

**MACLURA POMİFERA BİTKİSİNİN SU EKSTRESİNİN
RATLARDA İNDOMETAZİNLE
OLUŞTURULAN ÜLSER MODELİ ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE ANTİOKSİDAN
MEKANİZMASININ İNCELENMESİ**

Recai ACİ

**Veteriner Biyokimya Anabilim Dalı
Tez Danışmanı**

**Doç. Dr. Mesut B. HALICI
Doç. Dr. Zekai HALICI (Ortak Danışman)
Yüksek Lisans Tezi - 2013**

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

**MACLURA POMİFERA BİTKİSİNİN SU EKSTRESİNİN
RATLARDA İNDOMETAZİNLE OLUŞTURULAN ÜLSER
MODELİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE
ANTİOKSİDAN MEKANİZMASININ İNCELENMESİ**

Recai ACİ

**Veteriner Biyokimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Mesut B. HALICI
Doç. Dr. Zekai HALICI (Ortak Danışman)**

**ERZURUM
2013**

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

**MACLURA POMİFERA BİTKİSİNİN SU EKSTRESİNİN RATLARDA
İNDOMETAZİNLE OLUŞTURULAN ÜLSER MODELİ ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE ANTİOKSİDAN
MEKANİZMASININ
İNCELENMESİ**

Recai ACİ

Tez Savunma Tarihi : 02.07.2013

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

Ortak Danışman : Doç. Dr. Zekai HALICI (Atatürk Üniversitesi)

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

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

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. İsmail CAN (Atatürk Üniversitesi)

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Yavuz Selim SAGLAM
Enstitü Müdürü

Yüksek Lisans Tezi

ERZURUM-2013

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	VII
ÖZET	VIII
ABSTRACT.....	IX
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	X
ŞEKİLLER DİZİNİ	XIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Mide ve ülser	5
2.2. Antioksidanlar.....	12
2.2.1. Serbest Radikaller	14
2.2.2. Serbest Radikal Çeşitleri.....	15
2.2.3. Diğer Serbest Radikaller	20
2.2.4. Serbest Radikallerin Kaynakları	20
2.2.4.1. Eksojen Radikal Kaynakları	20
2.2.4.2. Endojen Radikal Kaynakları	21
2.2.5. Serbest Radikallerin Etkileri	25
2.2.5.1. Membran Lipidleri Üzerine Etkileri	24
2.2.5.2. Proteinler Üzerine Etkileri	27
2.2.5.3. DNA Üzerine Etkileri	28
2.2.6. Doğal (Endojen) Antioksidanlar	28
2.2.6.1. Primer Antioksidanlar (Enzimler)	28
2.2.6.2 Sekonder Antioksidanlar (Enzim Olmayanlar).....	33
2.2.7. Eksojen Antioksidanlar.....	35
2.2.8 Gıda Antioksidanları.....	36

2.3. Moraceae (Dutgiller).....	36
2.3.1 Maclura pomifera(Yalancı Portakal)	37
3. MATERYAL VE METOT.....	40
3.1. Deneylerde Kullanılan Kimyasallar.....	40
3.2. Deneylerde Kullanılan Cihazlar.....	40
3.3. Deneylerde Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları	40
3.4. Deney Bitkileri.....	42
3.5. Bitki Ekstresinin Hazırlanması	43
3.6. Deney Hayvanları	43
3.7. Ratlarda İndometazin Ülserinin Oluşturulması ve Ekstrelerin Verilmesi	44
3.8. Mide Dokusunun Makroskopik ve Biyokimyasal Olarak İnce Lenmesi.....	44
3.8.1. Mide Dokusunun Makroskopik İncelenmesi	44
3.8.2. Mide Dokusunun Biyokimyasal İncelenmesi	45
3.8.2.1. Doku Homojenatlarının Hazırlanması	45
3.8.2.2. CAT Aktivitesinin Ölçümü.....	45
3.8.2.3. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Ölçümü.....	46
3.8.2.4. Total GSH Miktarı Ölçümü	48
3.8.2.5. LPO Miktarı Ölçümü	49
3.9. İstatistiksel Analizler	51
4. BULGULAR.....	52
4.1. İndometazin ile Oluşturulan Ülser Modeli Üzerine Deneysel Bulgular.....	52
4.2. Biyokimyasal Bulgular	53
4.2.1. SOD Aktivitesi Üzerine MPSE'nin Etkisi.....	54
4.2.2. CAT Aktivitesi Üzerine MPSE'nin Etkisi.....	54
4.2.3. GSH Seviyesi Üzerine MPSE'nin Etkisi	55

4.2.4. LPO Seviyesi Üzerine MPSE'nin Etkisi	56
5. TARTIŞMA.....	58
KAYNAKLAR	67
EKLER	91
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	91
EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU	92

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten, tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen hocam Sayın Doç.Dr. Mesut B. HALICI'ya en derin saygı ve şükranlarımı sunarım. Tez çalışmamda bilgisinden ve tecrübelerinden faydalandığım hocam Doç. Dr. Zekai HALICI'ya,

Yardımlarını ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Sayın Yrd. Doç.Dr. Özgür KAYNAR'a, deneysel çalışmalarda emeği bulunan Araş. Gör. H. Serkan EROL'a ve Emrullah DORMAN'A ayrıca tüm Veteriner Fakültesi Biyokimya ABD çalışanlarına, bu çalışmayı **2010/122 BAP** proje numarası ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne,

Bitkilerin temini ve teşhisinde her türlü desteği sağlayan Sayın Prof.Dr. Ergin HAMZAOĞLU ve Dr. Murat KOÇ'a,

Çalışmalarım esnasında hayvanların temini ve deney aşamasında yardımlarından dolayı hocam Sayın Doç. Dr Sinan AKTAŞ'a, her türlü desteği ile hocam sayın Yrd. Doç. Dr. İsmail CAN'a,

Çalışmalarım sırasında ilgi ve desteklerini esirgemeyen çalışma arkadaşlarıma, yoğun eğitim dönemim boyunca sabırla beni destekleyen aileme teşekkür ederim.

Recai ACİ

ÖZET

Maclura Pomifera Bitkisinin Su Ekstresinin Ratlarda İndometazinle Oluşturulan Ülser Modeli Üzerine Etkilerinin Araştırılması ve Antioksidan Mekanizmasının İncelenmesi

Amaç. Bu araştırmada; ratlarda indometazin ile oluşturulan ülser modeli kullanılarak Maclura pomifera'dan elde edilen su ekstresinin in vivo antiülser etkileri ve bu etkilerin oksidatif stres ve antioksidan savunma sistemi üzerine etkilerini tespit etmeye çalıştık.

Materyal ve Metot. Bu çalışmada ratlarda indometazinle oluşturulan ülser modelinde Maclura pomifera'nın antiülser etkisi araştırıldı. Her bir deney grubu 6'şar rattan oluşturuldu. 250, 500 mg/kg dozlarda MPSE, 50 mg/kg dozda (**RAN**), yalnızca musluk suyu (sağlıklı kontrol) ve 25 mg/kg dozda IND (Pozitif kontrol) oral yolla verildi.

Bulgular. IND ile muamele edilen grupta meydana gelen ülserin, uygulanan MPSE'nin bütün dozlarının önemli oranda ülser oluşumunu azalttığı ($p<0.05$) belirlendi. Diğer yandan, antioksidant savunma sistemlerinin ülser gelişimindeki rolünün belirlenmesi amacıyla, rat mide dokularında (SOD), (CAT) gibi antioksidan enzimlerinin aktiviteleri ile (GSH) ve (LPO) miktarları belirlendi. Bulgular, kontrol grupları ile karşılaştırılarak değerlendirildi. İND uygulanan dokularda SOD ve GSH miktarı azalırken, CAT aktivitesi ile LPO miktarının arttığı tespit edildi.

Sonuç. Elde edilen sonuçlar, İND'nin antioksidan savunma sistemini olumsuz etkileyerek ülser oluşumuna katkı sağladığını ve gastrik hasar oluşumunda serbest radikallerin üretildiğini göstermektedir. MPSE ve RAN ile muamele edilmiş dokularda, İND'nin aksine antioksidan savunma sisteminin olumlu yönde etkilendiği ve gastrik mukozada üretilen reaktif oksijen (ROS) radikallerinin ülser oluşumundaki olumsuz etkilerinin azaltıldığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidant, anti-ülserojenik aktivite, İndometazin, Maclura pomifera.

ABSTRACT

The Research of the Effects of Water Extracts of Maclura Pomifera Plant Over the Ulcer Model in Rats Formed By Using Indomethacin and the Analysis of Antioxidant Mechanisms

Aim. In this research, we aimed to determine the in vivo antiulcer effects of water extracts of Maclura Pomifera by using the ulcer model in rats formed by indomethacin and also to determine the influences of those effects over the oxidative stress and antioxidant defense system.

Material and Method. In this research, the antiulcer effects of Maclura Pomifera in the ulcer model in rats formed by using indomethacin were analysed. Each experimental group is comprised of 6 rats. 250, 500 mg/kg doses of MPSE, 50 mg/kg doses of (RAN), only tap water (healthy controls) and 25 mg/kg doses of IND (positive control) were orally given.

Results. In the formation of ulcer occurred in the group treated with IND, it's determined that all doses of applied MPSE decrease the ulcer formation in a considerable extent. On the other hand, with the aim of identifying the role of the antioxidant defense system in ulcer formation, the activities of some antioxidant enzymes such as (SOD) and (CAT) in the stomach tissues of rats, and the amounts of (GSH) and lipid peroxidation were determined. The findings were evaluated by comparing with the control groups. It's determined that while the amount of SOD and GSH was decreasing in the tissues to which IND was applied, the activity of CAT and the amount of LPO increased.

Conclusion. The obtained results show that IND contributes ulcer formation affecting negatively the antioxidant system and free radicals are produced in the formation of gastric damage. It's determined that in the tissues treated with MPSE and RAN, antioxidant defense system is positively affected contrary to IND, and the negative effects of reactive oxygen radicals (ROS) produced in gastric mucosa in ulcer formation are decreased.

Key Words: Antioxidant, anti-ulcerogenic activity, Indomethacin, Maclura pomifera

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADP	: Adenozin difosfat
AMP	: Adenozin monofosfat
ASA	: Asetilsalisilik asit
BSA	: Sığır Serum Albumin
BHT	: Butillenmiş hidroksitoluen
BHA	: Butillenmiş hidroksianisol
CAT	: Katalaz
CCl₄	: Karbontetraklorür
CC₃	: Triklorometil
COX	: Siklooksijenaz
cGMP	: Siklikguanozin monofosfat
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DIC	: Diclofenac
ETS	: Elektron Taşıma Sistemi
GİS	: Gastro İntestinal Sistem
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: Glutasyon
GST	: Glutasyon S-Transferaz
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HO.	: Hidroksil radikali
HO₂⁻	: Peroksit
LO	: Lipooksijenaz
LPO	: Lipit peroksidasyonu

LPS	: Lipopolisakkarit
IFN	: İnterferon
IL	: İnterlökin
IND	: İndometazin
MDA	: Malondialdehit
MPSE	: Maclura pomifera'nın su ekstresi
MPx	: Miyeloperoksidaz
NAD⁺	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid hidrojen fosfat
NO	: Nitrik oksit
NO⁺	: Nitronyum iyonu
NO₂⁻	: Azot protoksit
NO₂	: Azot dioksit
NSAİD	: Steroid olmayan antienflamatuar ilaçlar
NBT	: Nitro blue tetrazolium
O₂⁻	: Süperoksit radikali
¹O₂	: Singlet oksijen
PGE	: Prostaglandin
PMN	: Polimorfo nükleer
PUFA	: Poliunsature yağ asiti
RAN	: Ranitidine
RNA	: Ribo nükleik asit
RO[·]	: Alkoksil radikalleri
ROO[·]	: Peroksil radikalleri
ROS	: Reaktif Oksijen Sınıfları

RSO[·]	: S�lfenil
RSO₂⁻	: Tiyol peroksil radikali
TXA2	: Trombosit agregan ajan ve vazokonstrüktör
SOD	: Süperoksit dismutaz
WHO	: Dünya Sağlık �rg�t�

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Midenin yerleşimi ve ülserli midenin görünümü.	6
Şekil 2.2. GPx Aracılığıyla Glutatyonun G-S-S-G'ye yükseltgenmesi.....	31
Şekil 2.3. GSH'nin molekül yapısı	33
Şekil 2.4. Maclura pomifera (Raf.) C.K. Schneid. – Yalancı Portakal ağacı	37
Şekil 2.5. Maclura pomifera (Raf.) C.K. Schneid. – Yalancı Portakal meyvesi	39
Şekil 3.1. Araştırmada kullanılan ratları gösteren fotoğraf.	43
Şekil 3.2. GSH miktarlarının belirlenmesinde kullanılan standart grafik	49
Şekil 3.3. LPO miktarlarının belirlenmesinde kullanılan standart grafik	50
Şekil 4.1. İndometazin ile oluşturulan ülser modelinde sakrifiye edilen hayvanlardan elde edilen midelerin makroskobik görüntüleri.	52
Şekil 4.2. Ranitidin ile MPSE'nin 250 mg/kg ve 500 mg/kg dozlarının İndometazin ile uyarılan ülser modeli üzerine etkileri.	53
Şekil 4.3. İndometazinle uyarılan ülser modelinde Maclura pomifera'nın su ekstrelerinin Süperoksit dismutaz enzim aktivitesi üzerine etkisi.	54
Şekil 4.4. İndometazinle uyarılan ülser modelinde Maclura pomifera'nın su ekstrelerinin katalaz enzim aktivitesi üzerine etkisi.	55
Şekil 4.5. İndometazinle uyarılan ülser modelinde Maclura pomifera'nın su ekstrelerinin Glutatyon seviyeleri üzerine etkisi.	56
Şekil 4.6. İndometazinle oluşturulan ülser modelinde Maclura pomifera'nın su ekstrelerinin Lipid peroksidasyon (LPO) miktarı üzerine etkisi	57

1. GİRİŞ

Ülser; mide ve duodenumun multifaktöriyel-kronik inflamatuvar hastalığıdır; ayrıca gastrointestinal sistemin herhangi bir yerinde asit-pepsinle temas etmiş bir mukoza deliği olarak da tanımlanmaktadır.¹ Ülser, midedeki koruyucu ve saldırgan faktörlerin etkileşimi sürecindeki düzensizlikten meydana gelmektedir. Asit sekresyonu ve koruyucu mukoza bariyerindeki bozukluklara ilave olarak genetik yatkınlık (irsiyet), stres, kortizon türevi ilaçlar, sigara, alkol, aspirin ve indometazin gibi NSAİD (non steroid antienflamatuar ilaç)'ler, *Helicobacter pylori* ve *Herpes simplex* virüsü (Tip I/HSV-1) hastalığı meydana getiren faktörlerdir.²

Ülseri meydana getiren önemli sebeplerden biri düzenli NSAİD kullanımıdır. NSAİD'lerin ülser yapıcı etkileri, inflamatuvar bozukluklardaki kullanımlarının en büyük dezavantajı olmaya devam etmektedir. NSAİD'ler tarafından uyarılan gastrik mukozal ülserasyon temel olarak sitoprotektif prostaglandinlerin eksikliğine bağlanır. Bu prostaglandinlerin eksikliği midede gastrik asitlerin, safra tuzlarının ve etil alkolün tahrip edici etkilerini artırmaktadır. Aspirin ve indometazin'in siklooksijenaz (COX) enzim sistemini inhibe ederek antienflamatuar aktivite gösterdikleri düşünülmektedir. Aspirin ve indometazin gibi antienflamatuar ilaçların COX enzim sistemini bloke etmesi ise prostaglandin biyosentezinin baskılanması ve gastrik mukozal bariyerin bozulması sonucu gastrik hasarın oluşumuna neden olur. Daha önceki araştırmalarda COX enziminin inhibisyonu sonucunda araşidonik asit metabolizmasının 5-lipoksijenaz yolunda bir artış meydana geldiği ve bunun da lökotrienlerin ve hidroperoksieikozatetraenoik asidin oksijeninden türevlenen gastrik mukozada tahribata sebep olan radikallerin aşırı üretimi ile sonuçlandığı kaydedilmiştir.^{3, 4}

İndometazin uyarmalı ülser oluşumunun COX inhibisyonuyla ilişkili olduğu ve COX inhibisyonun da prostaglandin biyosentezini baskılayarak gastrointestinal hasara

karşı bir savunma faktörü olan mukus oluşumunu engellediği rapor edilmiştir.^{5, 6} Ancak indometazin uyarımlı mide ülserlerinin oluşum mekanizması tam olarak henüz aydınlatılamamıştır. Prostaglandin biyosentezinin inhibisyonu, lokal kan akışının azalması, topikal tahriş, yeniden yapılanma ve doku onarımının engellenmesi bu sebeplerden bazılarıdır.^{7, 8}

Son zamanlarda indometazin gibi NSAİD'ler tarafından uyarılan akut gastrik deneysel lezyonlarda oksijenden türevlenen serbest radikallerin (ROS) de önemli rol oynadığını gösteren çalışmalar yayımlanmıştır.^{9, 10} Bu çalışmalarda önemli miktarlarda üretilen oksijen metabolitlerinin ise dokuyu dejenere ederek ülsera sebep oldukları bildirilmiştir. 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.^{4, 11}

Hücreler ROS (reaktif oksijen sınıfları) hasarlarını önleyebilecek veya tamir edebilecek pek çok mekanizmaya sahiptir. ROS'nin tahribatları, primer olarak enzimler [Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon S-transferaz (GST), glutatyon redüktaz (GR) ve glutatyon peroksidaz (GPx)]; sekonder olarak da antioksidant vitaminler, glutatyon (GSH) ve birçok makro ve mikro moleküller tarafından azaltılarak serbest radikallerin hücrelerde düşük ve belirli konsantrasyonlarda tutulmaları sağlanır.^{12, 13} Şayet süperoksit (O_2^-) hidroksil ($HO^\cdot$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi ROS üyeleri aşırı üretilirse, membran lipidlerinin, 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 tarafında öne sürülmüştür.^{9, 14-18} Serbest radikalleri

etkisizleştiren sekonder moleküllerden GSH ise, gastrointestinal dokuları makromolekül içeren lipidlerin oksidatif hasarlarından korumada önemli görev üstlenmiştir.^{16, 19-23}

Bu gün bilinen pek çok etken maddenin indometazin ile uyarılan gastrik hasar üzerine pozitif etkileri gösterilmiştir.^{16, 24-30} Diğer yandan çok sayıda bitki ekstrelerinin antiülserojen etkileri de rapor edilmiştir.^{31, 32}

Literatürde bazı bitki ekstrelerinin ve metabolitlerinin ülser etkilerinin incelendiği bazı araştırmalara rastlanmıştır. Ülserin önlenmesinde oksidatif süreç üzerinde bu bitkilerin etkili olup olmadığının tespit edilmesi hakkında ise bilgiler oldukça sınırlıdır. Bu bağlamda 2003'te Halis Süleyman ve arkadaşları likenler üzerine yaptıkları çalışmada *Lobaria pulmonaria* liken türünün antienflamatuar ve antiülser etkilerini bulmuşlardır.³³ 2005'te *Usnea longissima*'nın gastroprotektif etkileri ile ülser oluşumunda önemli rol oynayan bazı antioksidan enzimler üzerine etkileri rapor edilmiştir.³⁴ 2006'da *Usnea longissima*'dan izole edilen usnik asidin gastroprotektif ve antioksidan etkileri rapor edilmiştir.³⁵ Yine 2006'da *Usnea longissima*'dan izole edilen difraktaik asidin gastroprotektif etkileri ile oksidatif stresi etkileme süreci literatüre kazandırılmıştır.³⁶

Maclura pomifera, Türkiye'de süs bitkisi olarak yetiştirilen Moracea familyasına ait bir türdür. Bu bitki; yalancı portakal, at elması, sahte portakal, çit elması olarak halk arasında bölgeden bölgeye göre değişen isimlerle adlandırılır. Ağacının yaprakları ve meyvesi yeşil renkte olup ismini ağacından almıştır.^{37, 38} *Maclura* türleri yaygın olarak halk ilacı olarak kullanılır. *Maclura pomifera*'nın köklerini kaynatarak Kuzey Amerika'da yaşayan Komanşiler tarafından göz yaralarının tedavisinde kullandıkları bildirilmiştir.^{39,40} Bolivya'da bu bitkinin çorbasının diş ağrısının tedavisinde kullanıldığı, yaprakları ve çıkarılan özünün uterus kanamalarında kullanıldığı bildirilmiştir.⁴¹ *Maclura pomifera*'nın ayrıca antibakteriyal, antifungal, antiviral, antitümör ve

antimalariyal aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir.^{39, 42, 43} *Maclura pomifera*'nın güçlü antioksidan özelliği yapısındaki izoflavinler, osajin ve pomiferinden olduğu belirtilmiştir.^{38, 43, 44}

Bu açıdan bakıldığında bu çalışmada *Maclura pomifera* bitkisinden elde edilen su ekstresinin (MPSE) ülser neden olup olmadığı ayrıca bu bitkiyle ilgili birimimizde yapılan başka bir çalışmada antiinflamatuvar etkisinin olup olmadığı ve oksidatif süreçte etkili olup olmadığının tespit edilmesi açısından önemli bir devrim niteliği taşımaktadır.⁴⁵

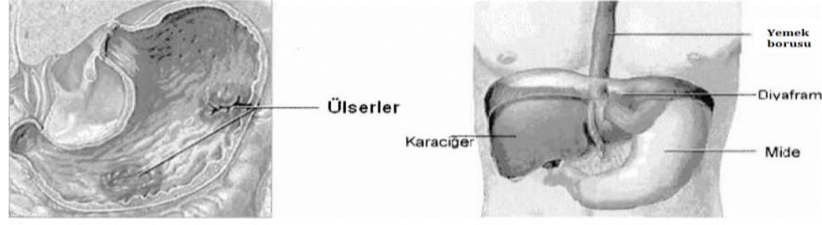
Bu araştırmada; ratlarda indometazin ile oluşturulan ülser modeli kullanılarak bir Moraceae (Dutgiller familyası) türü olan *Maclura pomifera*'dan elde edilen su ekstresinin in vivo ülser etkileri ve bu etkilerin antioksidant mekanizmalar (CAT ve SOD enzimleri, GSH ve LPO düzeyleri) ile ilişkisi tespit edilmeye çalışıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mide ve ülser

Mide diyaframın (göğüsle karın boşluğunu birbirinden ayıran kas bölme) altında, epigastrik (mide hizasındaki karın duvarına ait), umbilikal (göbeğe ait) ve sol hipokondriak (lokmaaltı) 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 cm³, pubertede 1000 cm³ ve erişkinde 1500 cm³ kadardır.⁴⁶ Mide fizyolojik olarak, besinlerin sindiriminde önemli rol oynayan ve sindirim enzimleri, hormonlar, hidroklorik asit, B₁₂ 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 *kardia*, *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.⁴⁷

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.



Şekil 2.1. Midenin yerleşimi ve ülserli midenin görünümü.

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. Gerektiğinde 2-3 litre besin depolayabilir.

- Alınan besinleri mide ile karıştırarak yarı sıvı, yarı katı şeklindeki kimus haline getirir.

- Kimusun ince bağırsaklara geçişini kontrol eder.

Midede sindirim ve kimus oluşumu, mide salgısı ile sağlanır. 24 saatte 2-3 litre mide özsuyu salgılanır. Bu salgı içinde pepsin, HCl, 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

tarafındaki konveks eğriliğe kurvatura majör denir. Midenin küçük kurvatürü kardias ile pilor arasında ve diyaframın sağ krusunun çapraz yapan lifleri önünde uzanır. Büyük kurvatür üstte gastrointestinal ligament, altta omentum majus ile bağlantılıdır. Omentum majusun iki yaprağı arasında sağ ve sol gastroepiploik damarlar bulunur.^{48, 49} 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.^{48, 49}

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 en önemli organlarından olan midede birçok koruma mekanizması bulunmakla beraber birçok fizyopatolojik olayın da gelişmesi olasıdır. Ayrıca gastrointestinal sistem 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 etiyolojisi farklı olmakla beraber sonuç olarak inflamasyon meydana gelmekte ve bunun sonucunda ise peptik ülser oluşmaktadır.^{48, 49}

Peptik ülser; mide mukozasının ileri derece inflamasyonu anlamına gelir. Mide ve duodenumun multifaktöriyel-kronik inflamatuvar hastalığıdır; gastrointestinal 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 inflamasyon yüzeysel olduğundan çok zararlı değildir. Hâlbuki peptik ülser, mukozanın, mide sıvısının sindirim işlevi sonucu ortadan kaldırılmış alanıdır ve yüzeysel olmayıp

daha derinlere inmektedir^{47,48}. Gastrointestinal (GI) ülserasyonda inflamatuvar cevap genellikle yıkıcıdır. Çünkü hepsi doku nekrozu ve gastrik ülserasyon patogenezinin yol açan lipit türevli eikosanoidlerin yanı sıra lokal inflamasyon araçlarının salınımıyla birlikte görülür. Çalışmalar parental lökotrien uygulamasının gastrik vazokonstriksiyon, vasküler permeabilitede artış, gastrik mukozada yıkım, asit ve pepsin sekresyonunda artış meydana getirdiğini göstermiştir.⁵⁰ Eğer vasküler hasar varsa, süperfisiyal 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 süperfisiyal mukozal hücre hasarına rağmen gastrik pit' deki proliferatif zon çabucak hasarı karşılar ve hücre proliferasyonu gelişir. Eğer vasküler hasar yoksa veya az ise süperfisiyal 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.^{51, 52} Belirtildiği üzere gastrik hasarın midedeki savunma ve yıkıcı faktörlerin etkileşim sürecindeki düzensizlikten ileri geldiği iyi bilinmektedir. Gastrik hasar: mide ve duodenumda mukus, bikarbonat, prostaglandin 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 indometazin gibi nonsteroid

antienflamatuar ilaçlar (NSAİİ), *Helicobacter pylori* ve *Herpes simplex* virüsü (Tip I/HSV-1) hastalığı meydana getiren faktörlerdir. Hastaların yaklaşık %60-80'inde etiyolojik faktör bilinmemekle beraber hastalık gelişimindeki fizyopatoloji birbirlerine benzerdir.^{3, 53} 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.^{54, 55}

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 süttten kesimin gastrik hasar oluşmasını etkilediği aynı zamanda beslenmenin, parazitik faktörlerin, savunma ve saldırgan faktörlerdeki değişikliklerin gastrik hasar oluşumu ile paralellik gösterdiği görülmektedir.⁵⁶⁻⁵⁸

Non steroid anti-inflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) günümüzde özellikle romatizmal hastalıklarda sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak bu ilaçlara bağlı olarak özofagus, mide, duodenum ve böbreklerde önemli yan etkiler görülmektedir.⁵⁹ Endoskopik taramalarda NSAİİ kullanan bireylerin %35-60' nda midede erozyonlar ve submukozal kanamalar ile %10-25'nde mide ve duodenumda ülserler görülmektedir. Özellikle yaşlılarda bu oranlarda ve komplikasyon riskinde daha fazla artış olmaktadır.^{60, 61} Ayrıca NSAİİ kullananların yaklaşık % 10' unda ölüm bildirilmiştir. NSAİİ bağlı gelişen

gastroduodenal lezyonlar akut olarak 1-2 hafta içinde, kronik olarak ise dört hafta ve sonrasında gelişir.⁶⁰ Daha öncede belirtildiği üzere ülseri meydana getiren önemli sebeplerden biri de NSAİİ kullanımıdır. NSAİİ kullanımı 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, inflamatuvar bozukluklardaki kullanımlarının en büyük dezavantajı olmaya devam etmektedir. NSAİİ'ler tarafından uyarılan gastrik hasarların oluşum mekanizması ayrıntılı olarak aydınlatılmıştır. Bunlar arasında prostaglandin biyosentezinin inhibisyonu, lokal kan akışında bir azalmanın olması topikal tahriş, yeniden yapılanma ve doku onarımının engellenmesi sayılabilir.^{62, 63}

Aspirin ve indometazin'in siklooksijenaz (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.^{64, 65} 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 inflamatuvar uyarılarla aktive olan formdur. Makrofajlarda ve diğer inflamatuvar hücrelerde bulunur ve iltihap etkenleri ile indüklenebilir.⁶⁶ NSAİİ'lerin gastrik yan etkilerinden COX-1inhibisyonu, anti-enflamatuvar etkilerinden ise daha çok COX-2 inhibisyonu sorumludur.⁶⁷ Aspirin ve indometazin, COX-1'e olan selektiviteleri COX-2'ye 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'lardan meloksikam, tenoksikam ve nabumeton halen tıbbi kullanımı yaygın olan ilaçlardır.^{52, 65}

Aspirin ve indometazin gibi antienflamatuar ilaçların COX enzim sistemini bloke etmesi ise prostaglandin biyosentezinin baskılanması ve gastrik mukozal bariyerin bozulması sonucu gastrik hasarın oluşumuna neden olur. Daha önceki araştırmalarda COX enziminin inhibisyonu sonucunda araşidonik asit 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.^{51, 54, 68-70} Oksijen radikallerinin stres, etanol ya da NSAİİ'lerle oluşturulan akut deneysel gastrik lezyonların patogenezendeki rolü de çok iyi bilinmektedir.⁶⁸⁻⁷³

Bununla beraber gastrik bikarbonat ve mukus sekresyonunun azalması indometazinin hasarlayıcı etkisine yardım eder.⁷⁴ NSAİİ'lerin gastrik hasar oluşturmadaki temel mekanizmaların başında reaktif oksijen sınıfları (ROS) miktarını artırması ve prostaglandin miktarını düşürmesi gelmektedir. Bu ROS miktarındaki artış ve buna paralel olarak prostaglandinlerin eksikliği midede gastrik asitlerin, safra tuzlarının ve etanol'ün tahrip edici etkilerini artırmaktadır. ROS'nın gastrik ve duodenal mukozaya verdiği tahrip edici ülseratif etkileri (kanamalarda dâhil olmak üzere), hayvanlardan insanlara kadar geniş bir yelpazede araştırılmıştır.^{75, 76}

İndometazin gibi NSAİİ'lar kullanılarak oluşturulan deneysel akut gastrik lezyonlarda oksijenden türevli ROS ve LPO'nun önemli rollerinin olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Ayrıca bu çalışmalarda lipit peroksit ve hidrojen peroksitin gastrik mukozal hücrelerde birikiminin hızlanmasına rağmen glutatyon peroksidaz aktivitesinin azaldığı görülmektedir. Hidroksil, süperoksit, hidrojen peroksit, nitrik oksit, peroksinitrit gibi radikallerin çeşitli reaksiyonlarla dokularda oluşturduğu hasarlar gibi gastrik hasar oluşumunda da birçok reaksiyonu yönlendirdikleri görülmektedir. Bu

yüzden gastrik mukozadaki ülser formasyonunun giderilmesinde antioksidan enzimlerin koruyucu fonksiyonlarının olduğu düşünülmüştür.^{77, 78}

Hücreler ROS'un zararlı etkilerini önleyebilecek veya oluşan zararlı etkileri tamir edebilecek birçok mekanizmaya sahiptir. ROS'un tahribatları, primer olarak enzimler ve sekonder olarak da antioksidan vitaminler, glutatyon (GSH) ve melatonin gibi birçok makro ve mikro moleküller tarafından azaltılarak serbest radikallerin hücrelerde düşük ve belirli konsantrasyonlarda tutulmaları sağlanır.^{79, 80} Şayet süperoksit (O⁻), hidroksil (HO⁻) ve hidrojen peroksit (H₂O₂) gibi ROS üyeleri aşırı üretilirse, membran lipitlerinin, proteinlerin, nükleik asitlerin ve ekstraselüler matriks glikozaminoglikanların zarar görmesine bağlı olarak doku hasarı prosesi başlayabilir. Gastrik hasar oluşumunu tetikleyen mekanizmalardan birisinin de bu mekanizma olabileceği pek çok araştırmacı tarafından öne sürülmüştür.^{77, 78} Serbest radikalleri etkisizleştiren sekonder moleküllerden GSH ise, gastrointestinal doku lipitlerini oksidatif hasardan korumada önemli görev üstlenmiştir.⁸¹⁻⁸⁴ Bu gün bilinen pek çok etken madde ve bitki ekstraktlarının indometazin ile uyarılan gastrik hasar üzerine pozitif etkileri gösterilmiştir.^{69, 71, 85, 86}

2.2. Antioksidanlar

Organizmada, fizyolojik ve metabolik süreçlerin sonucu olarak reaktif oksijen türleri üretilmekte ve zararlı oksidatif reaksiyonlar oluşmaktadır. Hücreler de bu olaylara karşın, oksidanları toksik olmayan moleküllere çeviren, bu şekilde organizmayı oksidatif hasardan koruyan enzimatik ve enzimatik olmayan sistemler geliştirmişlerdir.⁸⁷ Bu savunma sistemlerine genel adıyla antioksidanlar denmektedir. Potansiyel toksik oksijen türleri yapmaya yetkin kimyasal bileşikler ve reaksiyonlar da pro-oksidan olarak adlandırılır. Antioksidanlar, düşük konsantrasyonlarda substratın oksidasyonunu geciktiren veya önleyen tüm maddelerdir ki bu oksidanların direk etki

ile inaktivasyonunu ifade eder.^{88, 89} Bir başka deyişle peroksidasyon zincir reaksiyonlarını engelleyerek lipid peroksidasyonunu inhibe eden ve/veya reaktif oksijen türlerini tutan maddelerdir.⁹⁰ Tüm antioksidanlar etkilerini başlıca dört farklı şekilde gerçekleştirmektedirler. Bunlar;

1- Oksidanları tutarak toksik olmayan ürünlere dönüştürme işlemi ki bu daha çok antioksidan savunma enzimlerince yapılır.

2- Hasar onarıcı sistemler, burada sözü edilen ise hücrede DNA için onarım mekanizmaları ve okside olmuş yağ asitlerini zar lipidlerinden uzaklaştıracak mekanizmalardır. Proteinlerdeki okside olmuş amino asitler, proteinin yıkılması ve yeni protein sentezi ile sürekli onarılır.

3- Metal sekestrasyonu; bu daha çok metal iyonlarının oksidan moleküllere ya da protein yapılarına bağlanarak olası zincir reaksiyonların engellenmesi ile oluşmaktadır.

4- Bunun yanı sıra bazı tür reaktif oksijen türlerini üreten enzimlerin, antioksidan enzim taşıyan peroksizomlara hapsedilmesi gibi uzaklaştırıcı etkiler de mevcuttur.^{88, 91, 92}

Antioksidan moleküller doğal antioksidanlar ve doğal olmayanlar (ilaçlar) olmak üzere iki genel grupta incelenir. Doğal antioksidanlar da enzimatik ve enzimatik olmayan savunma sistemleri alt başlıklarında incelenebilir.⁹¹ Enzimatik olmayan savunma sistemleri, serbest radikalleri enzimatik olmayan tepkimelerle radikal ve toksik olmayan şekillere çevirirler. Bunların çoğu radikale bir hidrojen atomu (bir elektronla birlikte) bağışlayarak serbest radikali nötralize eden antioksidanlardır. Bu tepkimelerle antioksidanlar okside olurken serbest radikal miktarını azaltırlar.⁹¹ Doğal antioksidanların enzimler başlığı altında glutatyon peroksidaz, glutatyon S-transferaz, süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon redüktaz sayılabilir. Enzimatik olmayan ancak doğal sayılan antioksidanlar arasında transferrin, seruloplazmin, ürik asit, bazı

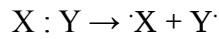
vitaminler, karotenoidler ve fenolik yapılar gibi moleküller sayılabilir. Doğal olmayan ilaç etkili antioksidanlara ise mannitol, trimetozidin, barbitüratlar, indapamid gibi örnekler verilebilir.

2.2.1. Serbest Radikaller

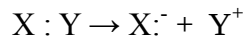
Serbest radikaller orbitallerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron barındıran atom veya moleküllerdir. Elektronlar atomlar içerisinde orbital olarak bilinen bölgelerde en fazla iki tane olacak şekilde ve birbirlerine zıt konumda bulunmaktadır. Demir, bakır, mangan gibi geçiş metalleri yörüngelerinde birer elektron taşımalarına rağmen radikal karakter göstermezler buna rağmen 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 dizilişleriyle birlikte termodinamik yapıları ve lokal kinetik reaktiviteleri de değerlendirilmelidir. Serbest radikaller üç yolla oluşur.⁹³

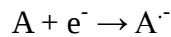
1. Hemolitik bağ ayrılması ve bir elektronun bir molekülden diğerine transfer edilmesi sonucu oluşan serbest radikallerdir. En yaygın görülen serbest radikal oluşumu hemolitik bağ ayrılmasıdır.



2. Bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün heterolitik bölünmesi. Heterolitik bölünmede kovalent bağ 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.

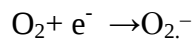
Ayrıca serbest oksijen radikali oluşumunun anahtar maddeleri arasında oksijenin kendisi, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metal iyonları ve hidroksil radikalleride yer almaktadır. Oksijenli (Aerobik) solunum yapan canlılar dışarıdan aldıkları besin maddelerini oksitleyerek organizma canlılığının devamı için gerekli kimyasal bağ enerjisine yani ATP'ye çevirirler.

Dolayısıyla aerobik solunum yapan canlılar serbest radikallerin en fazla olduğu canlı grubudur. Bu nedenle aerobik solunum yapan canlılar serbest radikallerin etkilerine daha fazla maruz kalırlar.⁹⁴

2.2.2. Serbest Radikal Çeşitleri

Süperoksit radikali (O_2^-)

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

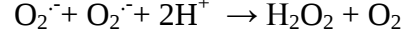


Süperoksit radikali (O_2^-) hemen hemen bütün aerobik hücrelerde bulunmaktadır. Süperoksit radikalini eozinofil, monosit, makrofaj ve nötrofil gibi fagositik hücreler tarafından üretilerek radikal oluşunu artırdığı bilinmektedir.⁹⁴

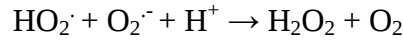
Süperoksit radikali nadir olarak oksidatif hasara neden olurlar. Çünkü SOD enzimi ile hızlı bir şekilde hidrojen peroksit (H_2O_2) çevrilir. Buna ilaveten asidik durumlarda H_2O_2 ve peroksil (HO_2^-) radikallerini üreten spontan reaksiyona uğrar.

Süperoksit radikallerinin asıl zararları hidrojen peroksit kaynağı ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmalarıdır.⁹⁵

İki süperoksit radikalının bir araya gelmesi sonucu hidrojen peroksit oluşur.



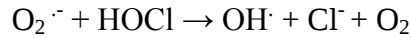
Süperoksit radikali ve peroksil radikali birbirleriyle reaksiyona girince biri okside olurken diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonu sonucu da hidrojen peroksit ve oksijen oluşur.



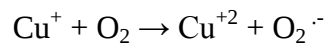
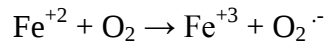
Süperoksit radikalının nitrik oksit radikali ile birer eşleşmemiş elektronlarını kovalent bağ ile bağlamaları sonucu peroksinitrit meydana gelir.⁹⁶



Hipoklorik asit (HOCl) oksijen metabolitleri ile reaksiyona girme özelliğine sahip olması nedeniyle ilgi uyandırmıştır. Hidroklorik asitin süperoksit radikali ile reaksiyona girmesi sonucunda oldukça güçlü oksidan olan hidroksil (OH[·]) radikalının oluştuğu görülmüştür.⁹⁷



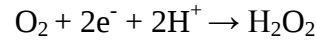
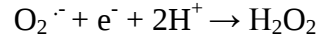
Süperoksit anyonu hem indirgeyici hem yükseltgeyici özelliğe sahiptir. Adrenalin, dopamin, askorbat ve hidroksilamini oksitler nitrobluetetrazolium ve sitokrom c'yi indirger. Redüktan olarak görev yaptığında ferrisitokrom c'nin redüksiyonunda bir elektron kaybeder ve oksijene okside olur. Oksidan olarak görev yaptığında ise epinefrinin oksidayonunda bir elektron alır ve hidrojen peroksite indirgenir.⁹⁸ 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.⁹⁹

Hidrojen peroksit (H₂O₂)

Asidik ortamda moleküler oksijenin ortamdan iki elektron alması veya süperoksit'in bir elektron alması sonucu hidrojen peroksit meydana gelir.⁸⁹



Biyolojik sistemlerdeki hidrojen peroksitin asıl kaynağı herhangi bir sistem tarafından üretilen süperoksit radikalinin dismutasyon reaksiyonudur. Ayrıca urat oksidaz, glukoz oksidaz, ve D-aminoasit oksidaz gibi enzimler iki elektronunu oksijene vererek H₂O₂ oluştururlar.

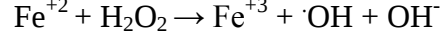
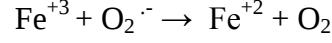


Hidrojen peroksit kendi başına çok zayıf oksidant özelliği gösterir. Çünkü ortaklanmamış bir elektron içermemektedir. Hidrojen peroksit gerektiğinde hücreler tarafından selenyum içeren glutation peroksidaz, katalaz ve belirli peroksidazlar tarafından ortadan kaldırılabilir. H₂O₂ serbest bir radikal olmadığı halde, ROS 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.⁹⁶



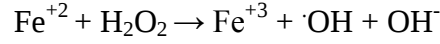
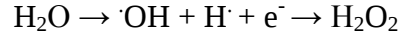
Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu adı verilir. Haber-Weiss reaksiyonu katalizörlü veya katalizörsüz olarak meydana gelebilir; ancak katalizör olmadığı zaman çok yavaş ilerler. Bu reaksiyonda önce ferri demir (Fe⁺³) süperoksit tarafından ferro demir'e (Fe⁺²) indirgenir. Daha sonra bu ferro demir kullanılarak Fenton reaksiyonu ile

hidrojen peroksitten $\cdot\text{OH}$ ve OH^- üretilir.^{100, 101} Reaksiyonun mekanizması aşağıdaki şekildedir.

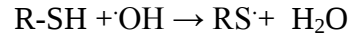


Hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$)

Hidroksil radikalleri, hidrojen peroksitin 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.¹⁰²



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



Meydana gelen sülfür radikali oksijenle birleşerek tiyol peroksil (RSO_2) ve sülfenil (RSO) gibi oksisülfür radikallerini meydana getirir. Bu radikaller de biyolojik moleküllerde hasar yapıcı etkiye sahiptir.

Bekli de $\text{OH}^\cdot$ en iyi tanımlanmış biyolojik hasarı lipid peroksidasyonunu stimüle etmesidir. Bu durum hidroksil radikallerinin membrana yakın bir yerde üretilmesi ve membran fosfolipid zincirinin yağ asidi tabakasına atak yapması ile meydana gelir. Ayrıca hidroksil radikalının araşidronik asit gibi doymamış yağ asitlerine olan ilgisinin de fazla olduğu ileri sürülmektedir.

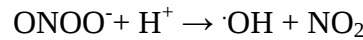
Singlet Oksijen ($^1\text{O}_2$)

Singlet oksijeneleşmemiş 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 ile okside olmasını artırmaktadır. Singlet oksijen özellikle fotokimyasal reaksiyonlar için oldukça önemlidir.^{94, 103}

Nitrik oksit (NO[•]) ve nitrojen dioksit (NO₂[•])

Nitrik oksit ve nitrojen dioksit eşleşmemiş elektronları ile birer radikaldirler. Nitrojen dioksit, nitrik oksitin oksijen ile reaksiyona girmesi sonucu meydana gelir. NO₂ oldukça zehirli ve çok güçlü bir oksidandır. Oksijen redüksiyonu sırasında NO₂'ye maruz kalması durumunda araşidronik asit metabolizmasının NO₂ konsantrasyonuna bağlı olarak değiştiği görülmektedir. Düşük miktarda NO₂'nin araşidronik asit metabolizmasını büyük oranda artırdığı gözlenmiştir.^{89, 104, 105}

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, tiol grupları ve nitrojen dioksit ile hızlı reaksiyonlar oluşturmaktadır. Diğer radikallerle birlikte diabetes mellitus, septik şok, kalp bozuklukları, Alzheimer hastalığı ve gastrik hasar oluşumunda etkili olduğu düşünülmektedir.^{104, 106}



2.2.3. Diğer Serbest Radikaller

Serbest oksijen radikallerinin etkisi sonucu karbon merkezli radikaller ($R\cdot$), peroksil radikalleri ($ROO\cdot$), alkoksil radikalleri ($RO\cdot$), tiyol radikalleri ($RS\cdot$) gibi önemli serbest radikallerde oluşabilir. Bunlardan özellikle çoklu doymamış yağ asitlerinden meydana gelen peroksil radikali yarı ömrü uzun olan bir radikaldir. Tiyol radikalleri de tekrar oksijenle reaksiyona girerek sülfenil ($RSO\cdot$) veya tiyol peroksil ($RSO_2\cdot$) vb. gibi radikalleri oluşturabilirler.

2.2.4. Serbest Radikallerin Kaynakları

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

2.2.4.1. Eksojen Radikal Kaynakları

- İlaç oksidasyonları
- Radyasyon
- Güneş ışığı, UV-ışınları
- Sigara dumanı, egzoz gazları
- Kükürtdioksit
- Çevresel ajanlar: Hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, hiperoksit, pestisitler, solventler, anestezi maddeler, aromatik hidrokarbonlar gibi ksenobiyotikler.
- Stres: Stresin katekolamin düzeyi artırması ve katekolaminlerin oksidasyonu ile serbest radikal oluşumu gözlenir.^{107, 108}

2.2.4.2. Endojen radikal kaynakları

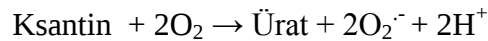
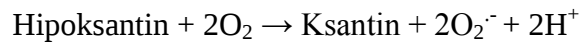
a. Küçük Moleküllerin Otoksidasyonu

Normal ortamda tiyoller, hidrokinonlar, katekolaminler, flavinler, tetrahidrobiyopterin gibi pek çok bileşik otoksidasyon reaksiyonları ile serbest radikalleri oluşturur.^{108, 109}

b. Enzimler ve Proteinler

Birçok enzimin katalitik siklusları sırasında da serbest radikaller açığa çıkar. Ksantin oksidaz, aldehit oksidaz ve triptofan dioksijenaz böyle enzimlerden olup, serbest radikal oluşumuna neden olurlar.^{107, 110}

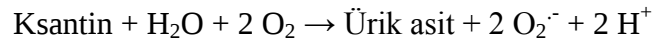
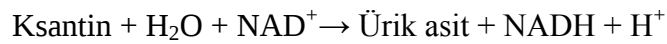
Ksantin oksidaz normalde nikotinamid adenin dinükleotid (NAD)-bağımlı dehidrogenaz olarak etki eder ve herhangi bir serbest radikal üretimine sebep olmaz; fakat, in vivo olarak oluşturulan iskemi, enzimin dehidrogenaz formundan oksidaz formuna dönüşmesine ve süperoksit radikalinin üretimine sebep olur. Ksantin oksidaz enzimi oksijen varlığında hipoksantini ksantine veya ksantini ürat'a oksitler. Bu reaksiyonda elektron alıcısı moleküler oksijendir.^{111, 112}



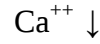
Hipoksantin-ksantin arasındaki bu tepkime sonucu oluşan süperoksitin yarattığı en büyük hasar vasküler sistemdedir; fakat yapılan araştırmalarda, ksantin oksidaz enziminin barsak, akciğer, karaciğer, böbrek gibi dokularda da hasara neden olduğu gözlenmiştir.^{113, 114}

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

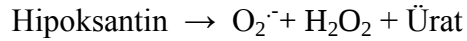
konsantrasyonun artması proteazların miktarı artsa bile devam eder. Bu sırada hücre ksantin dehidrogenazın (XD) ksantin oksidaz (XO)'a dönüşümüne izin verir. Bu oluşan hücre içi olayların sonunda XD enzimi dehidrojenaz formundan oksidaz formuna dönüşür ve süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) radikalinin üretimine 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.^{93, 115}



XD



XO



Aldehit oksidaz yapı itibariyle ksantin oksidaza benzer ve substratlarının çoğunu da aynı şekilde kullanarak süperoksit radikali üretirler.¹¹⁶

c. Mitokondriyal Elektron Taşınması

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, ikinci olarak koenzim Q ya da ubikinon basamağında elektron sızması görülmektedir. ETS'nin son basamağında elektronların O_2 'e taşınmasından sorumlu olan sitokrom oksidaz enzimi, oksijenin %97-99'unu harcayarak suya indirger. Ancak O_2 'nin %1-3'ü, elektron transport zincirinden sızan elektronlarla

bir araya gelerek süperoksit radikalının üretimini artırır. Böylece NAD^+ bağlı substratlar, süksinat, adenosin di fosfat (ADP) ve oksijen gibi endojen faktörler oksidatif fosforilasyonu regüle ederek mitokondriyal radikal üretimine etki eder.¹¹⁷

d. 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_5 , doymamış yağ asitleri ve ksenobiyotikleri redükte ederken dioksijen ve diğer substratları ise okside ederler.

e. Peroksizomlar

Peroksizomlar oldukça önemli sitozolün hidrojen peroksit kaynağıdır. Bu organeldeki D-aminoasit oksidaz, urat oksidaz, L-hidroksilizin oksidaz ve yağ asidi açıl-CoA oksidaz gibi oksidazlar O_2^- üretmeden, bol miktarda H_2O_2 üretimine sebep olurlar.

Ancak katalaz aktivitesi çok yüksek olduğu için bu organelden sitozole ne kadar H_2O_2 geçtiği bilinmemektedir.¹⁰⁷

f. Plazma Membranı

Plazma membranı serbest radikal üretimi için kritik bir yer oluşturmaktadır. Ekstraselüler olarak üretilen serbest radikaller diğer hücre komponentlerine ulaşmadan önce plazma membranını geçmesi gerekir. Bu geçiş sırasında membranda toksik reaksiyonların oluşmasına da neden olabilirler. Membranda yer alan fosfolipidler, glikolipidler, gliseridler ve membran proteinleri serbest radikallerden anında etkilenirler. Lipid peroksidasyonu veya yapısal proteinlerin oksidasyonu sonucu membran permeabilitesinde bozukluklar meydana gelmektedir.^{118, 119}

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-oksidad aracılığı ile üretiminin serbest radikal oluşumunun önemli bir kaynağı olarak görülmektedir.¹²⁰

Lipoksijenaz ve siklooksijenaz gibi plazma membranıyla bağlantılı enzimler ile mikrozomlar tarafından serbest radikal üretimi, bu enzimlerin predominant substratı olan araşidonik asit metabolizması ile ilişkili pek çok yeni buluş ve biyolojik açıdan önemli ürünlerin meydana gelmesinden dolayı ilginçtir.

Bu ürünler PG'leri, tromboksanları, lökotrienleri ve anaflaksinin slow-reakting substratını içerir. Son zamanlarda araşidonat metabolizmasında yer alan bu enzimatik proseslerin otokatalitik LPO'nun öncülük etmesi bu konuya olan ilgiyi artırmıştır. Serbest radikal üretimini bazı toksik maddeler artırabilir. Bu maddeler dört gruba ayrılır.^{107, 121}

1- Toksinin kendisi bir serbest radikaldir.

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

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

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

2.2.5. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller etkilerini özellikle canlı hücreler için yaşamsal öneme sahip olan DNA, yağlar ve proteinlere 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 bilinmektedir.

2.2.5.1. Membran Lipidleri Üzerine Etkileri

Membranlar üzerindeki birçok bileşik ve molekülün serbest radikallerden etkilenmesine rağmen, radikallerin en belirgin etkileri yağ asitleri üzerine etki ederek lipid peroksidasyonunu (LPO) başlatmaları olarak bilinir. LPO, çoklu doymamış yağ asitlerinin radikaller ile oksidasyonu sonucu başlayan ve otokatalitik zincir reaksiyonları şeklinde devam eden bir çok biyolojik yapıda hasarlara neden olan reaksiyon sürecidir. LPO membranlarda oluşturduğu yıkıcı etkisi genellikle reaksiyon sırasında açığa çıkan $\cdot\text{OH}$ radikalının membran yağ asidi yan zincirlerine saldırmasıyla oluşur. LPO ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür.^{107, 122, 123}

Lipid peroksidasyonu başlatan ilk hareket membran ya da çoklu doymamış yağ asitlerinin içerdiği metilen grubundan ($-\text{CH}_2-$) bir hidrojen ($\text{H}^\cdot$) atomunun çıkartılması ile başlar. Böylece tek elektron içeren $\text{H}^\cdot$ 'nin uzaklaştırması sonucu karbon merkezli $-\text{CH}^\cdot-$ 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 çoklu doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek yeni karbon merkezli radikaller oluştururken, kendileri de açığa çıkan $\text{H}^\cdot$ parçacığı ile birleşerek lipid

hidroperoksitlerine dönüşür ve böylece olay kendi kendine katalizlenerek devam eder ve zincir reaksiyonlarının başlamasına neden olur.^{89, 108}

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 MDA ve 4-hidroksinonenal (HNE)'dir. 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 yayarlar. Lipid radikallerinin hidrofobik yapıda olması dolayısıyla 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, iyon transportunu etkileyebilirler.^{90, 121, 124}

LPO reaksiyonu ya toplayıcı antioksidan reaksiyonlarla sonlandırılır veya otokatalitik yayılma reaksiyonları ile devam eder.⁸⁹

LPO sonucunda membran yapısında çeşitli değişiklikler meydana gelir. Bunlar kısaca.¹²⁵ Membran üzerindeki yağ asiti miktarında azalma meydana gelir

1- Lipid peroksidasyonu 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 lipidlerin akışkanlığını bozar

4- Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan serbest radikaller membran dışında da çeşitli yapısal moleküllerde bozulmalara neden olurlar.

2.2.5.2. 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 fragmentasyon, 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.^{107, 126}

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 spesifikdir. 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.^{127, 128}

2.2.5.3. DNA Üzerine Etkileri

İyonize edici radyasyondan kaynaklanan hücre ölümünün başlıca nedeni olarak nükleik asitlerin ROS ile reaksiyona girmesi ve bu reaksiyon sonucunda DNA'da mutasyona ve hücre ölümüne yol açtığı düşünülmektedir. Ayrıca lipid peroksidasyonu sonucu oluşan melanoaldehit (MDA)'ın nadirde olsa DNA'da mutasyona sebep olduğu, beslenme ve yaşam şekli gibi faktörlerle bir araya gelerek kanser ve genetik bazı hastalıklara neden olduğu düşünülmektedir.^{129, 130}

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 katma 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.^{131, 132}

Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir. ROS, DNA'nın oksidatif hasarı sonucu karsinogenesis ve çeşitli hastalıklar görülebilir.^{129, 130, 133, 134}

2.2.6. Doğal (Endojen) Antioksidanlar

2.2.6.1. Primer Antioksidanlar (Enzimler)

Doğal bir süreç halinde seyreden oksidatif stres tüm canlı sistemlerde, çeşitli basamaklarda oluşmaktadır. Bu durumu kontrol altında tutan antioksidan

mekanizmalardan biri de enzimler olmaktadır. Aşağıda çalışmamızda kullandığımız antioksidan parametreler içinde olan enzimlere değinilecektir.

Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz enzimi ilk kez 1969'da Mc Cord ve Fridovich tarafından tanımlanmıştır.¹⁰⁹ Serbest radikallerden olan süperoksit anyonunu hidrojen peroksit ve moleküler oksijene çeviren bir metalloenzimdir. Bu reaksiyona dismutasyon adı verilir ve çoğu kez oksidatif strese karşı birinci savunma hattı olarak adlandırılır.^{92, 135} Süperoksitin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen bu enzim, beyinde yaygın bir şekilde bulunur ve aktivitesi yaş artışıyla beraber artar. İnsanlarda iki tipi vardır. Bunlar sitozolde bulunan dimerik Cu ve Zn ihtiva eden CuZnSOD ile mitokondri de bulunan tetramerik Mn ihtiva eden MnSOD^{136, 137} izomerleridir. SOD'nin Fe ihtiva eden izomeri (FeSOD) ise sadece mikroorganizmalarda ve bazı bitkilerde bulunur. Genel olarak hücrede en bol bulunan izomer sitozolik Cu, Zn-SOD dir. Cu, Zn-SOD ilk defa, 1969'da, Mc Cord ve Fridovic tarafından hayvan, bitki dokuları ve mayadan saflaştırılmış ve tanımlanmıştır.

Molekül kütlesi 32.000 Daltondur. İki alt ünitesi vardır ve bunların her birinde bir Cu ve bir Zn atomu bulunmaktadır. Ayrıca her alt birimde bir zincir içi disülfür köprüsü, bir sülfidril grubu ve bir de asetillenmiş terminal amino grubu bulunmaktadır. Cu/Zn-SOD enziminin ayrı formları bulunmaktadır. Sitoplazmada bulunanın dışında bazı hayvanların plazmasında 130.000 Dalton molekül kütleli Cu/Zn-SOD bulunduğu tespit edilmiştir.¹³⁸ Mn-SOD mitokondrial bir enzimdir ve prokaryatların sitozolünden elde edilebilmektedir. İlk kez 1970 yılında Keele ve arkadaşları tarafından izole edilmiştir. Buradaki mangan +3 değerliklidir ve iki alt birimden oluşmuştur. Her alt birimde bir Mn atomu vardır ve 23.000 Dalton molekül kütesine sahiptir. Mitokondrial SOD hemen hemen total SOD'nin % 60 'ını içerir. Zira süperoksit sitozole göre

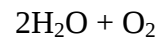
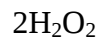
mitokondride hemen hemen iki kat daha fazla oluşur. Tüm SOD'ler fizyolojik şartlarda süperoksite karşı etkin bir koruma sağlarlar.¹⁴⁶ Her iki enzimin katalizlediği reaksiyon aynıdır. Enzimin fizyolojik fonksiyonu lipid peroksidasyonunu inhibe ederek oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikallerinin zararlı etkilerine karşı korumaktır.^{109, 139}

Normalde metabolizma sırasında hücreler tarafından fazlaca süperoksit üretilmesine rağmen bu enzim sayesinde intrasellüler düzeyleri düşük tutulur. SOD fagosite edilmiş bakterilerin intrasellüler öldürülmesinde de rol oynar. Bu yüzden SOD granülosit fonksiyonu için çok önemlidir. Lenfositlerde de granülositlerden daha fazla oranda SOD bulunur.¹⁴⁰

Katalaz (CAT)

İlk defa doğada yaygın bir şekilde mevcut olduğu 1901'de O. Leew tarafından tespit edilmiştir. 1937'de Summer ve Dounce tarafından karaciğerden kristal formda ilk kez izole edilmiştir. Molekül kütlesi 240.000 Dalton'dur. Dört alt ünitelerden oluşmuştur. Peroksizomlarda, lizozomlarda ve mitokondride bulunur. Kandaki katalaz aktivitesi büyük ölçüde eritrositlerden kaynaklanmaktadır. Bu nedenle insan eritrositleri katalaz yönünden çok zengindir. GPx esas olarak mitokondri ve sitozolde bulunurken, katalaz peroksizomlarda bulunur. Eritrositlerde mitokondri olmadığı halde yüksek aktivitede CAT ve GPx vardır. Katalaz 4 tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Peroksizomlarda lokalizedir.¹³⁹

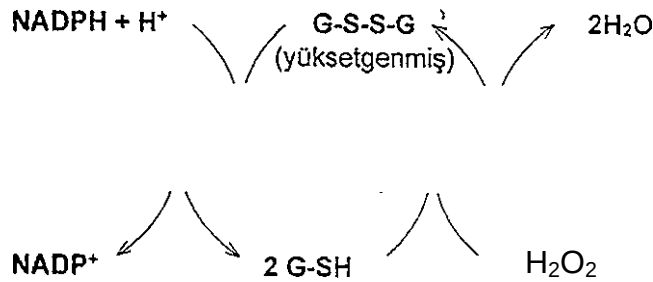
Büyük moleküllü lipid hidroperoksidlere etki etmezken, hidrojen peroksidi oksijen ve suya parçalar.¹³⁹



Glutasyon peroksidaz (GPx)

Hücre içinde esas olarak sitozol ve mitokondride yer almakta ve peroksizomlar dışında oluşan hidrojen peroksitin giderilmesinde ana araç olarak kullanılmaktadır. Glutasyon peroksidaz prostetik grup olarak selenyum içeren ve peroksitleri inaktive ederek etki gösteren bir enzimdir. Selen enzimleri ailesinde bulunan GPx aktivitesinin, selenyum eksikliğinde, azalmasına bağlı olarak peroksidatif hasar oluşumunda artış gözlenmektedir.^{92, 141}

Eritrositlerde ve diğer dokularda GPx, H_2O_2 ve lipid hidroperoksitlerin etkisizleştirilmesinde redükte glutasyonun yükseltgenmesin de gerçekleştirerek membran lipidleri ve hemoglobini peroksitlerin oksidatif hasarına karşı korur. Bu esnada okside olarak yükseltgenmiş glutasyon, glutasyon redüktaz aracılığıyla indirgenir. Burada pentoz fosfat yolu kaynaklı NADPH kullanılır. Ve NADPH'den elektron aktarımıyla glutasyon indirgenmiş hale dönüşür. Bu da GPx tarafından kullanılarak H_2O_2 suya dönüştürülmek suretiyle inaktive edilir.^{92, 107, 141}



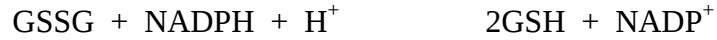
Şekil 2.2. GPx Aracılığıyla Glutasyonun G-S-S-G'ye yükseltgenmesi

Glutasyon redüktaz (GR)

Glutasyon redüktaz 50.000 daltonluk alt birimlere sahip bir dimerdir. Görevi yükseltgenmiş glutasyonu (GSSG) indirgenmiş (GSH) hale çevirmektir. Bu indirgenme işlemi sırasında NADPH'dan gelen elektronlar okside glutasyonun disülfid bağına direkt olarak transfer edilemezler. Sıklıkla önce NADPH'dan sıkıca bağlı bulunan FAD'ye

transfer edilirler. Daha sonraki alt birimlerdeki 2 sistein arasında bulunan disülfid köprüsüne transfer edilmek suretiyle okside glutatyona 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⁺ alanı birbirine benzer ve diğer dehidrojenazlardaki nükleotid bağlayıcı alanlara benzerler.

FAD ve NADP⁺'nin izoalloksozin ve nikotinamid halkaları birbirine geçecek şekilde geniş ölçüde aralarında bağlanırlar. Oksidize glutatyon için bağlayıcı alanın bir alt biriminin FAD alanı ile diğer alt birimin ara yüz alanından meydana geldiği belirtmek gerekir.¹⁴²



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

Glutatyon S-Transferaz (GST)

Antioksidan aktivitede önemli bir rol oynayan indirgenmiş glutatyon (GSH), kendisinden başka moleküllerdeki sülfhidril gruplarının korunmasını sağlayarak denge unsuru oluşturur. GSH serbest radikallerin, H₂O₂ ve diğer peroksitlerin inaktive edilmesine katkıda bulunur, çeşitli yabancı bileşiklerin inaktivasyonu da sülfür atomunun bu bileşiklerle birleşmesiyle sağlanır. Bu birleşme reaksiyonu glutatyon S-transferaz enzimi tarafından katalize edilir ve en son merkapturik asit oluşarak ekskrete edilir.

Sitozol ve mitokondride bulunan mikrozomal proteinler içeren bir enzimdir. GST çeşitli substrat moleküller üzerindeki elektrofilik noktalar üzerine redükte glutatyonun sülfhidril grubunun konjugasyonunu sağlar. Bu olay lipid peroksitlerin detoksifiye edilmesi için gereklidir. GST'nin ayrıca transport proteinleri olarak görev

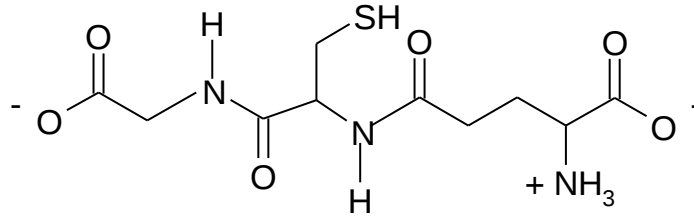
yapma ve önceleri "ligandin" adıyla anıldığı gibi toksinleri bağlama fonksiyonları da vardır.⁹²

2.2.6.2. Sekonder Antioksidanlar (Enzim Olmayanlar)

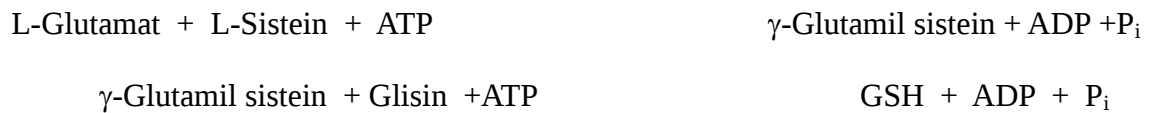
Lipit fazda bulunanlar antioksidanlar α , β , γ (-) tokoferoller (E vitamini) ve β -karoten'dir. Sıvı fazda (hücre sitozölü veya kan plazmasında) bulunanlar ise askorbik asit, miyoglobulin, melatonin, hemoglobin, üre, ferritin, sistein, metionin, seruloplazmin, albümin, laktoferrin, bilirubin ve glutatyon'dur.

Glutatyon (GSH):

GSH, birçok hücrede bulunur ve bir tripeptiddir: γ -L-glutamil-L-sisteinilglisin (Şekil 2.6). GSH L-glutamat, L-sistein ve glisinden iki basamakta sentezlenir. Oluşan her peptid bağı için bir molekül ATP harcanır.¹⁴³



Şekil 2.3. GSH'nin 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 glutatyon yani GSH, aktif bölgesinde selenyum iz elementini içeren bir enzim olan GPx enzimi katalizörlüğünde H_2O_2 ve organik peroksitlerle reaksiyona girerek antioksidan etki sergiler ve H_2O_2 'yi alyuvarlardan uzaklaştırır. H_2O_2 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.^{143, 144}

GSH, hidrojen peroksidi veya organik oksitleri kimyasal olarak detoksifiye edebilir. GSH'yi peptid bağından dolayı düşük enerjili bileşikler arasında kabul edebiliriz¹⁴⁵. GSH, hücre proteinlerini indirgemiş şekilde tutan disülfid-sülfidril değişimi tepkimelerinde etki gösterir. Belirli oksidaz tepkimeleriyle oluşan hidrojen peroksidi uzaklaştıran enzim GPx'e substratlık yaparak proteinlerin sülfidril gruplarını da korur. GSH yokluğunda hidrojen peroksit birikir. GSSG, GR tarafından sürekli GSH'ye indirgenerek GSH miktarı düzenlenir.¹⁴⁶

Moleküler oksijenden türeyen oksidatif radikaller iki mekanizmayla uzaklaştırılır. Birincisi, toksik radikallerin enzimatik inaktivasyonudur.

Örneğin GPx ve CAT, reaktif oksijen ara ürünlerini suya indirger. İkinci mekanizma ise oksijen radikallerini kimyasal olarak inaktive eden vitamin C, E ve β -karoten gibi diyetle alınan antioksidanlarla ilgilidir.

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. Glutasyon hücrede bir ko-enzimden ziyade var olan amino asit öncüllerinden kolayca sentezlenen doğal bir antioksidandır. Fenilalanin ve tirozinin oksidatif yıkımında görev alan maleilasetoasetat izomeras da dahil olmak üzere glutasyon çok az sayıda enzim için spesifik bir koenzimdir. Glutasyonun hücre içi derişimi kontrol edilerek birçok enzimin aktivitesi düzenlenebilir.¹⁴⁶

C. Diğer Sekonder Antioksidanlar

İnsan vücudunda oldukça az miktarlarda bulunmasına karşın vitaminlerin vücuttaki etkinlikleri oldukça fazladır. Bunların 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 hasarını önleyerek normal işlevlerini sürdürmeleri ve bazı zararlı maddelerin etkilerinin azaltılmasında (Antioksidan etki) yardımcı olurlar. Antioksidanlar, hücremizi, serbest radikalleri nötürleştirerek korurlar.

Bunlar uyum içerisinde çalışan bir takım gibi radikalik saldırılara karşı koyarlar. β -Karotenin, askorbik asitin ve tokoferolün antioksidan etkileri yıllardan beri bilinmektedir. β -Karoten organizmada A vitaminin parsiyal 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. Suda çözünen vitaminlerden birisi olan askorbik asit yapı itibarıyla en basit vitaminlerden biridir. Bir şeker asidinin laktonundan ibarettir. Yüksek yapılı hayvanların pek çoğu ve bitkiler kolayca askorbik asidi glukozdan sentezleyebilmektedir. 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.¹⁴²

2.2.7. Ekzojen Antioksidanlar

1. Ksantin oksidaz inhibitörleri: Tungsten, allopürinol, oksipürinol, folik asit, pterin aldehit
2. Soya fasulyesi inhibitörleri: Ksantin dehidrojenazın proteolitik etki sonucu ksantin oksidaza dönüşümünü inhibe ederler.

3. NADPH oksidaz inhibitörleri: Adenozin lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, non-steroid anti-inflamatuar ilaçlar, cetiedil, difenilin iyodonyum
4. Rekombinant süperoksit dismutaz
5. Troloks-c :E vitamini analogu
6. Endojen antioksidan aktiviteyi artıran maddeler: Glutasyon peroksidaz aktivitesini artırır. Bunlar; Ebselen ve Asetil sisteindir.
7. Diğer nonenzimatik serbest radikal toplayıcıları: Mannitol ve albümin
8. Demir redoks döngüsünün inhibitörleri: Desferroksamin ve seruloplazmin
9. Nötrofil adezyon inhibitörleri
10. Sitokinler: Tümör Nekroz Faktör (TNF) ve Interlökin - 1
11. Barbitüratlar
12. Demir şelatörleri.¹⁴⁰

2.2.8. Gıda Antioksidanları

- Butillenmiş hidroksitoluen (BHT)
- Butillenmiş hidroksianisol (BHA)
- Sodyum benzoat
- Etoksiguin
- Propilgalat
- Fe - superoksid dismutaz.¹⁴⁰

2.3. Moraceae (Dutgiller)

Çoğunlukla odunsu bitkilerdir. Çiçekleri çoğunlukla anemogam (rüzgarla tozlaşan), küçük ve petalsızdır. Sepal ve petal içerdiklerinde küçük ve pulsu ya da belirsizdir. Kuzey yarım kürenin kurak iklim kuşaklarına adapte olmuş ve yaprak döken ormanlar oluşturmuşlardır.

Moraceae 37 cinse ait 1179 tür barındıran tohumlu bitkilerin en geniş familyasıdır. Maclura cinsi bu ailenin en kapsamlısıdır. 36 özel türe sahiptir bu türlerden biride Maclura pomifera (Yalancı Portakal) dır.^{147, 148} Sistematığı şöyledir ;

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

2.3.1 Maclura Pomifera (Yalancı Portakal)

Yalancı portakal ağacı (Maclura pomifera), dutgiller (Moraceae) familyasından 20 m'ye kadar boylanabilen geniş tepeli bir ağaç (Şekil 2.1) türüdür.



Şekil 2.4. Maclura pomifera (Raf.) C.K. Schneid. – Yalancı Portakal ağacı

Morfolojik özellikleri

Genç sürgünlerin rengi yeşilimsi-gri veya açık kahverengi olup, çıplaktır ve üzerinde çok sayıda lentiseller bulunur. Sürgünler üzerinde dikenler bulunur. Sürgünler koparıldığında veya kesildiğinde süt görünümünde bir sıvı salgılar. Tepe tomurcuğu pseudoterminaldır. Tomurcuklar küçük, yandan basık, küre biçimindedir ve az sayıda pullarla örtülmüştür. 5-12 cm uzunluğundaki yaprakları uzun damla uçlu yumurta biçimindedir, üst yüzü parlak yeşil, alt yüzü açık yeşildir ve tam kenarlıdır. Bir cinsli iki evcikliktir. Çok sayıda çekirdekli sulu meyvelerin bir araya gelmesinden oluşan agregat meyve (bileşik meyve) 10 cm çapında, portakal görünümünde ve yeşil renklidir, (şekil 2.2) ezildiğinde süt salgılar. Taban suyu yüksek olan rutubetli yerlerde görülürse de, değişik toprak tiplerine uyum gösterebilirler. Türkiye'de çit ve süs bitkisi olarak yetiştirilmektedir.^{149, 150} Vatanı Kuzey Amerika'nın güney batısıdır. Bu bitki; yalancı portakal, at elması, sahte portakal, çit elması olarak halk arasında bölgeye göre değişen isimlerde adlandırılır. Ağacının yaprakları ve meyvesi yeşil renkte olup ismini ağacından almıştır.^{149, 151} Bu bitki, Türkiye'nin bazı bölgelerinde özellikle Konya, Bursa, Sivas, İstanbul ve Lüleburgaz'da bol miktarda bulunabilir.¹⁵²

Kimyasal içeriği bakımından *Maclura pomifera* meyve suyunun; %5.88 su, %6.72 kabuk (poça), %32.75 yağ, %33.89 protein muhteviyatını oluşturmaktadır. Ayrıca ekstrakta (mg/100 gr yağ) Potasyum, (421.65) Kalsiyum, (218.56) Magnezyum (185.00) bulunmuştur. Yağ asitlerinden linoleik, (%76.19) oleik, (%13.87) stearik (%6.76) ve palmitik asit (%2.44) içerdiği belirtilmiştir.^{153, 154}



Şekil 2.5. *Maclura pomifera* (Raf.) C.K. Schneid. – Yalancı Portakal meyvesi

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Deneylerde Kullanılan Kimyasallar

Enzim ölçümlerinde kullanılan bütün kimyasal malzemeler Sigma Chemicals Company(Germany)'den temin edilmiştir. İnflamasyon deneylerinde kullanılan ilaçlar ise;

indometazin : (Endol kapsül 25 mg) Deva ilaç

Ulkuran : Atlas İlaç

3.2. Deneylerde Kullanılan Cihazlar

Soğutmalı santrifüj : Hettich Universal 32 R

UV-Visible EIA Spektrofotometre : Biotechepoch

pH metre : Thermo Orion Star III

Hassas terazi : Denver

Derin dondurucu : Sanyo MDF - 235

Magnetik karıştırıcılar : Heildolpf

Otomatik pipetler : Eppendorf

Buzdolabı : Beko

Saf su cihazı : GFL 2012

Çalkalayıcılı su banyosu : GFL

Homojenizatör : Ika-T-18 Ultraturrax

3.3. Deneylerde Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları

1. CAT homojenat tamponu (50 mM pH 7.8, %1 Triton x-100 içeren Fosfat Tamponu)

1.7 gr KH_2PO_4 ve 2.5 ml Triton x-100 alınarak 200 ml saf suda çözüldü. pH 7.8'e ayarlanarak son hacim saf su ile 250 ml'ye tamamlandı.

2. CAT ölçüm karışımı (40 mM pH 7.0'de H₂O₂ içeren 50 mM Fosfat Tamponu)

1020 µl H₂O₂ ve 1.7 gr KH₂PO₄ 200 ml saf suda çözöldü ve pH 7.0'ye ayarlandıktan sonra son hacim 250 ml'ye tamamlandı.

3. SOD homojenat tamponu (50 mM pH 7.8, 10 mM EDTA içeren Fosfat Tamponu)

1.7 gr KH₂PO₄ ve 0.73 gr EDTA alınarak 200 ml saf suda çözöldü ve pH 7.8'e ayarlandıktan sonra son hacim distile su ile 250 ml'ye tamamlandı.

4. SOD ölçüm karışımı

A – 0.3 mM Ksantine: 0.0018 gr ksantine alınarak hacmi distile su ile 40 ml'ye tamamlandı.

B – 0.6mM EDTA: 0.0035 gr EDTA alındı ve hacmi distile su 20 ml'ye tamamlandı. (2 damla 5 M NaOH ile çözünür)

C – 150 µM NBT (Nitrobluetetrazolium): 0.0024 gr NBT alınarak 20 ml distile suda çözöldü.

D – 0.4 M Na₂CO₃: 0,5088 gr alınarak 12 ml distile suda çözöldü.

E – 1.2 gr / L BSA (Bovine Serum Albumine): 0.0061 gr tartıldı ve 6 ml distile suda çözöldü.

5.SOD enziminin aktivitesini ölçmek için gereken çözelti (167 U/L Xanthine oksidaz)

Orijinal ambalajından (1 ml'sinde 32 mg protein ve 0.3 U enzim ihtiva eden enzim) 34.79 µl alındı ve üzerine 2 ml soğuk 2 M (NH₄)₂SO₄ çözeltisi eklendi.

6. SOD enziminin aktivitesini ölçmek için gereken çözelti (2 M (NH₄)₂SO₄)

0.7928 gr (NH₄)₂SO₄ alındı ve 3 ml distile suda çözöldü. (bu çözelti her seferinde taze olarak hazırlandı ve soğuk olarak kullanıldı).

7. SOD enziminin aktivitesini ölçmek için gereken çözelti (0.8 mM CuCl₂)
0.0108 gr CuCl₂ alındı ve 100 ml distile suda çözöldü.

8. GSH Homojenat Tamponu (50 mM pH 7.4, Tris - HCl Tamponu)
1.514 g Tris-HCl alınarak 200 ml saf suda çözöldü ve pH 7.4'e ayarlandıktan sonra son hacim distile su ile 250 ml'ye tamamlandı.

9. GSH ölçüm tamponu (200 mM pH 8.2, 0.2 mM EDTA içeren Tris-HCl Tamponu)
6.05 gr Tris-HCl ve 0.0146 g EDTA alınarak 200 ml saf suda çözöldü ve pH 8.2'ye ayarlandıktan sonra son hacim distile su ile 250 ml'ye tamamlandı.

10.GSH miktarını ölçmek için gereken çözelti (10 mM DTNB):
0.03963 gr DTNB alındı ve 10 ml'ye metanol ile tamamlandı.

11.LPO homojenatı tamponu (% 10 KCl):
10 gr KCl alınarak 100 ml saf suda çözöldü.

12.LPO ölçüm karışımı

A - % 8 Sodyum lauril sülfat (SLS): 0.8 gr SLS alınıp distile su ile 10 ml'de çözöldü.

B - % 0.08 Tiyobarbütirik (TBA): 0.48 gr TBA alınarak 1-2 damla 1 M NaOH ilavesi ile hacmi 60 ml'ye tamamlandı.

C – % 20 Asetik asit: 13 ml glasiyel asetik asit alındı üzerine 65 ml distile su eklendi.

3.4. Deney Bitkileri

Maclura pomifera (Yalancı Portakal) Ankara Üniversitesi kampüs alanından Prof. Dr. Ergin HAMZAOĞLU ve Dr. Murat KOÇ tarafından 15.10.2010 yılında toplandı. Örnekler yine aynı araştırmacılar tarafından incelenip uluslararası teşhis

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

3.5. Bitki Ekstresinin Hazırlanması

Ankara yöresinden toplanan Maclura pomifera (Yalancı Portakal) meyveleri yıkandıktan sonra kabuğu soyuldu. Dilimlere ayrılarak 100 gr'lık porsiyonlar halinde süzgeç kâğıdına sarıldı. 250 ml distile su ile oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı üzerinde bir gün ekstrakte edildi. Liyofilizatörde suyu uzaklaştırılarak ham meyve suyu ekstresi (MPSE) elde edildi.

3.6. Deney Hayvanları

Çalışmamızda 190-210 gr. ağırlıktaki Sprague-Dawleyratlar kullanıldı. Ülser deneyleri ve biyokimyasal analizler için toplam 30 adet rat kullanılmıştır. Deney hayvanları (Şekil 3.1), Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarlarından temin edildi. Tez kapsamındaki biyokimyasal analizler Veteriner Fakültesi Biyokimya ABD Laboratuvarlarında yapıldı. Ratlar, deneye alınmadan önce gruplara ayrıldı ve standart bakım şartları altında muhafaza edildi.^{155, 156}



Şekil 3.1. Araştırmada kullanılan ratları gösteren fotoğraf.

3.7. Ratlarda İndometazin Ülserinin Oluşturulması ve Ekstrelerin Verilmesi

İndometazin ile uyarılan gastrik hasarlı (ülserli) doku üzerine MPSE'nin antiülserojen etkilerini araştırmak üzere yapılan bu çalışma, Guidobono ve arkadaşlarının¹⁵⁷ yöntemi esas alınarak gerçekleştirildi. 6'şar rattan oluşturulan deney grupları bir gün süreyle aç bırakıldıktan sonra; her bir grupta bulunan ratlara sırasıyla MPSE ekstreleri (250,500 mg/kg dozlarda), ranitidin (50 mg/kg) ve musluk suyu oral olarak verildikten 5 dakika sonra da indometazin (25 mg/kg) yine aynı şekilde oral yolla verildi. Uygulamalardan 6 saat sonra yüksek dozda anestezi madde (thiopentalsodium, 50 mg/kg) kullanılarak hayvanlar sakrifiye edildikten sonra mideleri çıkarıldı. Mideler büyük kuvartur boyunca açılarak serum fizyolojik ile yıkandı. Makroskopik olarak mide incelendikten sonra mide dokuları biyokimyasal incelemeler için -20 °C'de saklandı. MPSE'nin antiülserojen etkileri makroskopik ve biyokimyasal analizler yapılmak suretiyle belirlendi. Sonuçlar indometazin, ranitidin ve kontrol grupları ile mukayese edildi. Sağlıklı hayvan grubu kontrol grubu olarak değerlendirmeye alınacağından dolayı bu gruba yalnızca musluk suyu verildi. Böylece sağlıklı doku (kontrol) ile ekstrat, ranitidin ve indometazin verilen gruplar arasındaki korelasyonların istatistiksel olarak analizleri yapıldı.

3.8. Mide Dokusunun Makroskopik ve Biyokimyasal Olarak İnce Lenmesi

3.8.1. Mide Dokusunun Makroskopik İncelenmesi

Gastrik lezyonların belirlenmesi için rat mideleri makroskopik değerlendirmeye alındı ve rat mideleri, büyük kurvatur boyunca açılarak serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra ülser sayısı ve alanları tespit edildi. Ülser alan genişlikleri milimetrik kâğıt kullanılarak bir büyüteç yardımıyla ölçüldü. MPSE ve referans ilaç olarak kullanılan Ranitidin' in antiülser etkileri aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

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

(İG İndometazin grubu ülser alanını, DG ise deney gruplarının ülser alanını göstermektedir).

3.8.2. Mide dokusunun Biyokimyasal İncelenmesi

Rat mideleri makroskopik olarak incelendikten sonra mide dokuları biyokimyasal incelemeler için -20 °C' de saklandı. Dokuların enzim aktivitelerini ölçmek için üç gün içerisinde mide dokusu homojenatları hazırlandı. Mide dokusu homojenatlarından elde edilen süpernatantlarda CAT, SOD enzim aktiviteleri ve GSH ile LPO miktarları literatürlere dayalı, uygun metotlar kullanılmak suretiyle tespit edildi. Tüm ölçümler oda sıcaklığında gerçekleştirildi.

3.8.2.1. Doku Homojenatlarının Hazırlanması

Mide dokuları bir havan içinde sıvı azot ile öğütülerek toz haline getirildikten sonra 0.5 g tartılarak üzerine 4.5 ml tampon çözeltiler (her parametre için farklı bir tampon sistemi kullanılarak) ilave edildi ve sonra da homojenizatörde 10 dakika süreyle buz üzerinde homojenize edildi. Homojenatlar bir süzgeç kağıdından süzildükten sonra soğutmalı santrifüj kullanılarak her enzim için literatürlerde belirtilen hızlarda 4 °C'de santrifüj edildi ve süpernatantta enzim aktiviteleri tayin edildi^{158, 159}

3.8.2.2. CAT Aktivitesinin Ölçümü

Ölçüm prensibi: Aktivite ölçüm ortamındaki H₂O₂'in CAT vasıtasıyla H₂O'ya dönüşümü sağlanırken meydana gelen absorbands azalmasının 240 nm'de ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Harcanan H₂O₂ miktarından CAT aktivitesi aşağıda bahsedilen yöntemle göre hesaplanmıştır.

CAT ölçümü

CAT aktivitesi, Aebi (1984) 'nin metoduna göre ölçülmüştür¹⁵⁵. 0,5 gr doku üzerine 4.5 ml 50 mM K-fosfat tamponu (pH 7.8) ilave edilerek homojenize edildi¹⁶⁰.

Homojenatlar, 18000 g'de 60 dakika santrifüj edildi ve süpernatantlar CAT aktivitesi ölçümünde enzim kaynağı olarak kullanıldı. Kuvartz spektrofotometre küveti içerisine son konsantrasyonu 20 mM olacak şekilde H_2O_2 çözeltisinden 1.5 ml konularak numune çözeltisinden 1.5 ml ilave edilir edilmez kronometre çalıştırıldı. Alt üst etme sonrası spektrofotometrede 240 nm dalga boyundaki absorbans azalması, 15 saniye aralıklarla 3 dakika süreyle, köre karşı kaydedildi.

Katalaz (CAT) aktivitesi'nin hesaplanması

Ölçümlerde lineer olarak absorbans azalması olan aralıktan dakika başına absorbans azalması hesaplandı. Işık yolu (b)= 10mm, ekstinksiyon katsayısı ($\epsilon_{H_2O_2}$), $0.00394 \text{ (mmol}^{-1} \times \text{mm}^{-1})$ alınarak $A = \epsilon.b.c$ formülünden

240 nm'de, dakikada 1 mmol H_2O_2 'nin harcanmasını sağlayan enzim miktarı (=EÜ) hesaplandı.¹⁶¹ Formül pratik olarak $\text{mmol/min} = A/39,4 \times 30$ 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 3 tekrar olarak yapıldı.

3.8.2.3. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Ölçümü

Ölçüm prensibi: Ksantin, ksantinoksidaz enzimi vasıtasıyla ürik aside dönüştürülürken meydana gelen süperoksit radikalleri, şayet ortamda NBT (nitrobluetetrazolium) mevcutsa, NBT ile reaksiyona girerek formazon boyası oluştururlar. Bu bileşik 560 nm dalga boyunda maksimum absorbans verir. Şayet ortamda SOD enzimi varsa süperoksit radikalleri bu enzim tarafından H_2O_2 'ye dönüştürüldüğü için formazon oluşumu azalacak buna bağlı olarak da 560 nm'de ölçülen absorbans azalacaktır. Absorbanstaki azalmanın miktarı bize SOD aktivitesini verecektir.

Özetle; SOD aktivitesi aşağıda verilen II nolu reaksiyonun inhibe edilme derecesiyle ölçülebilmektedir.



SOD ölçümü

SOD aktivitesi Sun ve arkadaşları (1988) tarafından tarif edilen yöntemle göre ölçüldü.¹⁶² Pençeler homojenize edildikten sonra 18000 g'de 1 saat santrifüj edildi.¹⁵⁸ Cam bir spektrofotometre küvetine 2450 µl ölçüm karışımı (0.3 mM Xanthine, 0.6 mM EDTA, 150 µM NBT, 0.4 M Na_2CO_3 , 1.2 g/L BSA), 500 µl supernatant, 50 µl ksantinoksidaz eklendikten sonra karıştırılarak yaklaşık 20 dakika inkubasyon bırakıldı ve 1000 µl $CuCl_2$ ilave edilerek reaksiyon sonlandırıldı.

SOD aktivitesi'nin hesaplanması

Oluşan formazon miktarları 560 nm'de 3 ml'lik quartz küvetler kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak aşağıdaki geliştirilen formülden aktivite değerleri (EU) elde edildi ve SOD aktivitesi, mmol/dakika/mg doku olarak tarif edildi. Her bir faktörün etkisi 3 tekrar yapılarak verildi.

$$EU/mg.doku = 100 - \left(1 - \frac{\Delta A_{Kör} - \Delta A_{numune}}{\Delta A_{Kör}} \right) \times 100$$

3.8.2.4. Total GSH Miktarı Ölçümü

Ölçüm Prensibi

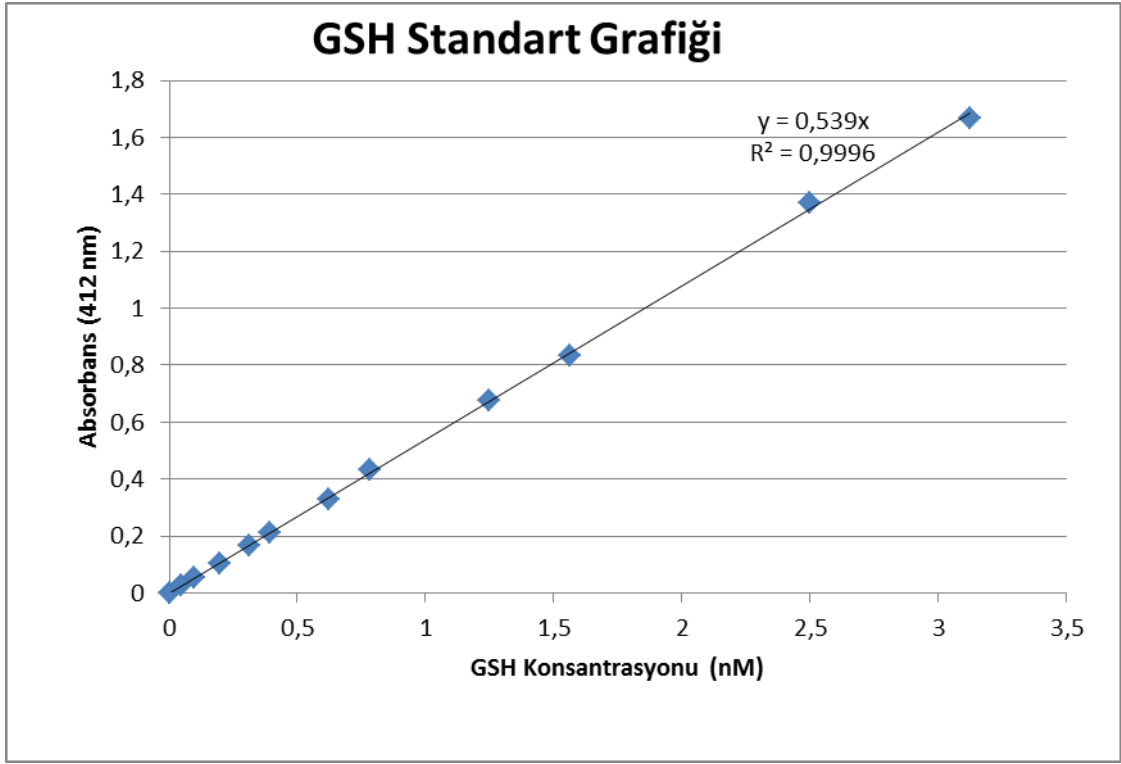
Ölçüm ortamındaki DTNB [5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit)] disülfid bir kromojendir ve sülfhidril gruplu bileşikler tarafından kolayca indirgenir. Meydana gelen sarı renk 412 nm spektrofotometrik olarak ölçülebilir.

GSH miktarının ölçülmesi

Sedlak ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntem esas alınarak gerçekleştirildi.¹⁶³ 0,5 gr doku üzerine 4.5 ml 50 mM Tris-HCl (pH 7.4) ilave edilerek homojenize edildi.¹⁵⁸ Homojenatlar, 12000 g'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'ta 30 dakika inkubasyona bırakıldı ve sonra ölçümleri alındı.

GSH Miktarının Hesaplanması

Oluşan sarı renk miktarları 412 nm'de 3 ml'lik quartz küvetler kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan GSH stok çözeltisi kullanılarak oluşturulan standart grafikten (Şekil 3.2) yararlanarak ölçümler yapıldı. Numunelerin GSH miktarları, nmol/mg doku olarak tarif edildi. Her bir faktörün etkisi 3 tekrar yapılarak verildi.



Şekil 3.2. GSH miktarlarının belirlenmesinde kullanılan standart grafik

3.8.2.5. LPO Miktarı Ölçümü

Ölçüm Prensipleri

Serbest radikallerin hücre zarında oluşturduğu lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden olan malondialdehit (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 tiyobarbitürik (TBA) asitle oluşturduğu rengin 532 nm'de optik dansitesinin ölçülmesi prensibine dayanarak yapıldı.¹⁶⁴

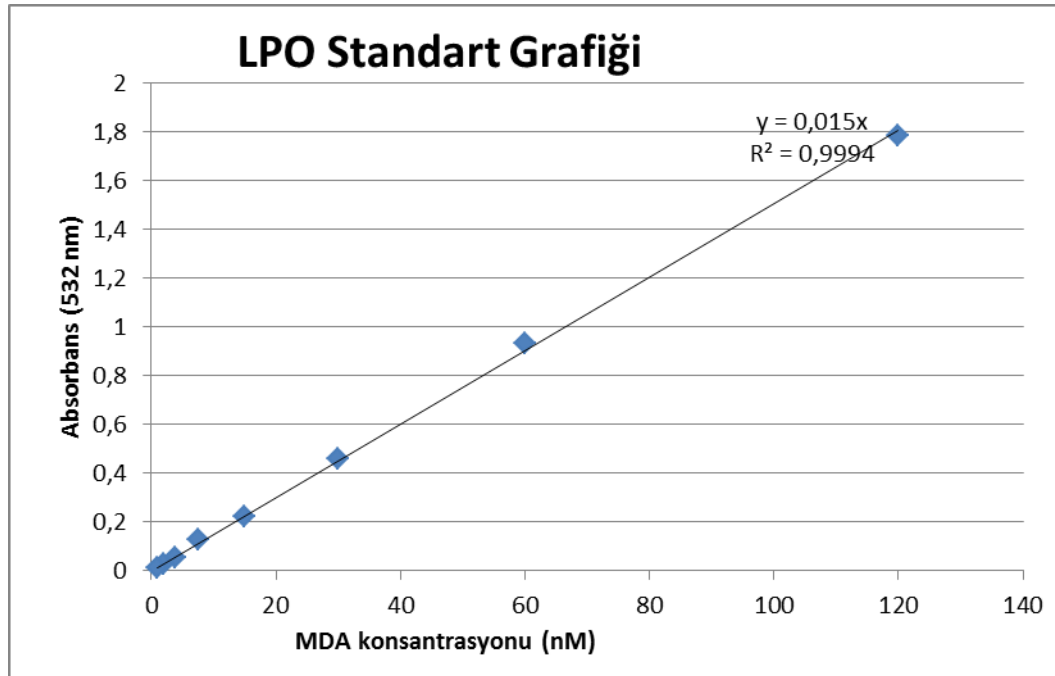
LPO Ölçümü

Ohkawa ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntem esas alınarak gerçekleştirildi.¹⁵⁵ 0,5g doku üzerine 4.5 ml % 10 KCl ilave edilerek homojenize edildi.¹⁵⁸ Homojenatlar,

5000 g'de 20 dakika santrifüj edildi ve bu süpernatantlar, LPO miktarının belirlenmesinde kullanıldı. Kapaklı deney tüpleri içerisine 250 µl homojenat, 100 µl % 8 sodyum lauril sülfat(SLS), 750 µl % 20 asetik asit, 750 µl % 0.08 TBA ve 150 µl saf su pipetlenerek vortekslendi. Karışım 100 °C'ta 60 dakika inkubasyona bırakıldıktan sonra üzerine 2.5ml 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 3.3). Numunelerin LPO miktarları, nmol MDA/gr doku olarak tarif edildi. Her bir faktörün etkisi 3 tekrar yapılarak verildi.



Şekil 3.3. LPO miktarlarının belirlenmesinde kullanılan standart grafik.

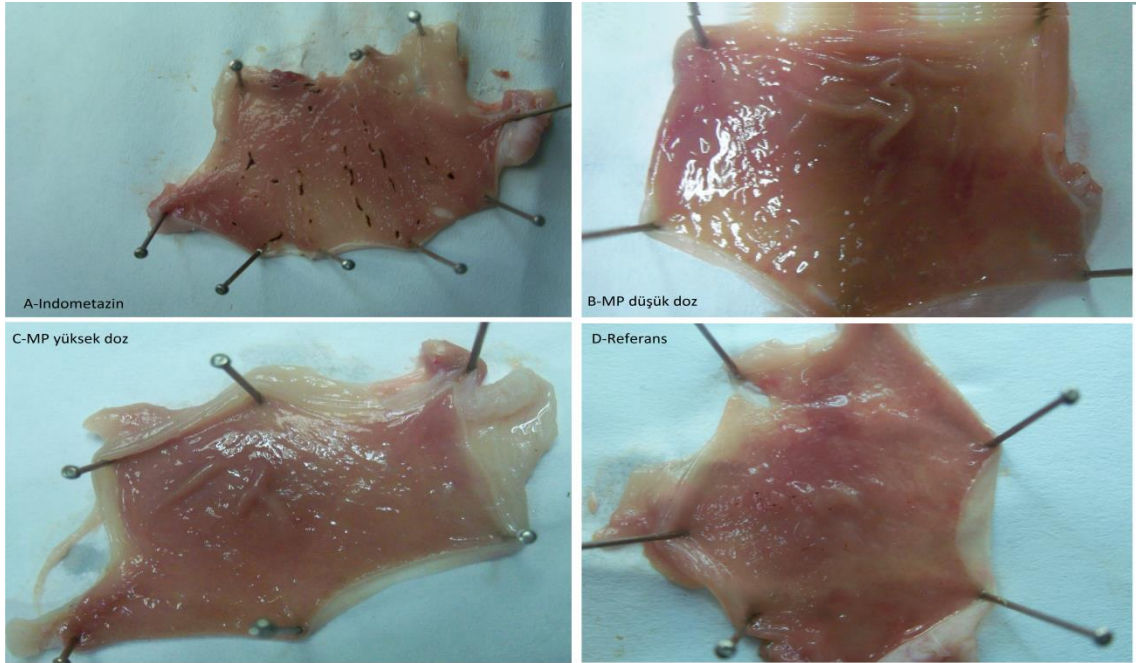
3.9. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler SPSS 20.0 software programı kullanılarak yapıldı. Gruplar arasındaki farklılıklar ve önem seviyeleri one-way variance analyse (ANOVA) testi ile belirlendi ve $p < 0.05$ seviyesindeki sonuçlar önemli kabul edildi. Çoklu karşılaştırmalarda Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulandı.¹⁶⁵

4. BULGULAR

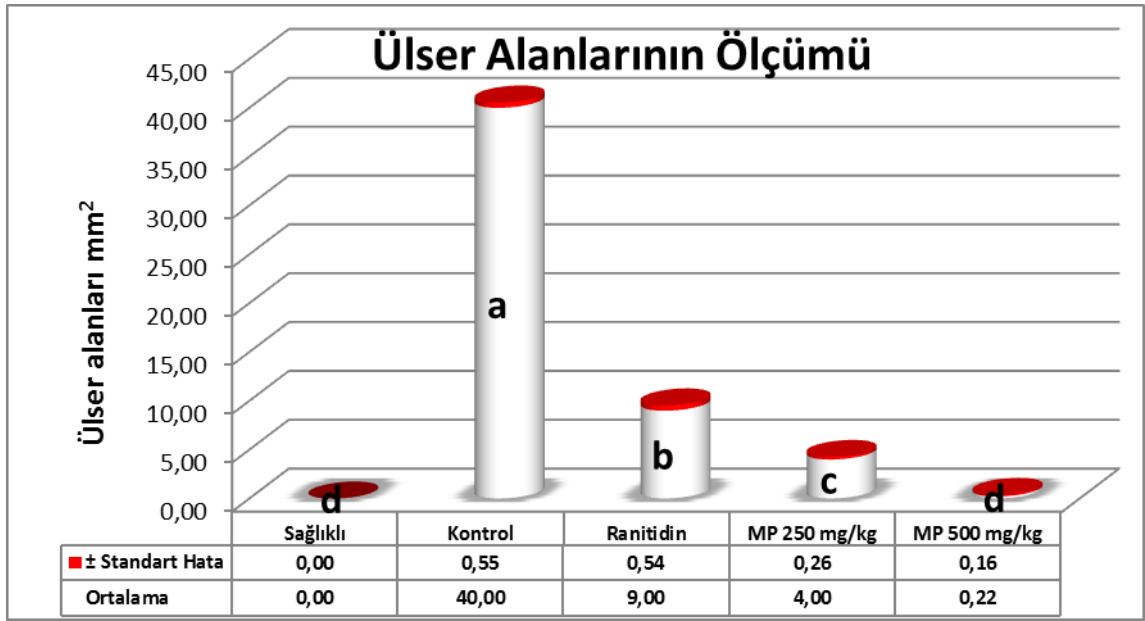
4.1. İndometazin ile Oluşturulan Ülser Modeli Üzerine DeneySEL Bulgular

Yaptığımız *in vivo* deneylerden elde ettiğimiz veriler, bu bölümde şekiller ile gösterilmiş olup IND grubuna göre mukayeseler "antiülser etki (%)" olarak ifade edilmiştir. Ülkemizde ülser tedavisinde yaygın olarak kullanılan ticari ilaçlardan H₂ reseptör antagonistleri (HRA) deneylerimizde referans ilaç olarak, antiülser etkinin derecesinin anlaşılabilmesi amacıyla kullanılmıştır. H₂ reseptör antagonisti olarak Ranitidin (RAN) kullanılmıştır. Ülser gelişiminin tespitinde (kontrol grubu olarak) indometazin (IND) kullanılmıştır. Her deneye ait veriler çizelgeler halinde sunulmuştur. Bulgular kısmında çizelge halinde sunulan veriler, 3 tekerrür olarak yapılan deney sonuçlarının ortalaması $\pm$ standart hata (SE) olarak verilmiştir.



Şekil 4.1. İndometazin ile oluşturulan ülser modelinde sakrifiye edilen hayvanlardan elde edilen midelerin makroskopik görüntüleri.

Şekil 4.2’den görüldüğü üzere ülser alanları indometazin (IND) ile muamele edilen kontrol grubu midelerinde $40,00 \pm 0,55 \text{ mm}^2$, referans (RAN) grubunda $9,00 \pm 0,54 \text{ mm}^2$, MP 250 mg/kg, MP 500 mg/kg’da sırasıyla $4,00 \pm 0,26 \text{ mm}^2$, $0,22 \pm 0,16 \text{ mm}^2$ olarak tespit edildi. Şekil 4.1’den çok net bir şekilde görülebileceği üzere uygulanan RAN ve MPSE’nin 250 ve 500 mg/kg dozları, kontrol grubunda meydana gelen ülseri önemli oranda ($p<0.05$) azaltmıştır.



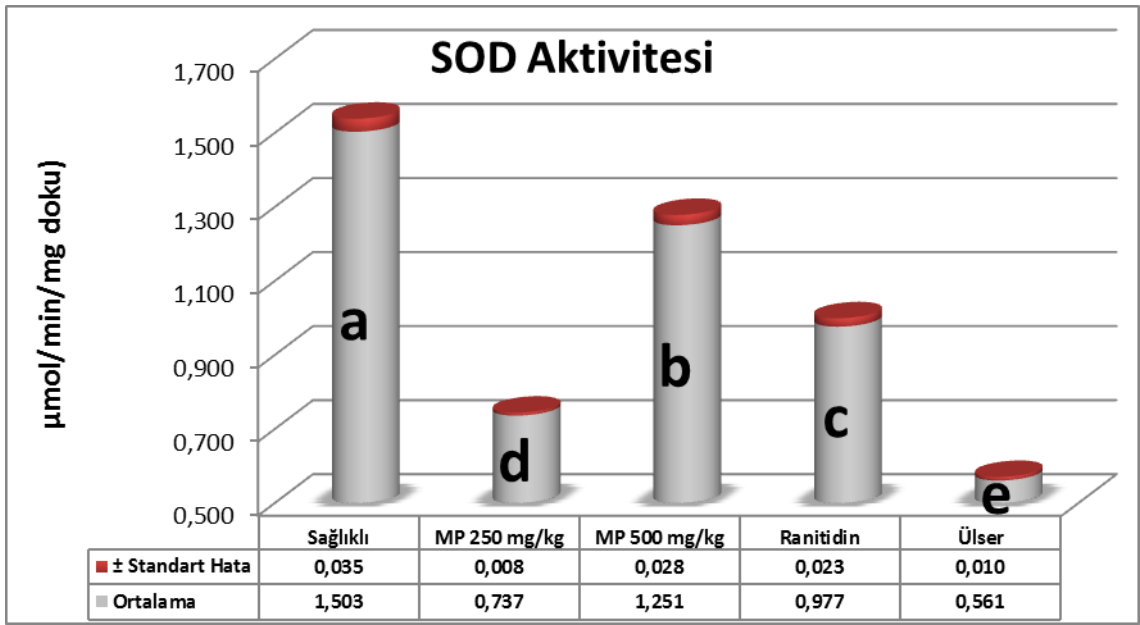
Şekil 4.2. Ranitidin ile MPSE’nin 250 mg/kg ve 500 mg/kg dozlarının İndometazin ile uyarılan ülser modeli üzerine etkileri.

4.2. Biyokimyasal Bulgular

Rat mideleri makroskopik olarak incelendikten sonra mide dokuları biyokimyasal incelemeler için -20°C ’de saklandı ve dokuların enzim aktiviteleri üç gün içerisinde analiz edildi. Mide dokusu homojenatlarından elde edilen süpernatantlarda CAT, SOD, enzim aktiviteleri ve total glutatyon (GSH) ile lipid peroksidasyon (LPO) miktarları literatürlere dayalı uygun metodlar kullanılarak tespit edildi.

4.2.1. SOD Aktivitesi Üzerine MPSE'nin Etkisi

Şekilden de görüldüğü üzere (Şekil 4.3); sağlıklı dokularla mukayese edildiğinde kontrol grubunun SOD aktivisinde önemli bir azalma olduğu gözlenmiştir ($P<0.05$). MPSE'nin her iki dozu ve referans ilaç olarak kullanılan Ranitidin, ülserle azalan SOD aktivitesinde bir artışa sebep olmuş hatta MPSE'nin 500 mg/kg olan dozunun ranitidinden daha efektif bir artışa neden olduğu gözlenmiştir.

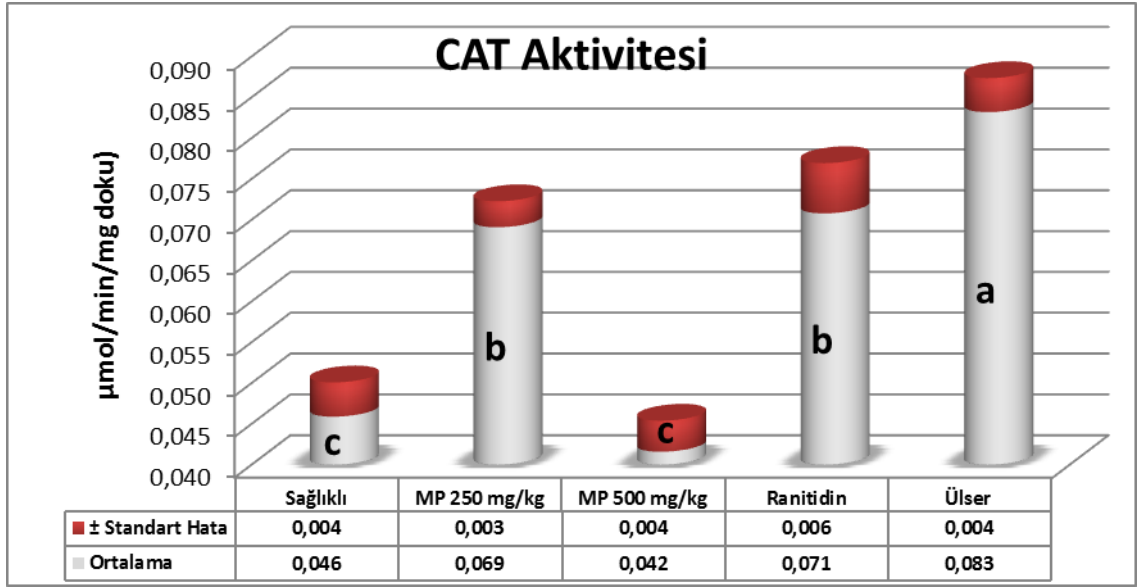


Şekil 4.3. İndometazinle uyarılan ülser modelinde Maclura pomifera'nın su ekstraktlarının Süperoksit dismutaz enzim aktivitesi üzerine etkisi.

*($P<0.05$ seviyesindeki sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiş olup, aynı harflere sahip olan değerler Duncan testine göre istatistiksel açıdan farklıdır.) ($P>0.05$).

4.2.2. CAT Aktivitesi Üzerine MPSE'nin Etkisi

MPSE'nin 250 ve 500 mg/kg dozlarının CAT aktivitesi üzerine etkileri Şekil 4.4'de gösterilmiştir. Sağlıklı dokularla mukayese edildiğinde kontrol grubu dokularında CAT aktivitesinde önemli oranda bir artış olduğu gözlenmektedir ($P<0.05$). MPSE'nin her iki dozu da artan CAT aktivitesinde bir düşüşe neden olmuş hatta; 500 mg/kg dozda sağlıklı doku seviyelerine ulaşmıştır ($P>0.05$).

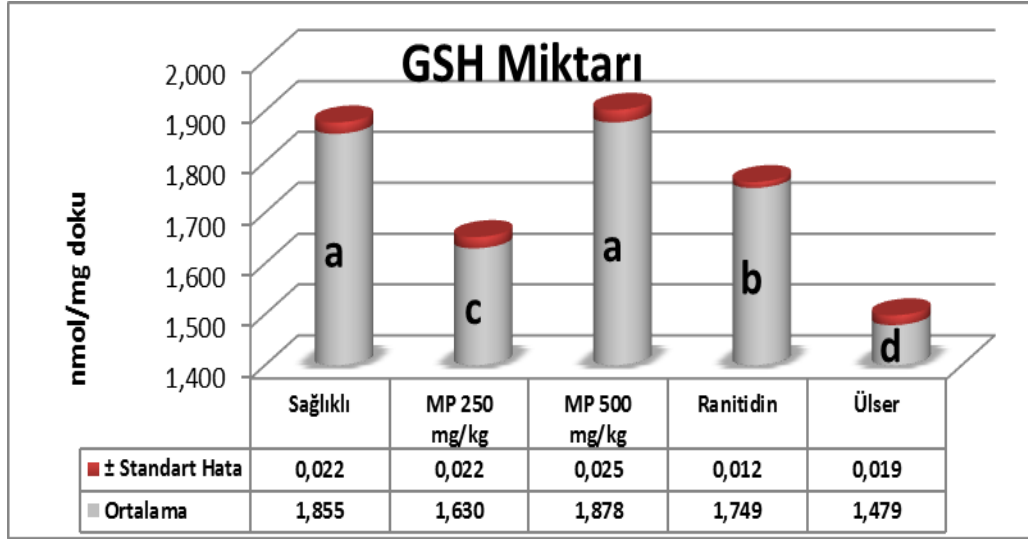


Şekil 4.4. İndometazinle uyarılan ülser modelinde Maclura pomifera'nın su ekstrelerinin katalaz enzim aktivitesi üzerine etkisi.

*($P < 0.05$ seviyesindeki sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiş olup, aynı harflere sahip olan değerler Duncan testine göre istatistiksel açıdan farksızdır.) ($P > 0.05$).

4.2.3. GSH Seviyesi Üzerine MPSE' nin etkisi

İndometazinle uyarılan ülser modelinde Maclura pomifera'nın su ekstrelerinin Glutasyon seviyeleri üzerine etkisi şekil 4.5'te gösterilmiştir. Şekilden de görüldüğü üzere sağlıklı dokularla mukayese edildiğinde ülserli dokularda GSH seviyeleri önemli oranda azalmıştır ($P < 0.05$). Uygulanan tüm tedaviler ülserin düşürdüğü GSH miktarını önemli oranda artırarak sağlıklı seviyelere yaklaştırmış hatta MP'nin 500 mg/kg dozu sağlıklı seviyenin de üzerine çıkarmıştır. Lakin bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamaktadır ($P > 0.05$).

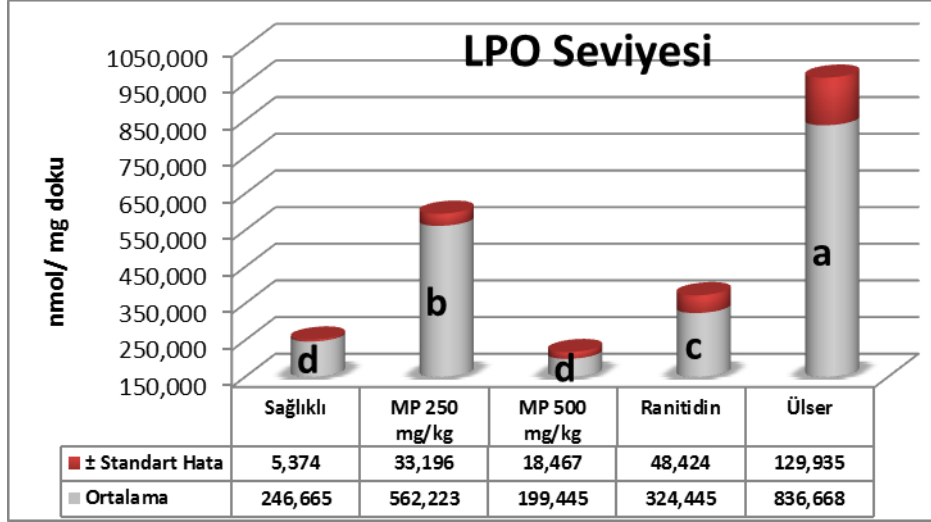


Şekil 4.5 İndometazinle uyarılan ülser modelinde *Maclura pomifera*'nın su ekstraktlarının Glutasyon seviyeleri üzerine etkisi.

*($P < 0.05$ seviyesindeki sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiş olup, aynı harflere sahip olan değerler Duncan testine göre istatistiksel açıdan farklıdır.) ($P > 0.05$)

4.2.4. LPO Seviyesi Üzerine MPSE'nin etkisi

LPO oksidatif stresin önemli bir indikatörüdür. Sağlıklı dokularla mukayese edildiğinde ülserin oksidatif stresi artırdığı şekilden (Şekil 4.6) de açıkça görülmektedir. Gerek referans ilacımız olan ranitidinin ve gerek ise MPSE'nin her iki dozunun da oksidatif stresi önemli oranda azalttığı bulunmuştur ($P < 0.05$). Yine daha önce CAT aktivitesi ile GSH miktarında olduğu gibi MP'nin 500 mg/kg dozda uygulandığı dokularda sağlıklı değerlere ulaşıldığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.6. İndometazinle oluşturulan ülser modelinde Maclura pomifera'nın su ekstraktlarının Lipid peroksidasyon (LPO) miktarı üzerine etkisi.

*($P < 0.05$ seviyesindeki sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiş olup, aynı harflere sahip olan değerler Duncan testine göre istatistiksel açıdan farklıdır.)($P > 0.05$).

5. TARTIŞMA

Günlük hayatta en yaygın kullanılan ilaçlar arasında ağrı kesici ilaçlar ilk sırada yer almaktadır. Bu ilaçlar enflamasyonu önlemeye çalışırken gastrointestinal sistem üzerinde maalesef başka bir inflamasyon türü olan ülser gibi istenmeyen etkilere sahiptirler. Bu istenmeyen etkileri en aza indirebilmek için çevremizde yaygın olarak görülen bazı bitkilerin antienflamatuvar ve antiülser etkilerinin araştırılması gelecekte bu alanda çok önemli bir çıkış açacağı düşünülmektedir. Bazı bitki türlerinin organik yapıda olmaları ve genel toksikolojik özelliklerinin nispeten zararsız veya az görülmesi insanlar için büyük bir avantajdır.¹⁶⁶⁻¹⁷² Araştırılan bitkilerin etki mekanizması tam olarak açıklanamasa bile bu hastalığa etkinliğinden dolayı rutinde kullandığımız birçok ilacın yerine geçebilecek veya o ilaçlar ile beraber kullanıldığında o ilaçların etkinliğini artıracak potansiyele sahiptirler. Bitkisel ilaç ve tedavi yöntemlerinin popülerleşmeye başladığı bu dönemde kullandığımız bitkilerin, belki de her gün besinlere katılarak yenmesi rutin hale gelebilecektir.^{166-169, 173, 174}

Bu bitkilerden birisi süs bitkisi olarak yetiştirilen *Maclura pomifera* (Yalancı portakal)'dır. Bu bitkinin halk ilacı olarak dünyanın bazı bölgelerinde kullanıldığı ve kimyasal bileşenlerinin neler olduğu literatüre geçmiştir.^{39, 175}

Mevcut çalışmada ise, halk hekimliğinde kullanımı ile ilgili bilgi sahibi olduğumuz ülkemizde geniş yayılım gösteren *Maclura pomifera* (Raf.) C.K. Schneid. – Yalancı Portakal türü deney materyali olarak seçilmiş ve bu türün biyolojik aktivitesi ile ilgili ilk verilerin dünya literatürlerinde yer alması sağlanmıştır.

Peptik ülser hastalığı, hidroklorik asit ve pepsinin sindirici etkisiyle gastrointestinal sistem (GİS) kanalının herhangi bir bölgesinde mukozada penetran bir doku kaybının meydana gelmesiyle ortaya çıkan yaralardır.¹⁷⁶ Sıklıkla 20-40 yaş arası erkeklerde görülmekle birlikte dünyada peptik ülserin görülmediği bir topluma

rastlanmamıştır.^{177, 178} Peptik ülser, sıklıkla mide, duodenum ve nadiren özefagusta görülür.¹⁷⁹ Peptik ülserin en sık görülme nedenleri, midede helicobacter pylori infeksiyonu¹⁸⁰, non-steroidal antienflamatuvar ilaç (NSAİİ) kullanımı ve gastrik asit salgısının artmasıdır. Ayrıca sigara, alkol ve glukokortikoid ilaç kullanımı, strese maruz kalınan durumlar, radyasyon ve kemoterapi de peptik ülsere sebep olabilir.¹⁸¹⁻¹⁸³

Günümüzde peptik ülser tedavisinde ve profilaksisinde histamin H₂ reseptör blokörleri, proton pompa inhibitörleri gibi asit salgılanmasını azaltan ilaçlar, antasidler, sitoprotektif ve antibakteriyel ajanlar kullanılmaktadır. Bu ilaçlar içerisinde günümüzde en sık proton pompa inhibitörleri (Omeprazol, Lansoprazol) ve histamin H₂ reseptör blokörü ajanlar (Ranitidin, Famotidin, Nizatidin) kullanılmaktadır. Histamin, mide parietal hücrelerinden HCl salıverilmesini artırıcı etki göstermektedir. Bu çalışmada kullanılan ranitidin, histamin H₂ reseptörlerini inhibe ederek parietal hücrelerde HCl salıverilmesini azaltıcı etkisi nedeniyle peptik ülser tedavi ve profilaksisinde sıklıkla kullanılmaktadır.

NSAİİ'lar antiinflamatuvar, antipiretik ve analjezik etkileri ile özellikle gut ve romatoid artrit gibi hastalıkların tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır. Günümüzde klinikte en çok kullanılan NSAİİ'lara örnek olarak naproksen, ibuprofen ve indometazin verilebilir. Bu ilaçlar sikloksijenaz 1 (COX-1, yapısal) ve sikloksijenaz 2 (COX-2, inflamasyonda indüklenen) aktivitelerini, dolayısıyla prostaglandin ve tromboksan sentezini inhibe ederler. Özellikle COX-1 inhibisyonu, mide mukozası için koruyucu etkisi olan prostaglandinlerin sentezini azalttığı için peptik ülser gibi yan tesirlerle sonuçlanır.

Maclura Pomifera'nın antiülserojen etkisinin incelendiği çalışmalar olsa da oluşan antiülserojenik etki sürecinin mekanizmaları hakkında bilgiler oldukça sınırlıdır. Bu açıdan bakıldığında mevcut araştırmanın bu konuda bir boşluğu dolduracağı inancını

taşıymaktayız. MP'nın antiülserojenik aktivitesinin olup olmadığı sıçanlarda indometazin ile oluşturulan ülser modeli kullanarak belirlenmeye çalışılırken gastroprotektif etkinin mekanizmasının aydınlatılmasına ışık tutabilmek için de gastrik hasarlı dokularda SOD, CAT enzim aktiviteleri ile GSH ve LPO miktarları ölçülerek MP'nın bu antioksidant sistemleri nasıl etkilediği belirlenmeye çalışıldı.

İND'nin gastrik hasar oluşturmasının sebepleri arasında; mide dokusundaki sitoprotektif prostaglandinlerin sentezini inhibe etmesi^{33, 184-187} LPO'yu artırması^{20, 34, 70, 169, 188, 189}, doku glukoz seviyesini azaltması¹⁹⁰, MPO aktivitesini ve NOS aktivitesini artırması^{36, 188, 191-193} sayılabilir. İND, etanol ve diğer ajanlar ile oluşturulan mukozal hasarların, reaktif oksijen molekülleri ile ilişkili olduğu da literatürde kaydedilmiştir^{34, 69, 70, 169, 184, 194}. Literatürde rapor edilmiş çok sayıda araştırmada İND gibi antienflamatuar ilaçların hem prooksidan hem de lipid peroksid oluşturucu etkilerinin olduğu ve bu tür ilaçların mukozal hücrelerin antioksidan sistemlerini süratle bloke ederek ROS oluşumuna ve bu ROS oluşumunun da lipid peroksidasyonuna neden olabileceği öne sürülmüştür^{34, 36, 70, 195}. Oksidatif hasarlar nedeni ile kontrol edilemeyen lipid peroksidasyonu bir süre sonra proteinlerde oksidayona ve sonunda da hücre ölümüne yol açabilmektedir.

Deneyisel sonuçlarımızın ışığında bir nonsteroidal antienflamatuar ilaç olan İND tarafından ratların midelerinde oluşturulan ülseri çok büyük oranda önlendiği tespit edilmiş bu etkinin hangi mekanizma ile olabileceği konusuna ışık tutmak amacı ile antioksidant enzimlerden SOD, CAT ile antioksidant sistemin önemli bileşeni olan total glutatyon (GSH) düzeyi belirlenmiştir. Yine dokularda hasar seviyesinin bir markörü olarak MDA seviyeleri ölçülmek suretiyle hücresel seviyede oluşabilecek lipid peroksidasyon düzeyi belirlenmek suretiyle hasarın düzeyi izlenmeye çalışılmıştır.

Organizmalar ROS'ların toksisitesine karşı hem enzimatik hem de enzimatik olmayan savunma mekanizmalarına sahiptirler.^{196, 197} ROS'lara karşı savunmada önemli süpürücü enzimlerden biri de SOD' dır. SOD'ler $O_2^{\cdot-}$ anyonunun H_2O_2 ye dönüşümünü katalizlerken CAT ise H_2O_2 'nin H_2O 'ya dönüşümünü katalizler.^{34, 70, 169, 198} İND ile oluşturulmuş dokularda bazı antioksidan enzim aktiviteleri (SOD ve CAT)' nin azaldığı konusunda pek çok literatür kaydına rastlanmıştır.^{70, 168, 169, 199-201}

Araştırmamızda İND ile muamele edilen rat midelerinde belirlenen SOD aktivitesi (şekil 4.4) sağlıklı gruba göre önemli oranda azalmıştır($p<0.05$). İND ile muamele edilen ratlarda MPSE' nin 250,500 mg/kg dozlarda uygulanması ile SOD aktivitesi önemli oranda artarak sağlıklı grub seviyesine gelmiştir ($p<0.05$). Benzer şekilde referans ilaç olarak kullanılan RAN 'nin de SOD aktivitesini sağlıklı grub seviyesine çıkardığı tespit edilmiştir($p<0.05$).

Diklofenak sodyum, meloksikam ve ketoprofenil gibi çeşitli NSAID'ler ve İND ile muamele edilen rat mide dokularında SOD aktivitesinin azaldığına ilişkin bulgularımız daha önce yapılmış çok sayıda çalışma^{34, 36, 70, 167, 188, 189, 202-205} ile uyum içerisindedir. Fakat İND 'nin hangi mekanizma ile SOD aktivitesini inhibe ettiği henüz kesin olarak açıklığa kavuşturulamamış olup bu konuyu açıklamak için bazı izahlar yapılmaktadır.

Antioksidanların inhibisyonu ROS birikimine yol açar. ROS'ların üretildiği yerde SOD 'yi içine alan antioksidanların varlığı, İND ile uyarılan patojenezin kontrol edilmesinde koruyucu bir faktör olarak davranır^{70, 168, 169, 204}. Araştırmamızda İND etkisi ile azalan SOD aktivitesinin, MPSE'nin tüm dozları ve RAN(Ranitidine) tarafından yeniden artırıldığı ve bunun da oksidatif hasarı kısmen engelleyerek gastrik hasarın giderilmesinde rol oynadığı düşünülebilir. Cu, Zn ve Mn kompleksleri ile yapılan çalışmalarda SOD aktivitesi ile prostaglandin sentezi arasında bir ilişkiye işaret

edilmekte ve İND ile oluşturulan ülser modelinin olası mekanizmalarından birisi olarak kabul edilmektedir^{5, 206}. Bu araştırmalar ışığında ele alındığında mevcut araştırma çerçevesinde elde ettiğimiz bulgular prostaglandin seviyeleri üzerine de MPSE ‘nin etkili olabileceği izlenimini vermektedir.

İND ile muamele sonucu prostaglandin konsantrasyonu azalsa da Mn ve Cu komplekslerinin gastrik korumadaki katkıları önemlidir. Bunun yanı sıra Cu ve Mn kompleksleri tarafından sağlanan gastrik korumaya sadece prostaglandinler değil serbest radikal süpürücüler gibi diğer faktörler de katkıda bulunurlar²⁰⁶. SOD veya SOD’ ye benzer etki gösteren antioksidantlar tarafından süperoksitlerin elimine edilmesi, gastrik koruma prosesinde önemli bir faktördür. Nitekim etanol ile uyarılan gastrik hasarlı dokularda SOD aktivitesinin azaldığı ve serbest radikallerin gastrik mukozal hasarın patojenezine katıldığı çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir.^{206, 207}

SOD inhibitörü olan dietilditiyokarbamat (DDC) verilen İND ile uyarılmış ülserli rat dokusunda SOD aktivitesinin azaldığı, bunun sebebinin ise mukozal asidilikasyonun yol açtığı bikarbonat salgılanmasındaki artışın DDC tarafından inhibe edildiği rapor edilmiştir²⁰⁸. DDC’ nin bikarbonat salgılanması üzerindeki inhibisyon etkisi SOD ilavesiyle tersine döndürülebilir²⁰⁹. Bu bilgilerden yola çıkarak SOD'nin bikarbonat salgılanması prosesinde de rol aldığı söylenilebilir.

Bütün bu verilerden yola çıkarak referans ilaç olarak kullandığımız Ranitidin’in ve MPSE ‘nin tüm dozlarının gastroprotektif etki göstermesinde, SOD aktivitesini artırmasının önemli bir paya sahip olduğunu düşünmekteyiz.

Araştırmamızda kontrol ve muamele gruplarında tespit edilen CAT aktiviteleri Şekil 4.3’de sunulmuştur. İND tarafından önemli oranda artırılan CAT aktivitesi üzerine hem referans ilaç hem de MPSE’ nin bütün dozları pozitif yönde etki göstererek sağlıklı seviyesine yaklaştırmıştır. (Şekil 4.3) Bu bağlamda MPSE’ nin mevcut

çalışmada belirlenen gastroprotektif etkisinin CAT aktivitesi ile ilişkili olduğu öne sürülebilir.

Mide dokusunda indometazin vasıtasıyla CAT aktivitesinin artırıldığı literatürlerde belirtilmiştir^{34, 70, 169, 189, 204, 210}.

Bizim bulgularımızda da İND tarafından CAT aktivitesinin artırıldığı tespit edilmiştir. Bir başka açıdan değerlendirilecek olursa CAT aktivitesindeki artışın diğer antioksidant bir enzim olan glutatyon peroksidaz (GPO) ile ilgisi olduğu değerlendirilebilir. Hem CAT hem de GPO enzimleri hidrojen peroksit(H_2O_2) kullanma hususunda yarış halinde olabilir²¹¹.

Bu durum proses esnasındaki enzimatik ilginin yönü ile alakalıdır. Şayet bu araştırmada GPO aktivitesi araştırılabilmiş olsaydı bu durum hakkında bir açıklama getirilebilirdi. Diğer yandan başka araştırmalarda bu durum literatürlerde kaydedilmiştir^{145, 202, 203}. CAT ve GPO enzimleri H_2O_2 'yi H_2O 'ya dönüştürerek zayıf radikalik etkisini ortadan kaldırırlar. Çünkü H_2O_2 ortaklanmamış bir elektron içermediği için kendi başına güçlü bir radikal değildir²¹².

Bununla beraber, hidrojen peroksit serbest bir radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar.

H_2O_2 , Fe ve Cu gibi geçiş metalleri varlığında süpeoksit ile reaksiyona girerek en reaktif ve zarar verici radikal olan hidroksil radikali oluşturulabilir^{145, 202, 203}. Bu yüzden H_2O_2 'nin suya dönüştürülmesi zorunludur. Gastrik hasara uğramış olan dokularda CAT aktivitesinin artması ikinci planda gastrik korumaya yardımcı olması açısından da oldukça önemlidir ve bu tür araştırma çalışmalarında GPO enziminin değerlendirilmeside araştırmaya olumlu yönde katkı sağlar diye düşünüyoruz.

Şekil 4.5'den görülebileceği gibi GSH miktarı İND tarafından önemli oranda azaltılmıştır ($p<0.05$). İND ile birlikte uygulanan MPSE 'nin bütün dozları GSH

miktarını artırmış ($p<0.05$), en büyük artışta MP 500 mg/ kg'lık dozda sağlanmıştır. Bu bulgular İND tarafından meydana getirilen gastrik hasarın temel sebeplerinden birisinin gastrik GSH düzeyinin azaltılması olduğunu göstermektedir. Bulgularımız literatürdeki bulgular ile tam bir uyum içerisinde dir.^{70, 184, 199, 201, 213}

Çeşitli kimyasal ajanların çoğu GSH ve GSH-bağlı enzimlerin konsantrasyonunu artırarak etki gösterirler.^{184, 214-216} Diğer yandan bazı kemopreventif ajanların çeşitli dokularda GSH ve GSH-bağlı enzimleri uyardığı da belirlenmiştir.²¹⁷ Özellikle GPO ve GST gibi faz II enzimlerinin uyarıcıları potansiyel kemopreventif ajanlar olarak düşünülmektedir.^{56, 214, 218}

Çeşitli dokulardaki GSH ve GSH-bağlı enzimler (GPO ve GST) antioksidan ve detoksifikasyon özelliklerinden dolayı kemoprevensiyon biomarkırları olarak da dikkate alınırlar.^{69, 184, 214, 219, 220}

İND ile oluşturulan gastrik hasarlı dokularda LPO miktarının arttığı çok sayıda literatürde kayıtlıdır.^{19, 69, 167, 184, 203, 214, 221-223} Bizim bulgularımızda da İND ile muamele sonrası LPO miktarı önemli oranda artmıştır ($p<0.05$). İND ile birlikte uygulanan MP 500 mg/kg sağlıklı gruba göre LPO miktarını artırmış, MP 250 mg/kg ise sağlıklı grubun bile altına çekmiştir.

İND vasıtasıyla oluşturulan gastrik hasarın en önemli sebebi olarak Prostaglandin sentezinin engellenmesi gösterilmektedir.^{206, 224}. Prostaglandin sentezini gerçekleştiren Prostaglandin H sentaz, hem COX hem de hidroperoksidaz aktivitesine sahiptir. İndometazinin gastrik toksisitesinin COX enzimini inhibe etme yeteneğine bağlı olduğu düşünülmektedir. Fakat Prostaglandin H sentazın gastrik toksisite ile ilgili olan aktivitesinin COX aktivitesinin yanı sıra peroksidaz aktivitesine bağlı olabileceği de bir peroksidaz enzimi vasıtasıyla H_2O_2 ile reaksiyona girerek süperoksit oluşturabilir, süperoksit ise membranlarda hasara yol açabilir.^{34, 167, 202}.

Prostaglandin H sentaz, H_2O_2 varlığında İND tarafından inhibe edilmez. Prostaglandin II sentazın peroksidaz aktivitesi göstermesi İND tarafından inhibe edilmediğine işaret eder.²²⁵

İND, H_2O_2 varlığında lipit peroksidasyonunu uyaracak şekilde ²²³ aksiyon göstererek ülser oluşturabilir. Bu bilgiler indometazin ile rat midelerinde ülser oluşumunun mekanizmasının COX enzimleri inhibisyonunun yanı sıra lipit peroksidasyonu yoluyla da olabileceğinin göz ardı edilmemesi gerektiğini doğrulamaktadır. Bu nedenle indometazinin lipit peroksidasyonuna yönelmemesi için ortamdaki H_2O_2 'nin harcanması gerekir. H_2O_2 , CAT, GPO ve yine bir peroksidaz enzimi olan MPO enzimlerinin substratı olduğu için CAT, GPO ve MPO aktivitesinde meydana gelen artış daha fazla H_2O_2 'nin harcanması anlamına gelecek ve ortamda harcanacak H_2O_2 olmadığı için indometazin lipit peroksidasyonuna yönelmeyecektir. Bağlı olarak İND ile muamele sonrası mide dokusunda CAT ve MPO aktivitelerinde bir artış kaydedilmiştir. Bu bağlamda MPSE'nin SOD enzimi, LPO ve GSH miktarları üzerine üzerine modölatör etkileride dikkate alındığında, ülserin önlenmesinde MPSE'nin pozitif etkileri kayda değerdir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak bu çalışmada,

1.Maclura pomifera bitkisinin İND ile oluşturulan ülseri önemli oranda önlediği belirlendi.

2.MPSE ‘ nin SOD, CAT enzim aktiviteleri ile GSH ve LPO miktarları üzerine etki ederek dokuların lehine olacak şekilde modülatör etkiye sahip olmasının gastroprotektif etkisi ile ilişkili olduğu şeklinde deerlendirildi.

3. Bu çalışmadan elde edilen bulguların "İND ile oluşturulan ülserlerde ROS'lar etkin rol oynar" hipotezini desteklediği belirlendi.

KAYNAKLAR

1. Kumar V, Cotran R, S. R. *Basic Patology (Temel Patoloji)*. 5. Baskı. İstanbul / Türkiye, Nobel Tıp Kitabevi 1995.
2. Feldman M, Friedman LS, Sleisenger MH. . *Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease*, Philadelphia : WB Saunders Co 6th ed. 2002: 604-615.
3. Song-Ze D, Shiu-Kum L, Siu-Tsan Y, Benjamin Chen-Yu W, Wei-Mo H, Joanna H, Xin G, C. C-H. Prostaglandin, tumor necrosis factor a and neutrophils: causative relationship in indomethacin-induced stomach injuries. *European Journal of Pharmacology*, 1998, 348: 257-263.
4. Davis GR, Simmonds NJ, Stevens TR, Sheaff MT, Banatvalo N, Laurenson IF, Blake DR, DS. R. Helicobacter pylori stimulates antral mucosal reactive oxygen metabolite production in vivo. 6. Baskı. *Gut*, 1994.
5. BJR. W. Temporal relationship between COX inhibition, as measured by prostaglandin biosynthesis and the gastrointestinal damage induced by indomethacin in rat. *Gastroenterology*, 1981, 80: 81-98.
6. Hudson N, Hawthorne AB, Cole AT, Jones PD, CJ. H. Mechanism of gastric and duodenal damage and protection. *Hepatogastroenterology*, 1992, 39 : 31-36.
7. Ito S LE. Morphology of rat gastric mucosal damage, defence and restitution in the presence of luminal ethanol. *Gastroenterology*, 1985, 88: 250-260.
8. Taha AS, Sturrock RD, RI. R. Mucosal erosions in long-term nonsteroidal anti-inflammatory drug users: predisposition to ulceration and relation to Helicobacter pylori *Gut*, 1995, 36: 334-336.
9. Isenberg JI, Mc Quaid KR, Laine L, Walsh JH, Yamada I. *Acid peptic disorders*. Philadelphia, Text Book of Gastroenterology, 2nd ed. JB Lippincott, 1995.

10. Itoth M, PH G. Role of oxygen derived free radicals in hemorrhagic shock induced gastric lesions in the rat. *Gastroenterology* 1985, 88: 1165-1167.
11. Banerjee S, Hawksby C, Dahill S, Beattie D, KEI MC. Effect of H. pylori and its eradication on gastric juice ascorbic acid. *Gut*, 1994, 335: 317-322.
12. Das D, RK. B. Effect of stress on the antioxidant enzymes and gastric ulceration.3. Baskı .Molecular and Cellular Biochemistry,1993.
13. Tanaka J, Y Y. Lipid peroxidation in gastric mucosal lesions induced by indomethacin in rat. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 1996, 19: 716-20.
14. Anderson D, Res. M. Antioxidant defenses against reactive oxygen species causing genetic and other damage. *Mutagenesis*.1996, 350 : 103-108.
15. G. Ö. *Reaktif Oksijen Partikülleri (ROP)*.5. Baskı. İstanbul, Roche Bilimsel Eserler Serisi, 1993.
16. Takuji M, Sato H, Hirose F, M. D. Effects of antioxidative drugs on gastric damage induced by ethanol in rats. *Life Science Journal* . 1987, 41: 755-763.
17. Hye Kyung J, Kyung Eun L, ang Huí C, Y. SY. 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.
18. Lutnicki K, Wrobel J, Ledwozyw A, E. T-P. The effect of ethylalcohol peroxidation processes and activity of antioxidant enzymes in rat's gastric mucosa. *Archivum Veterinarium Polonicum*, 1992, 32: 117-123.
19. Yoshikawa T, aitoY, Kishi A, Tomii T, Kaneko T, . ISea. 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.

20. Naito Y, Yoshikawa T, T Y. Hydroxyl radical scavenging by rebamipide and related compounds: Electron paramagnetic resonance study. *Free Radical Biology and Medicine* .1995, 18: 117-123.
21. Yamasaki K, Ishihara H, Imaizumi T, Kabe T, Y. Y. Effect of OPC-12579, a novel antiulcer agent, on chronic and acute experimental gastric ulcer and gastric secretion in rats. *Japanese Journal of Pharmacology*. 1989, 49: 441-8.
22. Matersson JA, Mehta T, Krauss AN, Auld PA, . MA. 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.
23. Hirashi H, Terano A, al. OSe. Protection of cultured rat gastric cells against oxidant-induced damage by exogenous glutathion. *Gastroenterology*, 1994, 106: 1199-1207.
24. Alarcón de la Lastra C, Nieto A, Martín MJ, Cabré JF, Herrerías M, V. M. Gastric toxicity of racemic ketoprofen and its enantiomers in rat: oxygen radical generation and COX-expression. *Inflammation Research*, 2002, 51: 051-057.
25. DM.Suppl. MC. Mechanism of mucosal injury and healing: the role of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 1995, 208: 24-9.
26. Sánchez S, Martín MJ, Ortiz P, Motilva V, C. AdlL. Effects of dipyron on inflammatory infiltration and oxidative metabolism in gastric mucosa. Comparison with acetaminophen and diclofenac. *Digestive Diseases and Sciences*, 2002.
27. Ukawa H, Yamakuni H, Kato S, K T. Effects of cyclooxygenase- 2 selective and nitric-releasing nonsteroidal antiinflammatory drugs on mucosal ulcerogenic and

- healing responses of the stomach. *Digestive Diseases and Sciences*, 1998, 43: 2003-11.
28. Sakurai K, K. Y. Protective effect of rebamipid against hydrogen peroxide-induced hemorrhagic mucosal lesions in rat stomach. *Japanese Journal of Pharmacology*, 1994, 64: 229-234.
29. Strubelt O, R. H. Relations between gastric GSH and the ulcerogenic action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Archives internationales de pharmacodynamie*, 1983, 262: 268-278.
30. Suleyman H, Akcay F, K. A. The effect of nimesulide on the indomethacin- and ethanol-induced gastric ulcer in rats. *Pharmacological Research*, 2002, 45: 155-158.
31. Banoğlu NZ, Süleyman H, Gepdiremen A, D. S. Sophora japonica'dan elde edilen ekstrenin stres ülserleri üzerine etkileri ve ranitidin ile karşılaştırılması.
32. Suleyman H, Demirezer LO, ME B. Antiulcerogenic effect of Hippophae rhamnoides. *Phytotherapy Research*, 2001, 15 (7): 625-627.
33. Suleyman H, Odabasoglu F, Aslan A, Cakir A, Karagoz Y, Gocer F, Halıcı M, Y. B. Antiinflammatory and antiulcer effects of aqueous extract of Lobaria pulmonaria. *Phytomedicine*, 2003, 10: 552-557.
34. Halıcı M, Odabasoglu F, Suleyman H, Cakir A, Aslan A, Y. B. Effects of water extract of Usnea longissima on antioxidant enzyme activity and mucosal damage caused by indomethacin in rats. *Phytomedicine*, 2005, 12: 656-662.
35. Odabasoglu F, Cakir A, Suleyman H, Aslan A, Bayir Y, Halıcı M, C K. Gastroprotective and antioxidant effects of usnic acid on indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Journal Ethnopharmacology*, 2006, 103: 59-65.

36. Bayir Y, Odabasoglu F, Cakir A, Aslan A, Suleyman H, Halıcı M, C. K. The inhibition of gastric mucosal lesion, oxidative stress and neutrophil-infiltration in rats by the lichen constituent diffractaic acid. *Phytomedicine*, 2006, 13: 584-590.
37. Wolfrom M.L, Komitsky Jr. F, Fraenkel G, Looker J.H, Dickey E.E, McWain P, Thompson A, Mundell P.M, O.M. W. Macluraxanthone and two accompanying pigments from the root bark of the osage orange. *Tetrahedron Letters*, 1963, 4: 749–755.
38. Saloua F, Eddine NI, Z. H. Chemical composition and profile characteristics of Osage orange *Maclura pomifera* (Rafin.) Schneider seed and seed oil. *Industrial Crops And Products*, 2009, 29: 1-8.
39. Kupeli E, Orhan I, Toker G, E. Y. Anti-inflammatory and antinociceptive potential of *Maclura pomifera* (Rafin.) Schneider fruit extracts and its major isoflavonoids, scandenone and auriculasin. *Journal of ethnopharmacology*, 2006, 107: 169-174.
40. Jones J.M, F. S. Cytotoxicity of lymphoid cells induced by *Maclura pomifera* (MP) lectin. *Cellular Immunology*, 1979, 42: 319–326.
41. Bourdy G, Chavez de Michel LR, A. R-C. Pharmacopoeia in a shamanistic society: the Izoceno-Guarani (Bolivian Chaco). *Journal of ethnopharmacology*, 2004, 91: 189-208.
42. Peterson C.F, E.W B. The antifungal activity of an aqueousextract of osage orangewood. *Merican Journal of Pharmaceutical Sciences for Support Public Health*, 1953, 125: 303–310.
43. Son IH, Chung IM, Lee SI, Yang HD, HI M. Pomiferin, histone deacetylase inhibitor isolated from the fruits of *Maclura pomifera*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2007, 17: 4753-4755.

44. Vesela D, Kubinova R, Muselik J, Zemlicka M, V. S. Antioxidative and EROD activities of osajin and pomiferin. *Fitoterapia*, 2004, 75: 209–211.
45. E. D. Maclura pomifera bitkisinin su ekstresinin ratlarda karragenin ile oluşturulan inflamasyon modeli üzerine etkilerinin araştırılması ve antioksidan mekanizmasının incelenmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Fakültesi Biyokimya ABD. Yüksek lisans tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2012.
46. Arıncı K, A. E. Anatomi. 3.Baskı. Ankara, Güneş Kitabevi, 2001.
47. Junquiera L-C Corneiro, RO. EK, . *Basic Histology*. 7.Baskı. İstanbul, Barış Kitabevi, 1993.
48. Guyton AC, JE H. *Tıbbi fizyoloj*. 4. Baskı. TÜRKİYE, Nobel Tıp Kitabevi, 2001.
49. C. K. Klasik ve çapraz gastrojejunostomi yapılan ratiarda mide boşalımının karşılaştırılması. TC Sağlık Bakanlığı Taksim Eğitim Ve Araştırma Hastanesi 1. Genel Cerrahi Kliniği, Uzmanlık Tezi, 2006.
50. Sen T, Abdul Salam CA, Pal S SS, AKN. C. Effect of dothiepin on gastric ulceration mediated by lipid derived eicosanoids. *Life Sciences* 2000, 66 : 325-330.
51. O. K. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*.11. Baskı. Feryal Matbaacılık Sanayi ve Tic Ltd Şti, 1997.
52. A. S. Mechanisms of ülcer healing and effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *American Journal of Medicine*, 1998, 104: 43-51.
53. Mozsik G, T. J. Biochemical and pharmacological approach to the genesis of ulcer disease. *Digestive Diseases and Sciences*, 1988, 33: 92-105.
54. Banerjee S, Hawksby C, Dahili S, Beattie D, KEL MC. Effect of H. pylori and its eradication on gastric juice ascorbic acid. *Gut*, 1994, 335: 317-322.

55. Davies GR, Simmonds NJ, Stevens TR, Sheaff MT, Banatvalo N, Laurenson IF, Blake DR, DS R. Helicobacter pylori stimulates antral mucosal reactive oxygen metabolite production in vivo. *Gut*, 1994, 1; 32: 179-185.
56. 56.Koc M, İmrik H, Odabasoglu F. Gastroprotective and anti-oxidative properties of ascorbic acid on indomethacin-induced gastric injuries in rats. *Biological Trace Element Research*, 2008, 126 : 222-236.
57. Sullivan M, DA. Y. Gastric disease in the dog and cat. *The Veterinary Journal*, 1998, 156: 91-106.
58. 58.Chattopadhyay I, Bandyopadhyay U, Biswas K, Maity P, RK B. Indomethacin inactivates gastric peroxidase to induce reactive-oxygen-mediated gastric mucosal injury and curcumin protects it by preventing peroxidase inactivation and scavenging reactive oxygen. *Free Radical Biology and Medicine*, 2006, 40: 1397-1408.
59. 59.Odabasoglu F, Halici Z, Aygun H, Halici M, Cakir A, Suleyman H, E. C. Anti-inflammatory effect of the alpha-lipoic acid on carrageenan-induced paw edema in rats and its relation with some antioxidant enzymes. *Abstracts from the 6th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium*, 2007: 137-138.
60. A. Ö. İşte Helicobacter pylori, gastrit, peptik ülser. *Türk Gastroenteroloji Derneği Yayınları*, 1996.
61. JY J, Terlain B, Abid A, . Cyclo-oxygenase isoenzymes. *Drugs*, 1997, 53: 563-82.
62. Hudson N, Hawthorne AB, Cole AT, Jones PD, CJ. H. Mechanism of gastric and duodenal damage and protection. *Hepatogastroenterology*, 1992, 39: 31-36.
63. Taha AS, Sturrock RD, RE R. Mucosal erosions in long-term nonsteroidal anti-inflammatory drug users: predisposition to ulceration and relation to Helicobacter pylori. *Gut* 1995, 36: 334-336.

64. S. L, MD. S. Role and regulation of cyclooxygenase-2 during inflammation. *American Journal of Medicine*, 1999, 106: 37-42.
65. Süleyman H, Demircan B, Y. K. Anti-inflammatory and side effects of cyclooxygenase inhibitors. *Pharmacological Reports*, 2007, 59: 257-268.
66. CJ H. COX-1 and COX-2 inhibitors. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 2001, 15: 801-820.
67. L. L. Gastrointestinal effects of NSAİİ and coxibs. *Journal of Pain and Symptom Management*, 2003, 25: 32-40.
68. Bayir Y, Odabasoglu F, Cakir A, Aslan A, Süleyman H, Halici M, C. K. The inhibition of gastric mucosal lesion, oxidative stress and neutrophil-infiltration in rats by the lichen constituent diffractaic acid. *Phytomedicine*, 2006, 13 : 584-590.
69. Koc M, İmik H, F O. Gastroprotective and anti-oxidative properties of ascorbic acid on indomethacin-induced gastric injuries in rats. *Biological Trace Element Research*, 2008, 126 : 222-236.
70. Karakuş B, Odabasoglu F, Cakir A, Halici Z, Bayir Y, Halici M, Aslan A, H S. The effects of methanol extract of *Lobaria pulmonaria*, a lichen species on indomethacin-induced gastric mucosal damage, oxidative stress, and neutrophil infiltration. *Phytotherapy Research*, 2009, 23: 635-639.
71. Isenberg J I, Me Quaid KR, Laine L, Walsh JH, Yamada T. Acid peptic disorders. *Text Book of Gastroenterol*, 1995, 2nd: 1347-1430.
72. Itoth M, PH. G. Role of oxygen derived free radicals in hemorrhagic shock induced gastric lesions in the rat *Gastroenterology*, 1985, 88: 1165-1167.
73. Das D, RK. B. Effect of stress on the antioxidant enzymes and gastric ulceration. 2.Baskı. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 1993.

74. Takeuchi K, Kagawa S, Mimaki H, Aoi M, S. K. COX and NOS isoforms involved in acid-induced duodenal bicarbonate secretion in rats. *Digestive Diseases and Sciences*, 2002, 47: 2116-2124.
75. JRW B. Mechanisms underlying intestinal injury induced by anti-inflammatory COX inhibitors. *European Journal of Pharmacology*, 2004, 500: 427-439.
76. Villegas La, La Casa C, La Lastra CA, Motilva V, Herrerías JM, MJ M. Mucosal damage induced by preferential COX-1 and COX-2 inhibitors: Role of prostaglandins and inflammatory response. *Life Science Journal*, 2004, 74: 873-884.
77. Takuji M, Sato H, Hirose F, M. D. Effects of antioxidative drugs on gastric damage induced by ethanol in rats. *Life Science Journal*, 1987, 41: 755-763.
78. Jainu M, CS D. Gastro protective action of *Cissus quadrangularis* extract against NSAID induced gastric ulcer: Role of proinflammatory cytokines and oxidative damage. *Chemico-Biological Interactions*, 2006, 161: 262-270.
79. H. S. Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology*, 1997, 82: 291-295.
80. Ajaikumar KB, Asheef M, Babu BH, J P. The inhibition of gastric mucosal injury by *Punica granatum* L. (pomegranate) methanol extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 2005, 96: 171-176.
81. Yamasaki K, Kanbe T, Chijiwa T, Ishiyama FI, S. M. Gastric mucosal protection by OPC-12759, a novel antiulcer compound, in the rat. *European Journal of Pharmacology*, 1987, 142: 23-30.
82. Yamasaki K, Ishihara H, Imaizumi T, Kabe T, Y. Y. Effect of OPC-12579, a novel antiulcer agent, on chronic and acute experimental gastric ulcer and gastric secretion in rats. *Japanese Journal of Pharmacology*, 1989, 49: 441-8.

83. Jain A, Mehta T, Krauss AN, Auld PA, A. M. 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*, 1992, 89: 5093-5097.
84. Hirashi H, Terano A, Ota S, al. e. Protection of cultured rat gastric cells against oxidant-induced damage by exogenous glutathion. *Gastroenterol*, 1994, 106: 1199-207.
85. Fornai M, Natale G, Colueei R, Tuccori M, Carazzina G, Antonioli L, Baldi S, Lubrano V, Abramo A, Blandizzi C, M. DT. Mechanisms of protection by pantoprazole against NSAİİ-induced gastric mucosal damage. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2005, 372: 79-87.
86. Monteiro MVB, Ana Karine Rocha de Melo Leite, Luciana Medeiros Bertini, Selene Maia de Moraes, Nunes-Pinheiro. DCeS. Topical antiinflammatory, gastroprotective and antioxidant effects of the essential oil of *Lippia sidoides*. *Journal of Ethnopharmacology*, 2007, 111: 378-382.
87. Gate L, Paul J, Ba GN, Tew KD, H. T. Oxidative stress induced in pathologies: the role of antioxidants. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 1999, 53: 169-180.
88. Onat T, K. E. *İnsan Biyokimyası*. 10. Baskı. Ankara, Palme Yayıncılık, 2002.
89. Gutteridge JM, Chem C. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*, 1995, 41: 1819-1828.
90. Halliwell B, JM. G. Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage and antioxidant therapy. *The Lancet*, 1984, 1: 1396-1397.
91. Imhof BA, D. D. Basic mechanism of leukocyte migration. *Hormone and Metabolic Research*, 1997, 29: 614-621.

92. Smith C, AD. M. *Marks' Temel Tıbbi Biyokimyası*.2. Baskı. Ankara, Güneş Tıp Kitapevleri, 2007.
93. Dünder Y, Aslan R. Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar. *Afyon Kocatepe Üniversitesi*, 2000: 1-35.
94. Halliwell B, JMC. G. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical Journal*, 1984, 219: 1-14.
95. Weis SJ, AF. L. Biology of disease: Phagocyte-generated oxygen metabolites and cellular injury. *Laboratory Investigation*, 1982, 47: 5-18.
96. Buonocore G, F. G. Anti-oxidant strategies. *Neonatal Medicine*, 2007: 1-9.
97. Slater TF, Cheeseman KH, Davies MJ, Proudfoat K, W. X. Nutritional aspects of free radicals. *Proceedings Of The Nutrition Society*, 1987, 46: 1-12.
98. T A. *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*. 1. Baskı. Konya, Mimoza Yayinlari, 1995.
99. Aust SD, Morehouse LA, CE. T. Role of metals in oxygen radical reactions. *Free Radical Biology and Medicine*
100. S. S. Mechanisms of mucosal injury in the stomach and duodenum: time-sequence analysis of morphologic, functional, biochemical and histochemical studies. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 1987, 127: 21-8.
101. IB. Ae. Signaling functions of free radicals superoxide & nitric oxide under physiological & pathological conditions. *Molecular Biotechnology*, 2007, 37: 2-4.
102. O. A. Free radicals, antioxidants and international nutrition review. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*1999, 8: 53-63.
103. Ames BN, Shigenaga MK, TM. H. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1993, 90: 7915-7922.

104. Robison TW, Murphy JK, Beyer LL, Richters A, HJ. F. Depression of stimulated arachidonate metabolism and superoxide production in rat alveolar macrophages following in vivo exposure to 0.5 ppm NO₂. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 1993, 38: 273-92.
105. Aslan R, Y. D. *Bir Fizyolojik Eleman ve Radikal Olarak Azot Oksit*. 2. Baskı. Hayat Araştırma Dergisi, 1998.
106. Lohinai ZM, C. S. Role of nitric oxide in physiology and patophysiology of periodontal tissues. *Medical Science Monitor*, 1998, 4: 1089-1095.
107. T. A. *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*. 1. Baskı. Konya Mimoza Yayınları, 1995.
108. NV. G. Oxidative stress as a factor of disrupted ecological oxidative balance in biological systems *Bulgarian Journal of Veterinary*, 2005,, 8: 1-11.
109. Freeman BA, JD. C. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 1982, 47: 412-426.
110. Çavdar C, Sifil A, T. Ç. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Journal of Nephropathology*, 1997, 3-4: 92-95.
111. Prichard M, Ducharme NG, Wilkins PA, Erb HN, M. B. Xanthine Oxidase Formation during Experimental Ischemia of the Equine Small Intestine. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 1991, 55: 310-314.
112. Seifried HE, Anderson DE, Sorkin BC, RB. C. Free Radicals: The Pros and Cons of Antioxidants. *Journal of Nutrition*, 2004, 134: 3143–3163.
113. Houston M, Estevez A, Chumley P, Aslan M, Marklundi S, Parks DA, BA. F. Binding of xanthine oxidase to vascular endothelium. *Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274: 4985–4994.

114. Doctor RB, LJ. M. 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.
115. JM. M. Oxygen-derived free radicals in postistemic tissue injury. *The New England Journal Medicine*, 1985, 312: 159-163.
116. Hirata F, O. H. Possible participation of superoxide anion in the intestinal tryptophan 2,3 -dioxygenase reaction. *Journal Biologic Chemistry* 1971, 25: 7825.
117. Hung-Hai K, Brunk UT, RS. S. Relationship between mitochondrial superoxide and hydrogen peroxide production and longevity of mammalian species. *Free Radical Biology and Medicine* ,1993, 15: 621-627.
118. Ersoy A, K. D. Hemodiyaliz Hastalarında Eritrosit Membran Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidatif Homeostazis Değişiklikleri. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 1999, 1: 1-4.
119. Jana AK, Agarwal S, SN. C. Membrane lipid peroxidation by ultrasound: Mechanism and implications. *Journal of Biosciences*, 1990, 15: 211–215.
120. Li JM, AM. S. ROS Generation by nonphagocytic NADPH oxidase: Potential relevance in diabetic nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2003, 14: 221–226.
121. M. C. Biology of disease: lipid peroxidation and cellular damage in toxic liver injury. *Laboratory Investigation*, 1985, 53: 599-623.
122. Davies KJA, AL. G. Oxygen radicals stimulate intracellular proteolysis and lipid peroxidation by independent mechanisms in erythrocytes. *The Journal of Biological Chemistry*, 1987, 262: 8220-8226.
123. Thomas CE, SD. A. Free radicals and environmental toxins. *Annals Emergency Medicine*, 1986, 15: 1075-83.

124. Goulart M, Batore'u MC, Rodriguez AS, Laires A, J. R. Lipoperoxidation products and thiol antioxidants in chromium exposed workers. *Mutagenesis*, 2005, 20: 311–31.
125. Long CA, HJ. B. Rate of Reaction of Superoxide Radical with Chloride-Containing Species. *Journal Physcial Chemistry*, 1980, 84: 555-557.
126. Çakatay U , Protein Oksidasyonunun Klinik Önemi. *Cerrah Paşa Tıp Dergisi*, 2004, 35: 140-149.
127. Dalle-Donne İ, Rossi R, Giustarini D, Milzani A, R. C. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clinica Chimica Acta*, 2003, 329: 23–38.
128. Simpson JA, Narita S, Gieseg S, Gebicki S, Gebicki JM, RT. D. Long-lived reactive species on free-radical-damaged proteins. *Biochemistry Journal*, 1992, 282: 621-624.
129. LJ. M. Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2002, 181-182: 219-222.
130. Epe B, Ballmaier D, Adam W, Grimm GN, CR. S-M. 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.
131. Jornot L, Petersen H, AF. J. Hydrogen peroxide-induced DNA damage is independent of nuclear calcium but dependent on redox-active ions. *Biochemistry Journal*, 1998, 335: 85-94.
132. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroğlu M, J. L. Oxidative DNA Damage: mechanisms, mutation, and disease. *The FASEB Journal*, 2003, 17: 1195-1214.
133. Knaapen AM, Güngör N, Schins RPF, Borm PJA, FJV. S. Neutrophils and respiratory tract DNA damage and mutagenesis: a review. *Mutagenesis*, 2006, 21: 225–236.

134. Knaapen AM, Schins RPF, Polat D, Becker A, PJA. B. Mechanisms of neutrophil-induced DNA damage in respiratory tract epithelial cells. *Mololeculer and Cellular Biochemistry*, 2002, 234/235: 143–151.
135. HM. S. *Superoxide Dismutase*. 7. Baskı. CRC Press, 1982.
136. Mahadik SP, RE. S. Oxidative injury and potential use of antioxidants in schizophrenia. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 1996, 55: 45-54.
137. Church DF, WA. P. Free-radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environmental Health Perspectives*, 1985, 64: 111-126.
138. KO. V. *Antibiotics in Lichens*. 51. Baskı. *The Lichens*, 1973.
139. B. H. Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence. *Lancet*, 1994, 344: 721-724.
140. S. T. Deneyisel Olarak Enflamasyon Oluşturulan Ratlarda *Peltigera rufescens* (WEIS) Humb. İsimli Likenden Elde Edilen Metanol Ekstrelerinin Antioksidant Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi. Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı. Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2007.
141. NV. B. *Medical Biochemistry*. 8. Baskı. Canada, Harcourt/Academic Press, 2002.
142. L. S. *Biochemistry*. 2. Baskı. 1988.
143. Keha EE, Öİ. K. *Biyokimya*. 2. Baskı. Erzurum, 2000.
144. Siems WG, Sommerburg O, T. G. T. Erythrocyte free radical and energy metabolism. *Clinical Nephrology*, 2000, 53: 9-17.
145. F. O. *Antioksidan Vitaminler*. 6. Baskı. Erzurum. Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, 8 Mart 1999.
146. Montgomery R, Conway T.W, AA. S. *Biochemistry*. 3. Baskı. Ankara, Palme Yayıncılık, 2000.

147. USDA NRCS. The PLANTS Database <http://plants.usda.gov>. 15.07.2012
148. The Plant List (2010). Version 1; <http://www.theplantlist.org/>. 15.07.201234.
Rouge B. PLANTS (National Plants Database) <http://plants.usda.gov>.
15.07.2012
149. Kupeli E, Orhan I, Toker G, E. Y. Anti-inflammatory and antinociceptive potential of *Maclura pomifera* (Rafin.) Schneider fruit extracts and its major isoflavonoids, scandenone and auriculasin. *Journal of ethnopharmacology*, 2006, 107: 169-174.
150. Bourdy G, Chavez de Michel LR, Roca-Coulthard. A. Pharmacopoeia in a shamanistic society: the Izoceno-Guarani (Bolivian Chaco). *Journal of ethnopharmacology*, 2004, 91: 189-208.
151. Wolfrom M.L, Komitsky Jr. F, Fraenkel G, Looker J.H, Dickey E.E, McWain P, Thompson A, Mundell P.M, O.M. W. Macluraxanthone and two accompanying pigments from the root bark of the osage orange. *Tetrahedron Letters*, 1963, 4: 749–755.
152. Pehlivan E, HT. K. Hexavalent chromium removal by Osage Orange. *Food Chemistry*, 2012, 133: 1478-1484.
153. Saloua F, Eddine NI, Z. H. Chemical composition and profile characteristics of Osage orange *Maclura pomifera* (Rafin.) Schneider seed and seed oil. *Industrial Crops And Products*, 2009, 29: 1-8.
154. Vesela D, Kubinova R, Muselik J, Zemlicka M, V. S. Antioxidative and EROD activities of osajin and pomiferin. *Fitoterapia*, 2004, 75: 209-211.
155. CCAC, ON. O. Guide to the care and use of experimental animals Canadian Council on Animal Care. Canada, *Bradda Printing Services*, 1993.

156. Van Zuphen L. F.M, Baumans V, A.C. B. *Principles of Laboratory Animal Science. Laboratuvar Hayvanları Biliminin Temel İlkeleri*. Ankara, Medipres, 2003.
157. Guidobono F, Ticozzi PC, BF S. Protection by amylin of gastric erosions induced by indomethacin or ethanol in rats. *British Journal of Pharmacology*. 1997, 120: 581-586.
158. Alarcón de la Lastra C, Nieto A, Martin MJ, Cabré JF, Herrerías M, V. M. Gastric toxicity of racemic ketoprofen and its enantiomers in rat: oxygen radical generation and COX-expression. *Inflammation Research*, 2002, 51: 051-057.
159. Abdel-Wahab MH, Arafa HMM, 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.
160. H. A. Medhod Enzymol. *Catalase*. 1984, 105: 121-126.
161. Sun Y, Larry WO, LA. Y. Simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*, 1988, 34: 497-500.
162. Sedlak J, RHL. L. Estimation of total, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Elman's reagent. *Analytical Biochemistry*, 1968, 25: 192-205.
163. Church DF, WA. P. Free-radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environmental Health Perspectives*, 1985, 64: 111-126.
164. Ohkawa H, Ohishi N, K. Y. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry* 1979, 95: 351-358.
165. 2012. IS.
166. Laine L, Ahnen D, McClain C, Solcia E, J.H. W. Review article: potential gastrointestinal effects of long-term acid suppression with proton pump inhibitors. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 2000, 14: 651-668.

167. M. H. Bazı Likenlerden İzole Edilen Maddelerin Sıçanlarda İndometazin İle Oluşturulan Ülser Modelinde Antiülserojen Mekanizmaların Araştırılması. Fen Bilimleri Enstitüsü, Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya ABD. Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2008.
168. Halıcı M, Odabasoglu F, Suleyman H, Cakir A, Aslan A, Y. B. Effects of water extract of *Usnea longissima* on antioxidant enzyme activity and mucosal damage caused by indomethacin in rats. *Phytomedicine*, 2005, 12: 656-662.
169. Bayir Y, Odabasoglu F, Cakir A, Aslan A, Suleyman H, Halıcı M, C. K. The inhibition of gastric mucosal lesion, oxidative stress and neutrophil-infiltration in rats by the lichen constituent diffractaic acid. *Phytomedicine*, 2006, 13: 584-590.
170. Vesela D, Kubinova R, Muselik J, Zemlicka M, V. S. Antioxidative and EROD activities of osajin and pomiferin. *Fitoterapia*, 2004, 75: 209-211.
171. SY W, Lan XY, Xiao JH, Yang JC, Kao YT, ST. C. Antiinflammatory activity of *Lindera erythrocarpa* fruits. *Phytotherapy Research* , 2008, 22: 213-216.
172. Uzkeser H, Cadirci E, Halici Z, Odabasoglu F, Polat B, Yuksel TN, Ozaltin S, F. A. Anti-Inflammatory and Antinociceptive Effects of Salbutamol on Acute and Chronic Models of Inflammation in Rats: Involvement of an Antioxidant Mechanism. *Mediators of Inflammation*, 2012.
173. Kalayarasan S, Prabhu PN, Sriram N, Manikandan R, Arumugam M, G. S. Diallyl sulfide enhances antioxidants and inhibits inflammation through the activation of Nrf2 against gentamicin-induced nephrotoxicity in Wistar rats. *European Journal Of Pharmacology*, 2009, 606: 162-171.
174. Jatwa R, A. K. Anti-inflammatory and anti-peroxidative roles of diacerein are possibly mediated through an alteration in thyroid functions in animal model of inflammation. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, 2009, 23: 465-471.

175. Tsao R, Yang R, JC. Y. Antioxidant isoflavones in Osage orange, *Maclura pomifera* (Raf.) Schneid. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2003, 51: 6445-6451.
176. AC. B. *Peptik Ülser. Bebek ve çocuklarda cerrahi ve ürolojik hastalıklar*. Ankara, Palme yayıncılık, 2006.
177. HP. R. What you should know about peptic ulcers. *Occupational safety and health*, 1980, 49 (6): 13, 26.
178. Sivri B, Ö. G. *Peptik ülser hastalığı*. Ankara, Güneş Kitabevi, 2007.
179. O. B. *Peptik ülser*. 6. Baskı. Ankara, 1987.
180. Franceschi F, Genta RM, AR. S. Gastric mucosa: long-term outcome after cure of *Helicobacter pylori* infection. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* ,2002, 37 : 17-23.
181. John RH, Nicotine vs Placebo Gum in general medical practice. *JAMA*, 1989. 261: 300-1305.
182. Mulholland MW, HT. D. Chronic duodenal and gastric ulcer. *The surgical clinics of North America*, 1987, 67: 489-504.
183. LR. S. *Epidemiology of peptic Ulcer*. Cecil textbook of medicine, 1988.
184. Dengiz GÖ, Odabasoglu F, Halici Z, Süleyman H, Cadirci E, Y. B. Gastroprotective and antioxidant effects of amiodarone on indomethacin-induced gastric ulcers in rats. *Archives of Pharmacal Research*, 2007, 30 (11): 1426-1434.
185. Dengiz GO, Odabasoglu F, Halici Z, Cadirci E, Halici M. Gastroprotective and antioxidant effects of montelukast on indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*,2007, 105: 94-102.

186. Tegeder I, Neupert W, Guhring H, G. G. Effects of selective and unselective cyclooxygenase inhibitors on prostenoid release from various rat organs. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2000, 292: 1161-1168.
187. 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.
188. Odabasoglu F, Cakir A, Süleyman H, Asian A, Bayir Y, Halici M, C. K. Gastroprotective and antioxidant effects of usnic acid on indomethacine-induced gastric ulcer in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 2006, 103 : 59-65.
189. B. D. The production of acute gastric ulceration by indomethacin in the rat. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 1969, 4: 265-267.
190. Filaretova L, Tanaka A, Miyazowa T, Kato S, K. T. Mechanisms by which endogenous glucocorticoid protects against indomethacin-induced gastric injury in rats. *American Journal of Physiology*, 2002, 283: 1082-1090.
191. Odabasoglu F, Cakir A, Süleyman H, Asian A, Bayir Y, Halici M, C. K. Gastroprotective and antioxidant effects of usnic acid on indomethacine-induced gastric ulcer in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 2006, 103 (1): 59-65.
192. Whittle BJR, Laszlo F, Evans SM, S. M. Induction of nitric oxide synthase and microvascular injury in rat jejunum provoked by indomethacin. *British Journal of Pharmacology*, 1995, 116: 2286-2290.
193. Jansson EA, Petersson J, Reinders C, Sobko T, Björne EI, Phillipson M, Weitzberg E, Holm L, JO. L. Protection from nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID)-induced gastric ulcers by dietary nitrate. *Free Radical Biology and Medicine* , 2007, 42: 510-518.

194. Eliot SN, JL. W. Neutrophil-mediated gastrointestinal injury. *Canadian Journal of Gastroenterology*, 1998, 12: 559-568.
195. Yoshikawa T, Minamiyama Y, Ichikawa H, Takahashi S, Naito Y, M.. K. Role of lipid peroxidation and antioxidants in gastric mucosal injury induced by the hypoxanthine- xanthine oxidase system in rats. *Free Radical Biology and Medicine*, 1997, 23: 243-250.
196. Verspaget HW, Mulder TPJ, Van der Sluys Veer A, Pena AS, CBHW. L. eactive oxygen metabolites and colitis; a dsiturbed balance between damage end protection. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 1991, 26: 44-51.
197. Smith SM, PR. K. Gastric ulcers; role of oxygen radicals. *Critical Care Medicine*, 1988, 16: 892-898.
198. Cheeseman KH, I. SI. An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin*, 1993, 49: 481-493.
199. Alarcon de la lastra C, Barranco MD, Martin MJ, Herrerias J, V. M. Extra-virgin olive oil-enriched diets reduce indomethacin-induced gastric oxidative damage in rats. *Digestive Diseases and Sciences*, 2002, 47 (12): 2783-2790.
200. B. D. The production of acute gastric ulceration by indomethacin in the rat. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 1969, 4: 265-267.
201. El-Missiry MA, El-Sayed IH, AI. O. Protection by metal complexes with SOD-mimetic activity against oxidative gastric oxidative gastric injury induced by indomethacin and ethanol in rats. *Annals of Clinical Biochemistry*, 2001, 38: 694-700.
202. Halici M, Odabasoglu F, Süleyman H, Aslan A, Çakır A, Gocer F, Yucel O, Y. B. An investigation on the effects of water extract of usnea longissima on the

- antiulcerogenic, and some antioxidant enzymes activities on the model of indomethacin-induced ulcer in rats. 2003.
203. M. H. Ratlarda indometazin ile oluşturulan ülser modelinde "usnea longissima" dan elde edilen su ekstrelerinin antiülserojenik ve bazı antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkilerinin araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Eczacılık Fakültesi Biyokimya ABD. Yüksek Lisans Tezi, Erzurum: 2003.
 204. Basiviredy J, Jacob M, Ramamoorthy P, Pulimood AB, KA. B. Indomethacin-induced free radical-mediated changes in the intestinal brush border membranes. *Biochemical Pharmacology* ,2003, 65: 683-695.
 205. Alareon C, Nieto A, Martin MJ, Cabre F, Herrieras J, V. M. Gastric toxicity of racemic ketoprofen and its enantiomers in rats: oxygen radical generation and COX-expression. *Inflammation Research*, 2002, 51: 51-57.
 206. El-Missiry MA, El-Sayed IH, Othman AI. Protection by metal complexes with SOD-mimetic activity against oxidative gastric oxidative gastric injury induced by indomethacin and ethanol in rats. *Annals of Clinical Biochemistry*, 2001, 38: 694-700.
 207. Pihan G, C R, S. S. Free radicals and lipid peroxidation in ethanol or aspirin-induced gastric mucosal injury. *Digestive Diseases and Sciences*, 1987, 32: 1395-1401.
 208. Takeuchi K, K. T, T. O. Diethyldithiocarbamate, a SOD inhibitor, reduces indomethacin-induced gastric lesions in rats. *Digestion*, 1996, 57: 201— 209.
 209. Takeuchi K, Nishiwaki H, Niida H, Ueshima K, S. O. Duodenal ulcers induced by diethyldithiocarbamate, a SOD inhibitor in the rat: role of antioxidative system in the pathogenesis. *Japanese Journal of Pharmacology*, 1991, 57: 299-310.

210. Konjcti R, Sckhar, Spitz DR, Harris S, Nguyen TT, MJ. M. Redox-sensitive interraction between K.IAA0132 and Nrf2 mediates indomethacin-induced expression of γ -glutamylcysteine synthetase. *Free Radical Biology and Medicine*, 2002, 32: 650-662.
211. Odabaşoğlu F, ÖL K. Effects of the Treating with Pesticides and Plant Hormones on Catalase, Peroxidase, and Polyphenol Oxidase Activities in Spinach (*Spinaciaoleraceae* L.). *Bulletin of Pure and Applied Science*, 2001, 20: 79-88.
212. McCord JM, Fridovich. Superoxide Dismutase. *Journal of Biological Chemistry*, 1969, 244: 6049-6055.
213. Yukgunja G, H.M. S. Anti-oxidative herbs and indomethacin-induced rat gastric mucosal lesions. *The American Journal of Chinese Medicine*, 2001, 29: 101.
214. Odabasoglu F, Halici Z, Cakir A, Halici M, Aygun H, Süleyman H, Cadirci E, F. A. Beneficial effects of vegetable oils (corn, olive and sunflower oils) and (x-toeopherol on anti-inflammatory and gastrointestinal profiles of indomethaein in rats. *European Journal of Pharmacology*, 2008, 591 : 300-306.
215. Imai J, Ide N, Nagae S, Moriguchi T, Matasuura H, Y. aI. Antioxidant and radical scavenging effects of aged garlic extract and its constituents. *Planta Medica*, 1994, 60: 417-420.
216. Prestera T, Zhang Y, Spencer SR, Wilezak C, P. T. The electrophilic counter attack responses: protection against neoplasia and toxicity. *Advances in Enzyme Regulation*, 1993, 33: 281-296.
217. Van Lieshout EMM, Peters WEIM, JBMJ. J. Effect of oltipraz, u-toeopherol, β -carotene and phenyl isothiocyanate on rat oesophageal, gastric, colonic and hepatic glutathione, glutathione S-transferase and peroxidase. *Carcinogenesis*, 1996, 17: 1439-1445.

218. Aruna K, VM. S. Plant products as protective agents against cancer. *Indian Journal of Experimental Biology*, 1990, 28: 1008-1011.
219. B. K. Protective role of glutathione and glutathione S-transferases in mutagenesis and carcinogenesis. *Mutation Research*, 1988, 202: 343-361.
220. Hayes JD, . FD. The glutathione S-transfcrase supergene family; regulation of" GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprevention and drug resistance. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 1995, 30: 445-600.
221. Sandip K, Bandyopadhyay S, Pakrashi C, A. P. The role of antioxidant activity of Phyllanthus emblica fruits on prevention from indomethaein induced gastric ulcer. *Journal of Ethnopharmacology*, 2000, 70: 171-176.
222. Mizoguchi II, Ogavva Y, Kanatsu K, Tanaka A, Kato S, K. T. Protection by drugs of experimental intestinal lesions: Protective effect of rebamipide on indomethacin-induced intestinal damage in rats. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2001, 16: 1112-1119.
223. Miura T, Muraoka S, Y. F. Lipid peroxidation induced by indomethacin with horseradish peroxidase and hydrogen peroxide: involvement of indomethacin radicals. 2002, 63: 2069-2074.
224. A. R. An intestinal disease produced experimentally by a prostaglandin deficiency. *Gastroenterol*, 1975, 69: 1045-1047.
225. Harvison PJ, Egan RW, Gale PH, Christian GD, Hill BS, SD. N. Acetaminophen and analogs as cosubstrates and inhibitors of prostaglandin H synthase. *Chemico-Biological Interactions*, 1988, 64: 251-266.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

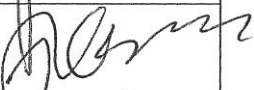
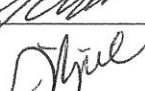
KİŞİSEL BİLGİLER	
Adı Soyadı	: Recai ACİ
Doğum Tarihi	: 25.06.1981
Doğum Yeri	: Erzurum
Medeni Hali	: Evli
Uyruğu	: T.C
Adres	: Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, 25240 ERZURUM
Telefon	: 0442 231 5554
Fax	:
E- Posta	: biyokimya25@hotmail.com
EĞİTİM	
Lise	: Atatürk Lisesi (1998)
Lisans	: Atatürk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü (2000-2004)
Yüksek Lisans	: Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı (2010-2013)
Doktora	:
YABANCI DİLBİLGİSİ	
İngilizce	: Orta seviye
	:
ÜYE OLUNAN MESLEKİ KURULUŞLAR	
İLGİ ALANLARI, HOBİLER	
Spor yapmak, kitap okumak, müzik dinlemek	

EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU

“2011. 2.1/ 7“SAĞLIK BİLİMLERİ ETİK KURUL KARARI 27.04.2011

2.1/ 7- Enstitümüz Veteriner Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Recai ACİ' nin “Bazı Bitkilerden Elde Edilen Ekstre ve Metabolitlerinin Ratlarda İndometazinle Oluşturulan Ülser Modeli Üzerine Etkilerinin Araştırılması ve Antioksidan Mekanizmanın İncelenmesi” tez konusu görüşüldü;

İlgilinin tez konusunun etik değerlere uygun olduğuna, ayrıca öğrencinin tez konusu dikkate alınarak Co danışman atanmasının uygun olacağına mevcudun oybirliği ile,

ADI SOYADI	GÖREVİ	İMZA
Prof.Dr.Türkan PASİNLİOĞLU	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Başkanı	
Prof. Dr. Funda BAYINDIR	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Başkan Yardımcısı	
Prof. Dr. İsmail CEYLAN	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Prof. Dr. Mustafa ATASEVER	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Prof. Dr. Zekeriya AKTÜRK	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Prof. Dr. H. İnci GÜL	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Doç. Dr. Hakan USLU	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Doç.Dr. Abdulkadir YILDIRIM	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Yrd. Doç. Dr. İlhan ŞEN	Raportör	