation products and thiol antioxidants in chromium exposed workers. *Mutagenesis*, 2005, 20: 311-315.
157. Marnett LJ. Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutation Research*, 1999, 424: 83-95.
158. M. H. Bazı likenlerden izole edilen maddelerin sıçanlarda indometazin ile oluşturulan ülser modelinde antiülserojen mekanizmalarının araştırılması. Fen Bil Enst, Kimya ABD. Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2007.
159. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1993, 57: 715S-724S; discussion 724S-725S.
160. Long CA BH. Rate of Reaction of Superoxide Radical with Chloride-Containing Species. *The Journal of Physical Chemistry*, 1980, 84: 555- 557.
161. Çakatay U KR. Protein oksidasyonunun klinik önemi. *Cerrah Paşa Tıp Dergisi*, 2004, 35: 140-149.
162. 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.

163. Simpson JA, Narita S, Gieseg S, Gebicki S, Gebicki JM, Dean RT. Long-lived reactive species on free-radical-damaged proteins. *Biochemical Journal*, 1992, 282 ( Pt 3): 621-624.
164. Odabasoglu F HZ, Cakir A, Halici M, Cadirci E, Suleyman H. Gastroprotective effect of vegetable oils and alpha-tocopherol on indomethacine-induced gastric ulcer in rats and its relation with myeloperoxidase and glutathione s-transferase activities. , 3rd International Meeting on Medicinal and Pharmaceutical Chemistry 2007 Antalya, TURKEY 73.
165. Marnett LJ. Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage. *Toxicology*, 2002, 181-182: 219-222.
166. Epe B, Ballmaier D, Adam W, Grimm GN, Saha-Moller 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.
167. Jornot L, Petersen H, Junod AF. Hydrogen peroxide-induced DNA damage is independent of nuclear calcium but dependent on redox-active ions. *Biochemical Journal*, 1998, 335 ( Pt 1): 85-94.
168. Canadian Council on Animal Care. *Guide to the care and use of experimental animals*, 1993, Vol I.
169. Guidobono F, Pagani F, Ticozzi C, Sibilina 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.
170. Suleyman H, Odabasoglu F, Aslan A, Cakir A, Karagoz Y, Gocer F, Halici M, Bayir Y. Anti-inflammatory and antiulcerogenic effects of the aqueous extract of *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. *Phytomedicine*, 2003, 10: 552-527.

171. Alarcon de la lastra C BM, Martin MJ, Herrerias J, Motilva V. . Extra-virgin olive oil-enriched diets reduce indomethacin-induced gastric oxidative damage in rats. *Digestive Diseases and Sciences*, 2002, 47: 2783-2790.
172. Abdel-Wahab MH AH, El-Mahdy MA, Abdel-Naim AB. . Potential protective effect of melatonin against dibromoacetonitrile-induced oxidative stress in Mouse stomach. *Pharmaceutical Research*, 2002, 46: 287-293.
173. Bayır Y. *Usnea longissima* ACH. Liken türünden izole edilen difraktaik asitin indometazin ülseri üzerine koruyucu etkisi ve in-vivo antioksidan özelliklerinin araştırılması. . Sağ Bil Enst Ecz Fak Biyokimya ABD. Erzurum: Ataturk University, 2004.
174. Bradley PP, Priebat DA, Christensen RD, Rothstein G. Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. *Journal of Investigative Dermatology*, 1982, 78: 206-269.
175. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 1979, 95: 351-358.
176. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymology*, 1984, 105: 121-126.
177. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical Biochemistry*, 1968, 25: 192-205.
178. Carlberg I, Mannervik B. Glutathione reductase. *Methods Enzymology*, 1985, 113: 484-490.
179. Kochhar SP. Sesame Oil- A Powerful antioxidant. *Lipid Technology Newsletter*, 2000: 35-39.
180. Nishida K, Ohta Y, Kobayashi T, Ishiguro I. Involvement of the xanthine-xanthine oxidase system and neutrophils in the development of acute gastric

- mucosal lesions in rats with water immersion restraint stress. *Digestion*, 1997, 58: 340-351.
181. Nishida K OY, Ishiguro I. Contribution of NO synthases to neutrophil infiltration in the gastric mucosal lesions in rats with water immersion restraint stress. *FEBS Letters*, 1998, 425: 243-248.
182. Yoshida M, Fukumura D, Wakabayashi G, Otani Y, Oshima A, Shimazu M, Kubota T, Kumai K, Kurose I, Miura S, Kitajima M. Gastric Microcirculatory Disturbance and Behavior of Leukocytes after Thermal-Injury - Intravital Observation of Arteriovenous Shunting Channels in the Gastric Submucosal Layer. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 1995, 10: 365-370.
183. Ohta Y, Nishida K. Protective effect of L-arginine against stress-induced gastric mucosal lesions in rats and its relation to nitric oxide-mediated inhibition of neutrophil infiltration. *Pharmacological Research*, 2001, 43: 535-541.
184. 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.
185. Djahanguiri B. The production of acute gastric ulceration by indomethacin in the rat. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 1969, 4: 265-267.
186. 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: G1082-1089.

187. 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.
188. Jansson EA, Petersson J, Reinders C, Sobko T, Bjorne H, Phillipson M, Weitzberg E, Holm L, Lundberg JO. Protection from nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID)-induced gastric ulcers by dietary nitrate. *Free Radical Biology & Medicine*, 2007, 42: 510-518.
189. Elliott SN, Wallace JL. Neutrophil-mediated gastrointestinal injury. *Canadian Journal of Gastroenterology*, 1998, 12: 559-568.
190. Takeuchi K, Ueshima K, Hironaka Y, Fujioka Y, Matsumoto J, Okabe S. Oxygen free radicals and lipid peroxidation in the pathogenesis of gastric mucosal lesions induced by indomethacin in rats. Relation to gastric hypermotility. *Digestion*, 1991, 49: 175-184.
191. 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.
192. 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.
193. El-Missiry MA, El-Sayed IH, Othman AI. Protection by metal complexes with SOD-mimetic activity against oxidative gastric injury induced by indomethacin and ethanol in rats. *Annals of Clinical Biochemistry*, 2001, 38: 694-700.
194. Robert A. An intestinal disease produced experimentally by a prostaglandin deficiency. *Gastroenterology*, 1975, 69: 1045-1047.

195. Harvison PJ, Egan RW, Gale PH, Christian GD, Hill BS, Nelson SD. Acetaminophen and analogs as cosubstrates and inhibitors of prostaglandin H synthase. *Chemico-Biological Interactions*, 1988, 64: 251-266.
196. Imai J, Ide N, Nagae S, Moriguchi T, Matsuura H, Itakura Y. Antioxidant and radical scavenging effects of aged garlic extract and its constituents. *Planta Medica*, 1994, 60: 417-420.
197. Stadler RH, Turesky RJ, Muller O, Markovic J, Leong-Morgenthaler PM. The inhibitory effects of coffee on radical-mediated oxidation and mutagenicity. *Mutation Research*, 1994, 308: 177-190.
198. Prestera T ZY, Spencer SR, Wilczak C, Talalay P. . The electrophilic counter attack responses: protection against neoplasia and toxicity. *Advances in Enzyme Regulation*, 1993, 33: 281-296.
199. Van Lieshout EMM PW, Jansen JBMJ. Effect of oltipraz,  $\alpha$ -tocopherol,  $\beta$ -carotene and phenyl isothiocyanate on rat oesophageal, gastric, colonic and hepatic glutathione, glutathione S-transferase and peroxidase. *Carcinogenesis*, 1996, 17: 1439-1445.
200. Aruna K SV. Plant products as protective agents against cancer. *Indian Journal of Experimental Biology*, 1990, 28: 1008-1011.
201. Ketterer B, Harris JM, Talaska G, Meyer DJ, Pemble SE, Taylor JB, Lang NP, Kadlubar FF. The human glutathione S-transferase supergene family, its polymorphism, and its effects on susceptibility to lung cancer. *Environmental Health Perspectives*, 1992, 98: 87-94.
202. 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. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 1995, 30: 445-600.
203. Shin HM. Anti-oxidative herbs and indomethacin-induced rat gastric mucosal lesions: protection by GamiHyangsa-Yukgunja. *American Journal of Chinese Medicine*, 2001, 29: 101-109.
204. Shacter E, Lopez RL, Pati S. Inhibition of the myeloperoxidase-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Cl<sup>-</sup> system of neutrophils by indomethacin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Biochemical Pharmacology*, 1991, 41: 975-984.
205. Basivireddy J, Jacob M, Ramamoorthy P, Pulimood AB, Balasubramanian KA. Indomethacin-induced free radical-mediated changes in the intestinal brush border membranes. *Biochemical Pharmacology*, 2003, 65: 683-695.
206. Konjeti R S, Spitz DR, Harris S, Nguyen TT, Meredith MJ. Et al. . Redox-sensitive interaction between KIAA0132 and Nrf2 mediates indomethacin-induced expression of  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase. *Free Radical Biology & Medicine*, 2002, 37: 650-662.



## EKLER

### EK 1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
<p><b>Adı Soyadı:</b> Nurulhünda HANCI <b>Doğum tarihi:</b> 05.11.1987 <b>Doğum yeri:</b> Milas <b>Medeni hali:</b> Evli <b>Uyruğu:</b> T.C. <b>Adres:</b> Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, 25240 ERZURUM <b>Tel:</b> 0442 231 52 33 <b>Faks:</b> 0449 236 65 90 <b>E-mail:</b> nurulh@atauni.edu.tr</p>
Eğitim
<p><b>Lise:</b> <b>Lisans:</b> Çukurova Üniversitesi Fen Fakültesi (2006-2010) <b>Yüksek lisans:</b> Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı (2011-2014)</p>
Yabancı Dil Bilgisi
<p>İngilizce:</p>
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
İlgi Alanları ve Hobiler

**Not:** Tablodaki Yabancı Dil Bilgisi, Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar ve İlgi Alanları ve Hobiler başlıkları altına ihtiyaç halinde satır eklenebilir.

## EK 2. ETİK KURUL ONAYI



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

Sayı : 36643897-48

Konu : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı.

04.06.2013  
ERZURUM


ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
ECZACILIK FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

25240 – Kampus / ERZURUM

**İlgi** : 29.05.2013 tarih ve 93722986.03/394 sayılı yazı.

İlgide kayıtlı yazıda belirtildiği üzere, Fakülteniz Farmasötik Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd.Doç.Dr.Fehmi ODABAŞOĞLU'nun yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığının Farmasotik Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarında ve Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezinde yürütülecek olan **“Bitkisel Yağların Ratlarda Enflamatuvar, Gastroprotektif ve Apoptotik Etki Sürecinde Meydana Gelen Biyokimyasal Değişikliklerin Araştırılması”** başlıklı araştırma çalışması, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 31.05.2013 tarih ve 1 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 49 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** : 31.05.2013

**Toplantı Sayısı** : 1

**KARAR NÖ** : 49- Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığı, Farmasötik Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd.Doç.Dr.Fehmi ODABAŞOĞLU'nun yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığının Farmasotik Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarında ve Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezinde yürütülecek olan **“Bitkisel Yağların Ratlarda Enflamatuvar, Gastroprotektif ve Apoptotik Etki Sürecinde Meydana Gelen Biyokimyasal Değişikliklerin Araştırılması”** başlıklı araştırma çalışması ile ilgili Eczacılık Fakültesi Dekanlığının 29.05.2013 tarih ve 93722986.03/394 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğunun, mevcut oy birliği ile kabulüne; **(Yönergenin 5/f maddesi gereğince, Yrd.Doç.Dr.Fehmi ODABAŞOĞLU oylamaya katılmadı)**, 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**: hadyek@atauni.edu.tr