

**T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**AKUT MİDE MUKOZA HASARI ÜZERİNE *ABELMOSCHUS ESCULENTUS*
L.'NİN ANTI-ÜLSER ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

DENİZ ORTAÇ

**DOKTORA TEZİ
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI
BİYOMÜHENDİSLİK PROGRAMI**

**DANIŞMAN
PROF. DR. MUSA TÜRKER**

İSTANBUL, 2018

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**AKUT MİDE MUKOZA HASARI ÜZERİNE ABELMOSCHUS ESCULENTUS
L.'NİN ANTİ-ÜLSER ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Deniz ORTAÇ tarafından hazırlanan tez çalışması 13.04.2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Musa TÜRKER
Yıldız Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri

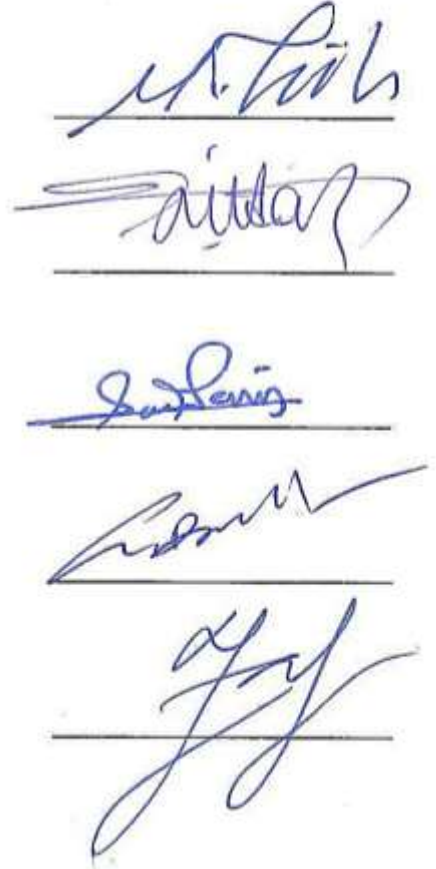
Prof. Dr. Musa TÜRKER
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. İbrahim İŞILDAK
Yıldız Teknik Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Sabahattin DENİZ
Marmara Üniversitesi

Doç. Dr. Cem Bülent ÜSTÜNDAĞ
Yıldız Teknik Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Zafer Ömer ÖZDEMİR
Sağlık Bilimleri Üniversitesi



The image shows five handwritten signatures in blue ink, each placed above a horizontal line. The signatures are: 1. Musa Türker (Yıldız Teknik Üniversitesi), 2. İbrahim İşildak (Yıldız Teknik Üniversitesi), 3. Sabahattin Deniz (Marmara Üniversitesi), 4. Cem Bülent Üstündağ (Yıldız Teknik Üniversitesi), and 5. Zafer Ömer Özdemir (Sağlık Bilimleri Üniversitesi).

Bu alışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü' nün 2015-07-04-KAP02 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

“Akut Mide Mukoza Hasarı Üzerine *Abelmoschus esculentus* L.’nin Anti-Ülser Etkisinin Araştırılması” adlı bu çalışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından sağlanan destekle, YTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalında “Doktora tezi” olarak hazırlanmıştır.

Araştırmanın değerlendirilmesinde yol gösteren, bilgi ve tecrübelerini paylaşan değerli danışmanım Prof. Dr. Musa TÜRKER’e şükranlarımı sunarım. Tez izleme komitemde bulunan Prof. Dr. İbrahim IŞILDAK ve Yrd. Doç. Dr. Sabahattin DENİZ’e değerli katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Araştırma konusu seçiminde ve araştırmanın her bölümünde bilgi ve tecrübesiyle yol gösteren Mustafa CEMEK’e şükranlarını sunarım. Tez çalışmasında deneyim ve tecrübelerini esirgemeyen Prof. Dr. Mehmet Emin BÜYÜKOKUROĞLU’na, histopatoloji çalışmalarda analizleri gerçekleştirilmesinde destek olan Turan KARACA’ya, kromotografi çalışmalarında zamanını ve bilgilerini esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Zafer Ömer ÖZDEMİR’e teşekkür ederim.

Bu çalışmanın yerine getirilmesine imkân sağlayan Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne, Fen Bilimleri Enstitüsüne, Kimya-Metalürji Fakültesi Dekanlığına, Biyomühendislik Bölümü öğretim üyelerine teşekkür ederim.

Bugüne kadar maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, başarılarımı görmeyi en çok hak eden AİLEME ve eşime teşekkür ederim.

Nisan, 2018

Deniz ORTAÇ

İÇİNDEKİLER

Sayfa

SİMGE LİSTESİ.....	viii
KISALTMA LİSTESİ.....	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
ÇİZELGE LİSTESİ	xi
ÖZET	xii
ABSTRACT.....	xiv
BÖLÜM 1	
GİRİŞ.....	1
1.1 Literatür Özeti	1
1.2 Tezin Amacı	4
1.3 Hipotez	4
BÖLÜM 2	
GENEL BİLGİLER.....	5
2.1 Peptik Ülser	5
2.1.1 Mide mukusu	5
2.1.2 NSAID	6
2.1.3 <i>Helicobacter pylori</i>	6
2.1.4 Stres	7
2.1.5 Beslenme faktörleri	7
2.2 Oksidan ve Antioksidan Sistem	8
2.3 Oksidan Moleküllerin Kaynakları	8
2.3.1 Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres	9
2.3.2 Serbest Oksijen Radikalleri	11
2.3.2.1 Süperoksit Radikali (O_2^-)	11
2.3.2.2 Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	12
2.3.2.3 Hidroksil Radikali ($\cdot OH$)	12

2.3.2.4	Singlet Oksijen ($^1\text{O}_2$)	13
2.3.2.5	Azot Oksit Bileşikleri (NOx)	14
2.3.3	Oksijen Türevi Olmayan Serbest Radikaller.....	14
2.4	Serbest Radikallerin Etkileri	16
2.4.1	Lipid peroksidasyonu	16
2.4.2	Proteinlere Etkileri	17
2.4.3	Karbonhidratlara Etkileri	17
2.4.4	DNA'ya Etkileri	18
2.5	Antioksidanlar	18
2.5.1	Enzimatik Antioksidanlar	19
2.5.1.1	Süperoksit dismutazlar (SOD)	19
2.5.1.2	Katalaz (CAT)	20
2.5.1.3	Glutasyon sistemleri.....	20
2.5.2	Enzimatik olmayan antioksidanlar.....	21
2.5.2.1	Askorbik asit	21
2.5.2.2	Glutasyon (GSH)	21
2.5.2.3	Tokoferoller ve tokotriyoller (E vitamini).....	22
2.5.2.4	Beta karoten.....	22
2.6	<i>Abelmoschus esculentus</i> (syn. <i>Hibiscus esculentus</i>) özellikleri	22

BÖLÜM 3

MATERYAL METOD	24
3.1 Materyal.....	24
3.1.1 Kimyasallar.....	24
3.1.2 Bitki materyali.....	24
3.1.3 Hayvan Materyali.....	25
3.1.4 Akut toksisite çalışmaları	26
3.2 Analizler için gerekli örneklerin alınması, hazırlanması ve saklama işlemleri.....	27
3.2.1 Serum Örneklerinin hazırlanması	27
3.2.2 Eritrosit paketlerinin hazırlanması	27
3.3 Mide doku örneklerinin alınması ve ülser indeksinin hesaplanması.....	28
3.3.1 Dokuların Homojenizasyonu	28
3.3.2 Organik matrisin doku numunelerinden ayrıştırılması.....	28
3.4 Biyokimyasal Analizler	29
3.4.1 MDA Tayini	29
3.4.2 GSH Tayini.....	29
3.4.3 Glutasyon Peroksidaz (GPx) Tayini	29
3.4.4 Katalaz (CAT) Tayini	30
3.4.5 Süperoksit Dismutaz (SOD) Tayini	30
3.4.6 Askorbik Asit Tayini.....	30
3.4.7 Vitamin A (Retinol) ve β -carotene	31
3.5 Histopatolojik Analiz	31
3.6 İmmünohistokimyasal Analiz	32
3.6.1 PCNA (Proliferating cell nuclear antigen) analizi.....	32
3.6.2 IL-1 β ve IL-6 analizi	32

3.7	TUNEL metodu	33
3.8	RP-HPLC analizi	33
3.9	ICP-OES analizi	33
3.10	İstatiksel analiz.....	34
3.11	Hayvan Etik Kurulu	34
BÖLÜM 4		
BULGULAR.....		35
4.1	Biyokimyasal Bulgular	35
4.2	Histopatolojik bulgular.....	41
4.3	İmmünohistokimyasal Bulgular	43
4.4	TUNEL Bulguları.....	46
4.5	ICP-OES Bulguları	48
4.6	RP-HPLC Bulguları	51
BÖLÜM 5		
TARTIŞMA		52
BÖLÜM 6		
SONUÇ VE ÖNERİLER		59
KAYNAKLAR		61
ÖZGEÇMİŞ		77

SİMGE LİSTESİ

α	İnterlökin sınıflandırma harfi
β	İnterlökin sınıflandırma harfi
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
μ	Mikro
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mg/kg	Miligram/kilogram
kg	Kilogram

KISALTMA LİSTESİ

AEE	<i>Abelmoschus esculentus</i> L. ekstraktı
CAM	Hücre yapışma molekülü
CAT	Katalaz
CCK	Koleostekinon
COX	Siklogenaz
ECL	Enterokromatin benzer hücreler
GPx	Glutatyon peroksidaz
GSH	Glutatyon
HCL	Hidroklorik asit
HO	Hidroksi eadikali
ICAM-1	Hücrelerarası adezyon molekülü
IL-6	İnterlökin 6
IL- β	İnterlökin beta
MDA	Malondialdehit
MPO	Myeloperoksidaz
NO	Nitrik asit
NSAID	Anti-inflamatuvar ilaçlar
PCNA	Proliferatif Hücre Çekirdek Antijeni
PG	Prostoglandinler
ROO	Peroksi radikali
RS	Sülfür merkezli tiyil radikali
RSOO	Peroksisiklinat radikali
SOD	Sodyum dismutaz
TBARS	Tiyobarbiturik asit reaktif maddesi
TNF- α	Tümör nekroz faktörü alfa
TUNEL	Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling
XO	Xantine oksidaz

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2. 1 Ülser oluşumu	8
Şekil 2. 2 <i>Abelmoschus esculentus</i> L. görünümü	23
Şekil 3. 1 Akut ülser çalışması ve doz uygulaması	26
Şekil 3. 2 Ratlardan kan alma işlemi	27
Şekil 3. 3 Ratların ketamin anestezi ile sakrifiye edilip midelerin çıkartılması	28
Şekil 4. 1 Mide örneklerinde ülser alanlarının görünümü	39
Şekil 4. 2 Gastrik mukozanın histolojik görünümü	42
Şekil 4. 3 PCNA pozitif hücre dağılımı	43
Şekil 4. 4 PCNA-pozitif hücre sayısı	44
Şekil 4. 5 Tüm gruplarda IL-1 β değerleri	45
Şekil 4. 6 Tüm gruplarda IL-6 değerleri	45
Şekil 4. 7 TUNEL pozitif hücre dağılımı	46
Şekil 4. 8 TUNEL sonuçları	47
Şekil 4. 9 RP-HPLC analizi	51

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2. 1	<i>Abelmoschus esculentus</i> L. yapısında bulunan başlıca bileşenler.....	23
Çizelge 3. 1	ICP-OES cihaz özellikleri	34
Çizelge 4. 1	Tüm gruplara ait tam kan MDA ve GSH değerleri.....	35
Çizelge 4. 2	Tüm gruplara ait serum Askorbi asit, β - carotene ve Retinol değerleri..	36
Çizelge 4. 3	Eritrosit antioksidan enzim aktiviteleri	37
Çizelge 4. 4	Ülser indeksi ve İnhibisyon yüzdesi.....	38
Çizelge 4. 5	Tüm gruplara ait doku MDA ve GSH seviyeleri	40
Çizelge 4. 6	Tüm gruplara ait mukozal ödem, hemoraji, inflamasyon ve epitel hücre erozyon değerleri	41
Çizelge 4. 7	Çalışma grupları mide dokusunda bioelement konsantrasyonları	49
Çizelge 4. 8	<i>Abelmoschus esculentus</i> L. mineral içeriği	50

**AKUT MİDE MUKOZA HASARI ÜZERİNE *ABELMOSCHUS ESCULENTUS*
L.'NİN ANTİ-ÜLSER ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Deniz ORTAÇ

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Musa TÜRKER

Abelmoschus esculentus L.(Malvaceae), geleneksel Türk tıbbında ülser ve gastrit gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan tıbbi bir bitkidir.

Bu çalışmada, *Abelmoschus esculentus* L. ekstraktının(AEE) etil alkol ile oluşturulan akut mide mukozal hasarı üzerine hayvan modellerinde gastroprotektif etkisi incelenmiştir. Bunun için rat modellerinde etil alkol ile ülser oluşturuldu. 24 saat aç bırakılan ratlara 500 mg/kg, 250 mg/kg, 100 mg/kg *Abelmoschus esculentus* ekstraktı (AEE); 20 mg/kg famodin (Fam); 75 mg/kg quercetin (Que); etil alkol grubuna 1ml etil alkol ve sham grubuna ise izotonik NaCl eşit hacimlerde gavajla verilmiştir. Bir saat sonra tüm ratlar sakrifiye edilerek, mideleri çıkarılmıştır. Mideler büyük kurvatur boyunca kesilerek açılmış ve serum fizyolojikle yıkanmıştır.

Mide mukoza lezyonları ile toplam mide alanı ve lezyon alanı hesaplanarak, ülser alanı/toplam mide alanı ülser indeksi olarak ifade edilmiştir. Oksidatif stresin göstergesi olan malondialdehid (MDA) ve redükte glutatyon (GSH) düzeyleri tam kanda ve dokuda; antioksidan özellik gösteren askorbik asit, serum β -karoten ve retinol serumda; Süperosit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ise eritrositlerde ölçülmüştür. Mide doku kesitlerinde mukozal ödem, hemoraji, inflamasyon, epitel hücre erozyonu ve interlökinler (IL-6, IL-1 β) değerlendirilmiştir. Bioelement seviyeleri ise homojenize edilmiş dokularda incelenmiştir.

Akut toksitite araştırması için farelere 100, 250, 500, 1000, 3000 ve 5000 mg/kg AEE dozları uygulanmıştır. Bu çalışmada herhangi bir toksik etki gözlemlenmemiştir. AEE-500, 250, 100, Fam-20 ve Que-75 sırasıyla 81.0, 67.5, 67.0, 76.3 ve 72.4 % ülser oluşumunu inhibe etmiştir.

Tüm çalışma gruplarında MDA düzeyleri etil alkol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak azalmıştır ($p<0.001$). AEE-500 grubunda β -karoten ve retinol düzeyleri sırasıyla anlamlı olarak % 40.2 ve % 45.4 artmıştır.

GPx seviyesinin AEE-500 mg/kg uygulanan grupta en yüksek olduğu ve bu değerin sham grubu ile yakın olduğu görülmüştür. AEE-100 ve 500 mg/kg uygulanan gruplarda SOD değerleri etil alkol grubuna göre daha yüksektir ($p<0.001$ ve $p<0.01$). CAT sonuçları değerlendirildiğinde AEE-250 ve 500 mg/kg grupları etil alkol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.01$). Antioksidan enzimlere paralel olarak Cu, Zn, Fe, Se ve Ca bioelement seviyeleri de etil alkol grubu ile kıyaslandığında anlamlı bir artış görülmüştür.

AEE-500 grubu, etil alkol grubuna kıyasla ödem, kanama ve inflamasyon skorlarını önemli ölçüde azaltmıştır ($p<0.05$). AEE-500, 250 ve Fam-20 gruplarında apoptoz azalmış ($p<0.001$) ve etil alkol grubuna kıyasla daha yüksek bir pozitif hücre oluşumu gözlemlenmiştir ($p<0.001$). Özellikle AEE-500 mg/kg uygulanan gruplarda IL-6, IL-1 β seviyelerinin etil alkol grubuna göre önemli derecede azalmıştır.

Çalışma sonunda biyokimyasal ve histopatolojik veriler değerlendirildiğinde *Abelmoschus esculentus* L. ekstraktının (AEE) etil alkolle indüklenen gastrik hasar üzerine gastroprotektif bir etkiye sahip olduğu kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Gastroprotektif, mide ülseri, immünohistokimya, ülser indeksi, ülser inhibisyonu

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ANTI-ULCER EFFECT OF *ABELMOSCHUS ESCULENTUS* L. ON ACUTE GASTRIC MUCOSAL INJURY

Deniz ORTAÇ

Department of BioEngineering

Phd. Thesis

Adviser: Prof. Dr. Musa TÜRKER

Abelmoschus esculentus L. (Malvaceae), is a medicinal plant widely used in Turkish traditional medicine for the treatment of various diseases such as ulcers and gastritis.

In the present study, we evaluated the gastroprotective effect of *Abelmoschus esculentus* L. extract (AEE) against ethanol-induced acute gastric mucosal injury in animal models. Wistar rats were administered with 500, 250 or 100mg/kg AEE; 20mg/kg famotidine (Fam); and 75 mg/kg quercetin (Que). Following a 60 min period, all the rats were given 1mL of ethanol (80%). One hour after the administration of ethanol, all groups were sacrificed.

The area of stomach tissue and gross lesions were approximately calculated. The results were translated to the term of “total ulcer area/total gastric area” and these were expressed as an ulcer index. Malondialdehyde (MDA) which is sign of oxidative stress and reduced glutathione (GSH) levels were measured in whole blood; ascorbic acid, β -carotene and retinol which is prove antioxidant property levels were measured in serum. Superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) were measured in erythrocytes. Mucosal edema, hemorrhage, inflammation, epithelial cell erosion and interleukins (IL-6, IL-1 β) were evaluated in gastric tissue sections. Bioelement levels were examined in homogenized tissues.

Up to at 5000 mg/kg, the extract produced (AEE) no sign of toxicity in animals. AEE-500, 250, 100, Fam-20 and Que-75 inhibited ulcer formation by 81.0, 67.5, 67.0, 76.3 and 72.4%, respectively.

The oxidant levels decreased significantly in the all study groups compared within ethanol group ($p<0.001$). Serum β -carotene and retinol levels significantly increased 40.2 and 45.4% in AEE-500 group.

The level of GPx is highest in AEE-500 mg/kg group, and this value is close to the sham group. When SOD values were compared, the groups administered with AEE-100 and 500 mg/kg were higher than the ethanol group ($p<0.001$ and $p<0.01$). When CAT results were evaluated, the values of AEE-250 and 500 mg/kg groups were statistically significant compared to the ethanol group ($p<0.01$). In parallel with the antioxidant enzymes, the Cu, Zn, Fe, Se and Ca bioelements are significantly increased when compared with the ethanol group.

AEE-500 significantly decreased edema, hemorrhage and inflammation scores compared with ethanol group ($p<0.05$). In AEE-500, 250 and Fam-20 groups, apoptosis significantly decreased ($p<0.001$), while AEE-500, 250 and Fam-20 groups showed a higher percentage of cell proliferation compared with ethanol group ($p<0.001$). Particularly in groups administered with AEE-500 mg/kg, IL-6 and IL-1 β levels were significantly reduced compared to the ethanol group.

Our *in vivo* data indicate that *Abelmoschus esculentus* L. extract (AEE) has a gastroprotective effect against ethanol and could reduce the gastric ulcer as seen from biochemical and histopathological results. We suggest that *Abelmoschus esculentus* L. extract (AEE) could be a possible therapeutic antiulcer agent.

Keywords: Gastroprotection, gastric ulcer, immunohistochemistry, ulcer index, ulcer inhibition

1.1 Literatür Özeti

Non steroid antienflamatuvar ilaçların, alkol tüketimi veya sigara içimi, beslenme yetersizlikleri, *Helicobacter pylori* enfeksiyonu ve stresli yaşam tarzı nedeniyle gastrik ülser dünya çapında halen önemli bir sağlık problemidir. Ülser düzgün bir şekilde tedavi edilmezse, kanama ve midenin delinmesi gibi ciddi komplikasyonlar ortaya çıkabilir.

Proton pompa inhibitörleri ve çoklu antibiyotik kombinasyonları, ciddi yan etkilerine rağmen en güncel tedavilerdir ve hastalar için yüksek bir maliyet oluştururlar [1-5]. Bununla birlikte, yeni antiülser ilaçların geliştirilmesi için araştırmalar şu temel nedenlerden dolayı gereklidir; 1-Halen mevcut olan ilaçların sunduğu önemli yan etkilerin çeşitliliği vardır [6], 2-Birkaç ilaç-ilaç etkileşimi mevcuttur [7], 3-tedaviden sonra hastalarda sık ülser nüksetmesi görülmüştür [8]. Buna göre, doğal ürünler gastrik ülserin potansiyel yeni tedavileri için cazip kaynaklar olarak kabul edilir.

Etil alkol, insanlarda ve deney hayvanlarında sıklıkla ülserojenik bir madde olarak kullanılır ve mide mukozasına ciddi gastrik hemorajik lezyonlarla hasar verir [2,5]. Bu nedenle, etil alkol kaynaklı gastrik mukozal hasarın deneysel bir modeli sıklıkla kullanılır. Etil alkol, alkol dehidrojenazları ile asetaldehide metabolize edilir, daha sonra asetik aside metabolize olur. Asetik asit aynı zamanda mide gibi canlı dokular üzerinde toksik etkilere sahiptir. Mide duvarındaki mukus salgısı, gastrointestinal mukozayı toksinlerden koruyan önemli bir savunma bariyeridir [3, 5, 9].

Tıbbi bitkiler, besinlerde biyoaktif yeni moleküllerin önemli kaynakları gibi düşünülmektedir. Birçok ülkede tıbbi amaçlı birçok bitki kullanılmaktadır ve pek çok

hastalığın tedavisinde geleneksel bitki tedavi yöntemleri halen insanlar arasında popülerdir. Bu nedenle, araştırmacılar tarafından doğal kaynaklardan yeni anti-ülser ajanları ekstraksiyonu üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır [1,2,4,5,9]. Aşağıda yapılan bazı çalışmalar bulunmaktadır.

Parkia speciosa ethanolic extract'ın etil alkolün gastrik GSH düzeyleri üzerindeki negatif etkilerini önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir. Gastrik GSH düzeyi 400 mg/kg doz için en yüksek ve 50 mg/kg doz için en düşük seviyede ve ülser kontrol grubunda GSH düzeyi azalmıştır [10]. Önceden yayınlanmış makaleler gastrik GSH düzeyleri ile ülser şiddeti arasında önemli bir ilişki olduğunu göstermektedir. GSH ve GSH ile ilişkili enzimler antioksidan özelliklerine bağlı olarak önemli doku koruyucu ajanlar olarak bilinmektedir [11,12].

Oroksilum indicum (Bignoniaceae) kök kabuğunun hazırlanan alkol ekstraktı, petrol eteri, kloroform, etil asetat ve n-bütanol ekstraktları etil alkol ve pilorik ligasyondan kaynaklanan gastrik mukozal hasara karşı incelenmiştir. Sonuç olarak, petrol eteri (% 96) ve n- utanol (% 99) fraksiyonları etil alkol kaynaklı gastrik mukozal hasara karşı gastrik lezyonların maksimum inhibisyonu göstermiştir [13].

Birdane et al. (2007)'nın yaptığı çalışmada *Foeniculum vulgare* ekstraktı, sıçanlarda etil alkol kaynaklı gastrik lezyonlar üzerinde incelenmiştir. *F. vulgare* lipid peroksidasyonunu azalttı ve enzimatik olmayan antioksidan miktarını arttırmıştır. *F. vulgare*'in antioksidan özelliklerinin etil alkol kaynaklı gastrik lezyonları azalttığı belirtilmiştir [14].

V.condensata bitkisinden elde edilen ham etil alkolik ekstraktının gastroprotektif etkisini ve mide iyileştirici özelliklerinin değerlendirildiği bir çalışmada; *V.condensata* ekstraktının, kolinerjik ve gastrinerjik yollarla gastrik sekresyonu inhibe etmiştir. Bu bitkinin mide lezyonlarının önlenmesi ve tedavisi için doğal bir kaynak olabileceği vurgulanmıştır [15].

Farzaei ve ark. (2015)'nin, *Phyllanthus emblica* (Euphorbiaceae) ekstraktının galik asidinin, deneysel olarak ülserlerde gastroprotektör olarak etkili olduğunu ve etkisinin, iNOS'a spesifik bir inhibitör olan eNOS'u kullanmasından kaynaklandığını belirtmiştir [16].

Shimoyama ve ark. (2013), gastrik ülser modelinde klorojenik asit ile tedavi edilen hayvanlarda CAT'ın seviyelerini değerlendirmişlerdir [17]. Diğer çalışmalar da ise, *Euphorbia milli* (200 ve 400 g/kg) ve *Euphorbia prostrata* (60, 120 ve 240 mg/kg) tedavilerinden sonra CAT aktivitesinin arttığını bildirilmiştir [18,19].

Chang ve ark. (2015)'ı salidrosidein gastrik hasar üzerine etkisini incelediği çalışmada interlökin (IL-6), interlökin (IL-1 β) ve tümör nekroz faktörü (TNF- α)'nın yanı sıra miyeloperoksidaz (MPO), malondialdehit (MDA) ve süperoksit dismutaz (SOD) markerlarını da analiz etmişlerdir. Analizler sonucunda salidrosidein pro-inflamatuvar sitokinlerin fazla üretimini ve artmış antioksidan aktiviteyi inhibe ettiğini göstermişlerdir. Ayrıca salidrosidein etil alkol ile indüklenen akut gastrik ülser ve H₂O₂ ile oluşturulan mide epitel hücresi hasarını MAPK/NF- κ B yolu ile hafifletebileceği varsayılmıştır [20].

Zingiber officinale (Zingiberaceae) rhizome sulu ekstraktının ülseri önleyici özelliği sıçanlarda etil alkol stres kaynaklı ülser üzerine değerlendirilmiştir. İlaç kullanan sıçanların normal seviyeleri gösterdiği halde, ülserle ilgili sıçanlarda artmış H⁺, K⁺ -ATPaz aktivitesi ve tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS) gözlemlenmiştir. İlaç tedavisinden sonra gastrik münhası hasarı, yüzme stresinde ve etil alkol stresinde sırasıyla % 77 ve % 74'e kadar çıkmıştır. Çalışma zencefil sulu özütünün mide mukozasını stres kaynaklı mukozal lezyonlardan koruyabildiğini ve muhtemelen H⁺, K⁺ -ATPaz aktivitesini bloke ederek, *Helicobacter pylori* büyümesini inhibe edip antioksidan koruma sağladığını göstermiştir. Ekstraktın bileşimi, sinamik (% 50) ve gallik (% 46) fenolik asitlerden oluşmuştur. Cinnamik asit antioksidan aktiviteye önemli katkıda bulunurken, galik asit H⁺, K⁺ -ATPase ve *Helicobacter pylori* inhibisyonuna neden olduğu belirtilmiştir [21].

Ficus arnottiana (Moraceae) yaprak metil alkolik ekstraktının antiülser aktivitesi etil alkol ile indüklenen rat modelinde incelenmiştir. *F. arnottiana* yaprak metil alkolik ekstraktı, etil alkol ile indüklenen ülser oluşumunu belirgin bir şekilde inhibe etmiştir. Histolojik analizler sonucunda da mukozal lezyonların ve submukozal ödemin önleendiği gösterilmiştir [22].

Olea europaea'nın (Oleaceae) anti-ülser aktivitesi, etil alkolle indüklenen mide mukozal

hasarı üzerine etkisi araştırıldığı çalışmada, zeytin yaprağı özütü, etil alkol ile indüklenen mide hasarında belirgin bir iyileştirmeye neden olmuş ve iyi bir gastroprotektif aktivite göstermiştir [23].

1.2 Tezin Amacı

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda ülser oluşumunda rol oynayan *Helicobacter pylori* ile *Abelmoschus esculentus* L. ekstraktlarının etkileşime girme özelliği *in vitro* olarak incelenmiştir. *Abelmoschus esculentus*'nın *in vitro* anti-yapışma etkisine sahip olduğunu ve *Helicobacter pylori* ile etkileşime girdiği bildirilmiştir. *Abelmoschus esculentus* L.'nin bu anti yapışkan özelliklerinin, glikoproteinler ve yüksek asidik şeker bileşikleri kombinasyonundan kaynaklandığı varsayılmıştır [24]. Bir başka çalışmada, *Abelmoschus esculentus* L. tohumuyla tedavi edilen sıçanlarda gastrik mukus salgılama seviyeleri rapor edilmiştir. Bu çalışmaya göre, *Abelmoschus esculentus* L. gastrik mukus salgılama miktarını arttırmıştır [25]. Çalışmamızda *Abelmoschus esculentus* L.'nin potansiyel anti-ülser aktivitesini belirleyebilmek için biyokimyasal (oksidan ve antioksidan), mikroelement, histopatolojik (mukozal ödem, kanama, inflamasyon, mukoza dokusunun epitel erozyonu, hücre proliferasyonu) ve immünokimyasal (PCNA, IL-1 β , IL-6) analizlerin yapılması amaçlanmıştır.

1.3 Hipotez

Ülser dünya genelinde insanları etkileyen bir hastalıktır. Hastalığın tedavisi için birçok çalışma yapılmasına rağmen tedavi yöntemlerinin yan etkilerinden dolayı henüz etkin bir tedavi yöntemi geliştirilememiştir. *Abelmoschus esculentus* L. geleneksel Türk tıbbında ülser ve gastrit gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan tıbbi bir bitkidir. Bizim çalışmamız ise *Abelmoschus esculentus* L. ekstraktının (AEE) antiülser etkisini *in vivo* olarak inceleyen çalışma olup, ülser indeksi, gastrik ülser inhibisyonu, potansiyel anti-ülser aktivitesi, doku mikroelement seviyeleri, mukozal ödem, kanama, inflamasyon, mukoza dokusunun epitel erozyonu, hücre proliferasyonu ve apoptoz üzerine yapılan deneysel çalışmalarla *Abelmoschus esculentus* L.'nin anti-ülser aktivitesini çok yönlü olarak ortaya konulmuştur.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1 Peptik Ülser

Peptik ülser, gastrointestinal sistemdeki savunma ve saldırgan faktörler arasındaki biyolojik dengenin bozulduğu patolojik bir koşula bağlı olarak ortaya çıkar. Gastrik hidroklorik asit, pepsin, reaktif serbest radikaller ve oksidanlar, lökotrienler, reflü safra ve endotelinler ana endojen saldırgan faktörler arasındadır [26,27]. Ek olarak, gastrik mukus bariyeri, bikarbonat, mukozal kan akımı, yüzey aktif fosfolipitler, prostaglandinler (PG), nitrik oksit (NO), enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma faktörleri olarak düşünülür [26-28].

Peptik ülserlerin kesin patogenezi açık değildir, fakat steroid olmayan anti-inflamatuvar ilaçlar (NSAID) ve kortikosteroidlerin tüketimi, stresli yaşam tarzı, alkol tüketimi, *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) enfeksiyonu, sigara kullanımı ve aile öyküsü dâhil olmak üzere çeşitli faktörler peptik ülser patogenezinde risk faktörleri olarak kabul edilmektedir [29,30]

2.1.1 Mide mukusu

Mide mukozal tabakaları gastrik hücrelerin dışı ya da endojen kökenli çeşitli zararlı etkenlere maruz kalmasını kısıtlayan bir bariyer görevi görür. Mukus üretiminin artması, zarar görmüş dokuyu zararlı ilaçlar ve oksidanlar gibi çeşitli saldırganlara karşı koruyarak ülser iyileşmesinde merkezi bir faktör olarak kabul edilebilir. Aslında, mukusun salgılanması, yeniden epitelleştirme başlatılmasının altında bir mukoid

örtüsünün oluşturulması yoluyla akut hasardan sonra epitel geri kazanımının iyileştirilmesinde belirgin bir katkıda bulunur. Ek olarak, tamponlama kapasitesinin oluşumu ve luminal asidin nötrleştirilmesi mide mukusunun temel fizyolojik fonksiyonlarından [31,32].

2.1.2 NSAID

NSAID kaynaklı peptik ülser, herhangi bir sentetik ilaç tedavisinin en ciddi komplikasyonudur [33]. NSAID'ler tarafından indüklenen ülserasyonun, siklooksijenaz (COX) bağımlı yolağının bastırılması ve daha sonra PG sentezinin bloke edilmesiyle aracı olduğu bilinmektedir. Lökosit-endotel etkileşimi, nötrofiller infiltrasyon, sitokin dengesizliği ve oksidatif mukozal stres gibi farklı faktörler, NSAİİ'ler tarafından başlatılan gastrik mukozal hasarın patogeneze katkıda bulunur. Hücre yapışma molekülleri (CAM) ve hücrelerarası adezyon molekülü (ICAM-1) de dahil olmak üzere adezyon moleküllerinin aktivasyonu nötrofil infiltrasyon ile ilişkilidir [34-37].

2.1.3 *Helicobacter pylori*

Mide mukozasının *H. pylori* ile kronik olarak enfeksiyonu genellikle gastrik lezyonlarla ilişkilidir. *H. pylori*, bazı gelişmekte olan ülkelerde % 90 insidansına sahip yaygın bir insan patojendir. *H. pylori*, popülasyonun yaklaşık % 70'inde asemptomatik mide kolonizasyonu geçirir ve peptik ülser oluşumunda % 10-20'lik bir duyarlılık olur. *H. pylori* kaynaklı gastritin patogenezi ve paterni, mukozal atrofi ve duodenal / gastrik ülser morbiditesi ile yoğun bir şekilde ilişkilidir. Enfekte hastaların gastrik mukozasından *H. pylori*'nin ortadan kaldırılması, *H. pylori* ilişkili gastritin ve bunun sonucunda ortaya çıkan ülserlerin komplet remisyonu için en iyi terapötik yaklaşım olarak düşünülmektedir [38,39].

H. pylori enfeksiyonu, gastrik epitel hücrelerinde nötrofil-aktive edici (anti-inflamatuvar) sitokinlerin (örn. Interlökin (IL) -1 β , IL-6, tümör nekroz faktörü (TNF) - α ve IL-8) aşırı ekspresyonunu uyarır kemokinler ve lökosit infiltrasyonuna yol açar. *H. pylori* ile ilişkili IL-8 aktivasyonunun ROS oluşumuna bağlı olarak rahatsız edici mukozal bütünlüğün yanı sıra proteolitik enzimlerin aktivasyonu ile sonuçlanması mümkündür [40]. *H. pylori* ile ilişkili hastalığın şiddetinde, edinme yaşı, konukçu bağışıklık sistemi ve

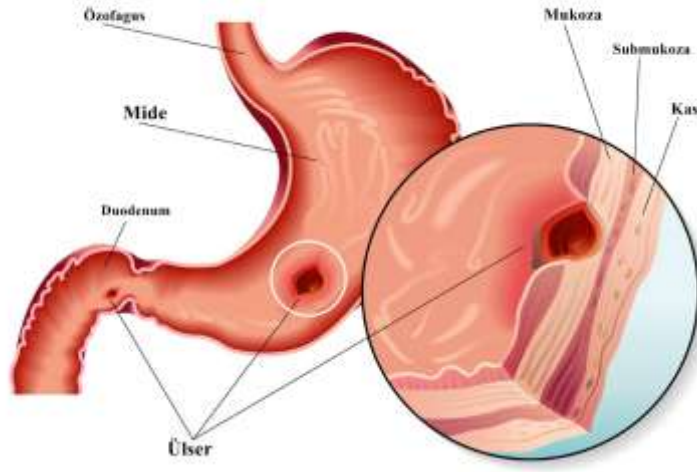
bakteri türü gibi çeşitli faktörler yer alır. Cag-PAI'yi (Cag Patojenisite Adası) taşıyan H. pylori suşları, Cag-negatif olanlardan daha güçlü, iltihaplı ve kemoatraktan tepki gösterir. Cag pozitif suşların bu erken ve şiddetli tepkisi, protein-1'in yanı sıra nükleer transkripsiyonel faktörleri [örneğin, nükleer faktör (NF) -kB] aktive ederek aracılık etmektedir [38,41,42].

2.1.4 Stres

Stres, gastroduodenal ülserasyonun etyopatolojisinde önemli bir rol oynamaktadır. Stres mide motilitesinde, vagal aşırı aktiviteye, mast hücre degranülasyonuna, gastrik mukozal kan akışında azalmaya ve prostaglandin sentezinde ülserlere neden olur. Stres muhtemelen artmış asit salınımı ve azalmış mukus üretimi ile histamin salınması ile ülserasyon üretir [43,44]. Peptik ülser, 'A' ve 'B' kan gruplarına kıyasla 'O' kan grubuna sahip kişilerde daha yüksektir [45].

2.1.5 Beslenme faktörleri

Peptik ülserasyonda çeşitli diyet faktörleri de bulunmaktadır. Kafein midede asit salınımını uyarır ve mevcut bir ülseri ağırlaştırır. Ülserler ağır alkol tüketimiyle bağlantılı karaciğer sirozu olan insanlarda yaygındır. Gastrik ülser oluşumu ile tuz tüketiminin miktarı önemlidir. Daha fazla tuz tüketimi, deney hayvanlarının gastritini indüklemiştir [46,47]. Sigara içmek mevcut ülseri iyileştirmeyi yavaşlatır ve ülsere tekrarlama ihtimalini arttırır [48,49].



Şekil 2.1 Ülser oluşumu

2.2 Oksidan ve Antioksidan Sistem

2.3 Oksidan Moleküllerin Kaynakları

Serbest radikaller, bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içeren moleküller veya moleküler fragmanlar olarak tanımlanabilir. Eşleşmeyen elektronların varlığı genellikle bir serbest radikal üzerinde önemli bir reaktivite derecesi verir. Oksijenden türetilen radikaller, canlı sistemlerde üretilen bu türlerin en önemli sınıfını temsil eder [50].

ROS (Reactive oxygen species) hem endojen hem de eksojen kaynaklı maddelerden üretilir. Potansiyel endojen kaynaklar, mitokondri, sitokrom P450 metabolizması, peroksizomlar ve inflamatuvar hücre aktivasyonudur [51]. Mitokondriyanın uzun süredir yeterli miktarda hidrojen peroksit ürettiği bilinmektedir. Hidrojen peroksit molekülü eşleşmemiş bir elektron içermez ve dolayısıyla radikal bir tür değildir. Fizyolojik koşullar altında, hidrojen peroksit üretiminin, organizmanın toplam oksijen alımı miktarının ~% 2'sini oluşturduğu tahmin edilmektedir. Bununla birlikte, bozulmamış mitokondrilerde süperoksit radikalının oluşumunun saptanması büyük olasılıkla orada yüksek SOD aktivitesinin varlığı nedeniyle zordur. Süperoksit radikalının mitokondriyum tarafından üretilmesi ilk olarak 30 yıl önce bildirilmiştir [52].

Mitokondri serbest radikal üretiminin ana alanı olduğundan, oksidatif stresi en aza indirmek için zarlarının her iki yanı antioksidan enzimlerle süperoksit dismutaz (SOD)

ve glutatyon peroksidaz (GPx) zenginleştirilmiştir [53]. Mitokondriyal iç zarların her iki tarafında oluşan süperoksit radikalleri başlangıçta hidrojen peroksit ve ardından Cu, Zn-SOD ile etkili bir şekilde detoksifikasyona tabi tutulmuştur. Mitokondri dışında memelilerin çeşitli dokularında yaygın olarak çok yönlü bir enzim olan xanthine oxidase (XO) gibi radikal kaynakları da bulunmaktadır. Xanthine oxidase, oksijensiz radikallerin önemli bir kaynağıdır [54].

Hücrel reaktif oksijen türlerinin ek endojen kaynakları nötrofiller, eozinofiller ve makrofajlardır. Aktif makrofajlar, süperoksit anyon, nitrik oksit ve hidrojen peroksit gibi çeşitli reaktif oksijen türlerine yol açan oksijen alımında artışa neden olur [55].

Buna ek olarak, mikrozomlar ve peroksizomlar ROS kaynaklarıdır. Mikrozomlar, hiperoksi alanlarında in vivo üretilen % 80 H_2O_2 konsantrasyonundan sorumludur [56]. Fizyolojik koşullar altında, peroksizomların H_2O_2 ürettiği ancak $O_2^{\bullet}$ üretmediği bilinmektedir. Karaciğer, genel H_2O_2 üretimine peroksizomal katkının önemli olduğu birincil organ olmasına rağmen, peroksizom içeren diğer organlar da bu H_2O_2 üreten mekanizmalara maruz kalmaktadır [57].

Reaktif oksijen türleri, bir dizi dışsal süreçle üretilir. Genotoksik olmayan kanserojenler dâhil çevre ajanları, hücrelerde doğrudan veya dolaylı olarak reaktif oksijen türetebilir. Çeşitli ksenobiyotiklere maruz kaldıktan sonra oksidatif stresin ve hasarın indüksiyonu gözlenmiştir. Bunlar klorlu bileşikler, metal (redoks ve redoks olmayan) iyonlar, radyasyon ve barbitüratlar içerir. Örneğin, 2- utoksietil alkolün farelerde kansere neden olan ROS ürettiği bilinmektedir [58].

2.3.1 Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

ROS'un üretilmesi ve ortadan kaldırılmasının yakından ilişkili olduğu açıktır. Canlı organizmalar, çok düşük ROS seviyelerini muhafaza etmek için ince ayarlanmış sistemlere sahiptirler. ROS üretimi ve eliminasyonu, belirli kararlı hal seviyelerinde dengelenmektedir. Bununla birlikte, belirli koşullar altında bu denge bozulabilir. Bunun birkaç nedeni vardır:

(i) ROS üretimi ile birlikte, otomatik oksidasyona giren artmış endojen ve eksojen bileşik seviyesi;

(ii) Düşük molekül ağırlıklı antioksidan rezervlerinin tükenmesi

(iii) Antioksidan enzimlerin inaktivasyonu

(iv) Antioksidan enzimlerin ve düşük molekül ağırlıklı antioksidanların üretiminde azalma

(v) Yukarıdaki faktörlerin iki veya daha fazlasının belirli kombinasyonları

ROS üretim ve eliminasyon işlemleri arasındaki dengesizlikten kaynaklanan durum canlı süreçlerinin birçoğunu etkileyebilir. ROS seviyesindeki artış bazı oksidanları artışıyla ilgili bir durum ise yeterli miktarda antioksidan bulunduğundan oluşan ROS'lar nötralize edilebilmektedir. Bu olaylar "akut oksidatif stres" olarak tanımlanır. Bu durumda, oksidatif stres geliştirmek için ROS düzeyinin artırılması yeterli değildir. Oksidatif stresin oluşabilmesi için daha spesifik fizyolojik sonuçların ortaya çıkması gerekmektedir. Genellikle böyle sistemlerde SOD, katalaz, glutatyon redüktaz gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonu artırılmıştır [59-62].

Bazı durumlarda, hücre gelişmiş ROS miktarlarını nötralize edemez ve ROS seviyesini ilk duruma geri döndüremez. Antioksidan ve ilgili enzimlerin artması bile oluşan ROS'ları nötralize edemez. Bu durumda sadece ROS seviyesi stabilize edilebilir. Fakat bu durum farklı hücresel bileşenlerin modifikasyonunu arttırarak homeostaza neden olur. Bu durum "kronik oksidatif stres" olarak tanımlanır [61,62].

Son olarak, oksidatif olaylardan sonra veya organizmaların fizyolojik durumunun değişmesinden dolayı ROS seviyesi, ilk duruma geri dönmeyebilir ve stabilize edilemez. Bu durum "kuasistasyonel düzey" olarak adlandırılmaktadır [61,62]. Bu durumda, ROS'u içeren bütün homeostazın önemli ölçüde yeniden düzenlenmesi gerekiyor. Kanser [63], diabetes mellitus [64,65], kardiyovasküler [66,67] ve nörodejeneratif [68-70] hastalıklar gibi çeşitli patolojiler kronik oksidatif stresin bir göstergesidir.

Günümüzde stres şu şekilde tanımlanmaktadır: "Oksidatif stres, kararlı haldeki ROS konsantrasyonu geçici veya kronik olarak arttırıldığında, hücresel metabolizmayı bozan, regülasyonunu ve hücresel unsurları tahrip eden bir durumdur" [62].

Oksidatif stres, ROS üretimini uyaran ya da antioksidan savunmayı zayıflatan oksidanlar ve bileşikler tarafından da inüklenebilir. Harici oksijen seviyesinin artmasının potansiyel doku yaralanması, iskemi / reperfüzyon ve hipoksiye bağlı oksidatif strese neden olup biyolojik sistemleri etkileyebilir ve biyolojik sistemleri benzer şekilde etkileyebilir [71-77].

Sonuç olarak, oksidatif olaylar sonucunda organizmalar akut veya kronik oksidatif strese maruz kalabilir. Çoğu durumda, bu gibi olayların gelişimi, canlı organizmaların savunma sistemlerini geliştirmiş ROS seviyelerine ayarlama sistemlerine bağlıdır. Bu sistemler genellikle antioksidan ve bunlarla ilişkili enzimleri kodlayan spesifik genlerin ekspresyon seviyesinde veya antioksidanlar üretiminden sorumlu enzimlerle çalışırlar [78].

2.3.2 Serbest Oksijen Radikalleri

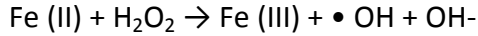
2.3.2.1 Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Metabolik süreçler ya da fiziksel radyasyon ile oksijen "aktivasyonu" takiben ortaya çıkan süperoksit anyon, "birincil" ROS olarak düşünülür ve doğrudan ya da yaygın olarak enzim ya da metal-bazlı reaktiflerle "ikincil" ROS oluşturmak için diğer moleküller ile etkileşebilir [79]. Süperoksit radikal iyonu doğrudan polipeptitler, şekerler veya nükleik asitler ile reaksiyona girmez ve lipidleri peroksidize etme kabiliyeti tartışmalıdır. Süperoksit, bozma reaksiyonu nedeniyle tükenmiştir [80]:

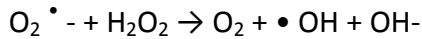


SOD enzimleri, biyolojik sistemlerde bu reaksiyonu dört basamak kadar hızlandırır. SOD enzimlerinin, katalazlar ve glutatyon peroksidazları gibi H_2O_2 çıkaran enzimlerle birlikte çalıştığı kaydedilmelidir [81]. Çeşitli serbest radikallerin üretimi, redoks-aktif metallerin katılımıyla yakından ilişkilidir [82]. Hücrenin redoks durumu büyük oranda bir demir (ve bazen de bakır) redoks çiftiyle bağlantılıdır ve sıkı fizyolojik sınırlar içerisinde korunmaktadır. Demir düzenlemesinin, serbest hücre içi demir olmadığından emin olduğu ileri sürülmüştür; Bununla birlikte, canlı ortamda, stres koşulları altında aşırı miktarda süperoksit, demir içeren moleküllerden "serbest demir" salınır. Süperoksit ile

demirin salınımı, dehidrataz-liyaz ailesinin [4Fe-4S] küme içeren enzimler için gösterilmiştir [83]. Serbest bırakılmış Fe (II), yüksek ölçüde reaktif hidroksil radikali üreten Fenton reaksiyonuna katılabilir.



Stres koşulları altında $\text{O}_2^{\bullet -}$ [4Fe-4S] küme içeren enzimlerin bir oksidanı olarak davranır ve Fe (II) 'yi Fenton reaksiyonu için kullanılabilir hale getirerek H_2O_2 'den OH üretimini kolaylaştırır [84-87]. Süperoksit radikali, Haber-Weiss reaksiyonuna katılır [87].



2.3.2.2 Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

H_2O_2 'nin doğrudan biyolojik reaktivitesi oldukça az olmakla birlikte, *in vivo* konsantrasyonlar çok düşük tutulur. Yüklü süperoksit anyonunun aksine, H_2O_2 membranlara bir miktar nüfuz edebilir. Bu penetrasyon, hücre sel su kanalları, sukroklorlar (AQP) tarafından zenginleştirilir. Su ile olan yakın ilişkisi nedeniyle, H_2O_2 , AQP3 ve AQP8 gibi AQP'ler vasıtasıyla hücre zarlarını difüzyona kıyasla daha hızlı geçerek kolayca hücrelere girebilirler [88,89].

H_2O_2 , çok daha reaktif bir tür olan hidroksil radikali oluşturmak için geçiş metallerinden, esas olarak Cu^+ ve Fe_2^{+} 'den elektron alabilmektedir. Hidroksil radikali en reaktif oksijen türüdür. Biyolojik sistemlerde yaklaşık bir nanosaniyelik bir yarılanma ömrüne sahiptir ve difüzyona sınırlı oranlarda organik moleküller ile ayırım gözetmeden tepki gösterir [90]. Spesifik olarak, biyolojik sistemlerde radikal temizleyicilerin konsantrasyonları, başlangıçtaki reaksiyonları yarıya kadar inhibe etmek için tüm mevcut biyolojik moleküllerin konsantrasyonlarına eşit olması gerekir. Genel olarak, spintrapping çalışmaları, hidroksil radikallerinin biyolojik sistemlerde oluştuğunu göstermiştir ancak spesifik yaralanma şekillerinde belirsizlik devam etmektedir [90].

2.3.2.3 Hidroksil Radikali ($\bullet \text{OH}$)

Hidroksil radikali, 1 ns'den daha az sulu solüsyonda yarı ömrü ile oldukça reaktiftir [91]. Dolayısıyla, canlı ortamda üretildiğinde, oluşum yerine yakın tepki verir. Çeşitli mekanizmalar yoluyla üretilebilir. İyonize radyasyon H_2O 'nun ayrışmasına neden olur.

OH ve hidrojen atomlarının oluşmasına neden olur. •OH ayrıca alkil hidroperoksitlerin fotolitik ayrışmasıyla üretilir. DNA'ya yakın OH• üretilmesi, DNA bazlarıyla ya da DNA'nın deoksiribozil omurgasıyla radikal reaksiyona girerek hasar görmüş bazlar meydana getirebilir. •OH ile kırılan DNA ipliğinin boyutunun, DNA omurgasının hidrojen atomlarının erişilebilir yüzey alanları tarafından yönetilmesi önerilmektedir.

Yukarıda belirtildiği gibi, *in vivo* üretilen hidroksil radikallerinin çoğunluğu, Fenton reaksiyonuna göre hidrojen peroksitin metal katalizli parçalanmasından oluşmaktadır [92].

Fenton reaksiyonuna göre hidroksil radikalının en gerçekçi *in vivo* üretimi, Mn^{+} 'nın demir, bakır, krom, kobalt ve bazı diğer metaller olduğunda ortaya çıkar. Bununla birlikte, O'Halloran ve arkadaşları son zamanlarda bakırdan "serbest havuz" olarak adlandırılan üst sınırın, hücre başına tek bir atomdan çok daha az olduğunu bildirdiler [93].

Fenton kimyasının *in vitro* ortamda oluştuğu bilinmesine rağmen, fizyolojik koşullar altındaki önemi net değildir, çeşitli metal bağlayıcı proteinlerin etkili bir şekilde kenetlenmesinden ötürü özellikle "serbest katalitik demir" in önemsiz seviyede olduğunu belirtmektedir [94]. Sitrat, fosfat, karboksilatlar, nükleotidler ve diğerleri gibi şelatlayıcılarla şelatlanmış demir iyonlarının her ikisinden (Fe (II) ve Fe (III)) oluşur [95].

2.3.2.4 Singlet Oksijen (1O_2)

İki eşleşmemiş elektrona sahip, üçlü oksijen spin kısıtlaması nedeniyle reaktiftir. Eşlenmemiş iki elektrondan birinin spinini değiştirmek için yeterli enerjinin eklenmesi, bu spin kısıtlamasını ortadan kaldırır ve singlet oksijen (1O_2) adı verilen farklı enerji seviyelerinde iki reaktif formu üretir. Bu formlardan - " singlet oksijen sigması " - kısa ömürlüdür ve biyolojik bir ortamda alakalı olma olasılığı düşüktür. Buna karşılık, sulu bir ortamda mikro saniye yarı ömrü ile daha kararlı "singlet delta" formunun oluşumu, biyolojik sistemlerde saptanabilmektedir [96].

Singlet oksijen lipid hidroperoksitlerin ayrışması ve nötrofillerin uyarılmasını takiben reaksiyonlar yoluyla lipid peroksidasyonu sırasında meydana gelebildiği ve çok sayıda biyolojik molekülü kolayca okside edebildiği için önemli kabul edilmiştir [97-99].

Bununla birlikte, UV ışınına maruz kalan bölgelerde 10^{21} 'nin in vivo, özellikle de fotokimyasal olarak oluştuğu ve UV radyasyonunun advers etkilerine aracılık edebileceğine dair önemli kanıtlar bulunmaktadır [99]. Enerji eklenmesine ilaveten, oksijenin reaktivitesi üzerindeki spin kısıtlaması kısmen indirgenmiş türlerin oluşturulmasıyla da ortadan kaldırılabılır. Bir, iki ve üç numaralı oksijen, sırasıyla O^2 , H_2O_2 ve hidroksil radikali biyolojik sistemler tarafından üretilmektedir [99].

2.3.2.5 Azot Oksit Bileşikleri (NOx)

Nitrik oksit ($NO\bullet$), nörotransmisyon, kan basıncı regülasyonu, savunma mekanizmaları, düz kas gevşemesi ve immün regülasyon gibi çok çeşitli fizyolojik süreçlerde önemli bir oksidatif biyolojik sinyal molekülü olarak görev yapan bol miktarda bir reaktif radikaldir [100-104]. Bu küçük molekül, antioksidan 2π * y orbitalinde eşlenmemiş bir elektron içerir ve bu nedenle bir radikaldir. $NO\bullet$ biyolojik dokularda, beş elektronlu bir oksidatif reaksiyon yoluyla NO (Nitrik oksit) oluşumu ile argininin sitrulin'e metabolize olan spesifik nitrik oksit sintazlar (NOS) tarafından üretilir [105].

Reaktif azot türlerinin aşırı üretimi, nitrosatif stres olarak adlandırılır [106]. Bu, bir sistemdeki reaktif azot türlerinin üretilmesi, sistemin onları nötralize etme ve yok etme yeteneğini aştığı zaman meydana gelebilir. Nitrosentik stres, proteinlerin yapısını değiştirebilen ve normal işlevlerini engelleyebilen nitrosilasyon reaksiyonlarına neden olabilir. $NO\bullet$ sulu ortamda yalnızca birkaç saniye yarı ömrü vardır [107].

$NO\bullet$ daha düşük oksijen konsantrasyonuna sahip bir ortamda (yarılanma ömrü > 15 s) daha fazla kararlılığa sahiptir. Bununla birlikte, hem sulu hem de lipid ortamda çözünür olduğu için, sitoplazma ve plazma membranlarından kolayca yayılır. $NO\bullet$ merkezi sinir sisteminde sinaptik plastisitenin yanı sıra nöronal iletimi de etkiler. Hücre dışı ortamda, $NO\bullet$ nitrat ve nitrit anyonları oluşturmak için oksijen ve su ile reaksiyona girer [108].

2.3.3 Oksijen Türevi Olmayan Serbest Radikaller

Biyolojik sistemlerde oksijen prevalansı, oksijen merkezli radikallerin en sık görülen tip olduğu anlamına gelir. Bununla birlikte, organik moleküller serbest radikal olarak var olabilen diğer atomları içerirler ve bunlar da doku hasarında rol oynayabilir. Örneğin,

sülfür merkezli tiyil radikalleri (RS), GSH gibi endojen tiol bileşiklerinden ve proteinlerde disülfür bağlarının homolitik bölünmesinden sonra oluşturulabilir. Bu radikaller oldukça reaktif olup, moleküler oksijen ile etkileşime girdiklerinde peroksisülfenil radikaller oluştururlar (RSOO) [109].

Disülfid oluşumunun, bir sülfenik asit moitiesinde (RS-OH) bir tiyolatın (RS) pozitif nükleofilik saldırısı gibi radikal olmayan reaksiyonlar vasıtasıyla ortaya çıkması daha muhtemeldir [109]. Benzer şekilde, GSSG teorik olarak iki GS'den üretilmiş olsa da radikaller, GS'nin olması için GSH/GS ile reaksiyona girmesi gerekir [110]. Bununla birlikte, endojen olarak üretilen GSSG'nin büyük çoğunluğu GSH peroksidazlarını içeren enzimatik yollardan kaynaklanmaktadır [111].

Redoks çevrimi, biyolojik sistemlerde ROS'un kaynağı olabilir ve toksisiteye neden olabilir [112]. Örneğin, semikinon radikallerinin yarı ömrü son derece uzun olabilir (37 ° C') reaktif ve toksik olma eğilimi göstermez. Bununla birlikte, semikinon radikaller fazladan elektronunu moleküler oksijene aktararak O₂'yi üretebilirler [112].

Bu siklik reaksiyon normalde *in vivo* olarak NAD (P) H: kuinon oksidoredüktaz -1 (NQO-1) ile engellenir. Bu enzim kinonların iki elektron indirgenmesini katalize eder, böylece radikal ara maddeleri bypass eder ve ortaya çıkan hidrokuinon formunun faz II metabolizmasında sülfat veya glukuronik asit gibi hidrofilik kısımlara bağlanmasını sağlar [113].

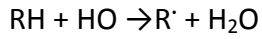
Peroksinitrit direkt toksisiteye ilaveten, hidroksil radikali ve karbon dioksit varlığında peroksinotrokskarbonat oluşumu ve ayrışması yoluyla karbonat ve azot dioksit radikalleri gibi diğer zararlı radikallere kadar ayrılmaktadır. Memeli hücrelerinde peroksinitrit, biyomoleküllerin oksidasyon ve nitrasyonundan sinyal verme süreçlerinin bozulmasına ve hücre ölümü indüksiyonuna kadar çok sayıda zararlı etkiye sahiptir [114-116].

2.4 Serbest Radikallerin Etkileri

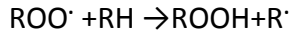
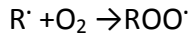
2.4.1 Lipid peroksidasyonu

Biyomembranlar ve subselüler organeller, membran fosfolipidlerinde poli doymamış yağ asitleri (PUFA) varlığına bağlı oksidatif atağa karşı özellikle hassastırlar. Lipid peroksidasyonu üç basamaktan oluşur: başlatma, yayılma ve sonlandırma.

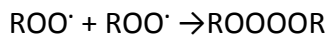
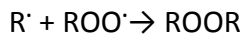
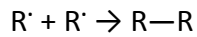
Başlatma: Biyomembranlardaki lipid peroksidasyonu, bir yağlı alkil serbest radikal oluşturmak üzere hidroksil radikali (HO $\cdot$) gibi yeterince reaktif oksidanın bir yağ asidi (RH) ile etkileşimi ile başlatılabilir [117].



Yayılma: Yağlı alkil serbest radikal (R $\cdot$), yağlı bir peroksil radikali (ROO $\cdot$) oluşturmak üzere moleküler oksijen ile çok hızlı tepki verir. Bu tür, hidroperoksitler oluşturmak üzere membrandaki komşu bir doymamış yağ asidine (RH) saldırmak için yeterli oksitleyici potansiyele sahiptir ve yeni bir yağlı alkil radikali (R $\cdot$) oluşturur [117].



Sonlandırma: Otokatalitik zincir, iki radikal türün çarpışmasıyla radikal olmayan ürünler oluşturacak şekilde sona erer. Aşağıda belirtilen sonlandırma reaksiyonları, hücre içi oksijen konsantrasyonuna bağlıdır[117].



Ortaya çıkan radikallerin moleküler oksijen ile reaksiyonu hızlıdır ve bu ürünler daha sonra bir poli doymamış yağ asiti molekülünden bir hidrojen atomunun soyutlanmasıyla reaksiyonu (yani lipid peroksidasyonunu) yayabilirler. Bu reaksiyonlar ilerledikçe ve ürünler birikirse, iyon kanalları etkilenebilir, membran taşıma proteinleri veya enzimleri inaktive edilebilir veya lipid katmanının kendisi daha katı ve/veya geçirgen hale gelebilir. Membranlarda veya lipoproteinlerde doymamış yağ asitlerinin

serbest radikal saldırısı tabii ki hücre işlev bozukluğu veya hücre ölümüyle sonuçlanabilecek önemli fonksiyonel değişikliklerle ilişkilidir [117].

2.4.2 Proteinlere Etkileri

Spesifik aminoasit kalıntıları da dâhil olmak üzere proteinler [118], serbest radikal hasarı için hedef olarak önemli ilgi görmüştür [119]. Bu kalıntıların oksidasyonu, basit tiol oksidasyonu, karışık disülfid oluşumu veya metionin kalıntılarının ilgili sülfoksitlere oksidasyonu yoluyla kritik sülfhidril gruplarının kaybına neden olabilir.

Buna ek olarak, aldehitlerin veya ketonların (yani karbonillerin), hidroperoksitlerin ve indirgenmiş hidroksi türünün oluşumuna yol açan aminoasitlerin modifikasyonları veya histidin veya triptofan kalıntılarındaki halka yarılması meydana gelebilir. Bu modifikasyonlar, işaretlemeleri [120] ve hem proteinlerin işlevsel ve yapısal aktivitelerini bozabilir [121].

Lipidlerde olduğu gibi, oksidize proteinlerin biyolojik sistemlerden uzaklaştırılması süregelen bir prosestir ve yalnızca üretildikleri hız, hücre hasarının belirginleşeceği yeni fonksiyonel moleküller ile kaldırılmasını ve/veya değiştirilmesini sağladığında geçerlidir [122,123]. İlginçtir ki, protein oksidasyonu çok geniş ise, oksitlenmiş proteinler baskılanabilir ve proteazomu tıkayarak daha fazla ayrışmayı engelleyerek protein oksidasyon ürünlerinin birikimine neden olabilir [124,125].

Oksidatif modifiye proteinlerin atılımı ile sonuçlanan lizozomal ekzositoz, hasar gören proteinlerin çıkarılması için bir başka mekanizma sunmaktadır [126]. Bununla birlikte, hiçbir mekanizma tam çalışamaz ve hasar gören proteinler zamanla birikerek proteazom ve mitokondriyal fonksiyonları bozabilir. Genel olarak, oksitlenmiş proteinlerdeki artış, seçilen biyokimyasal ve fizyolojik işlevlerin yaşla ilişkili olabilir [127].

2.4.3 Karbonhidratlara Etkileri

Hücreler, serbest radikallerin saldırısına karşı hassastırlar. Bunlar, DNA, RNA ve proteinlerin yanı sıra mono- ve polisakkaridler üzerindeki şeker parçalarını içerir. DNA nükleotidlerindeki şeker hasarları tipik nükleazlarla [128] tamir edilmiş gibi

görünmekte ve bu hasar genellikle toksisitenin kritik bir faktörü olarak düşünülmemektedir. Bununla birlikte, serbest glikoz, ileri glikasyon son ürünlerinin (AGE'lerin) oluşumuyla sonuçlanan birkaç oksidasyon reaksiyonuna uğrayabilir [129].

Glikoz ya proteinleri daha ileri düzenlenmeye ya da sorbitole düşürülebilen Schiff bazlarını oluşturmak üzere yavaş yavaş modifiye eder ve oksidasyon devam eder. Ortaya çıkan karbonhidrat oksidasyon ürünlerinden bazıları, geçiş metallerinin varlığında, AGE'ler üretmek için proteinlerle etkileşen ketoaldehitler haline dönüşürler. Bu ürünler AGE'lerin bir NADPH-oksidaz-çiftli reseptörünü (RAGE) aktive ederek hücrelerdeki ROS üretimini daha da uyaramaktadır [129]. AGE'ler diyabetik komplikasyonlara eklenebilmektedir [129-131].

2.4.4 DNA'ya Etkileri

Serbest radikaller ile DNA arasındaki etkileşim, bazı genlerin bütünlüğünü ve düzenlenmesini etkileyebilmektedir. Bu değişim hem zararlı hem de hücrelere yararlı olabilecek değişikliklere neden olabilir. Bu etkileşimler, oksidasyon ile DNA'nın doğrudan tamir edebileceği gibi adükt oluşumu veya transkripsiyon faktörleri, gen ekspresyonu ve onarımının düzenlenmesinde de rol oynayan enzimlerin değişikliklerine aracılık edebilir [132]. Reaktif oksijen türleri (ROS) hem DNA bazlarını hem de şekeri doğrudan değiştirebilir [133,134]. DNA tamir işlemleri yetersiz ise, kalıcı DNA hasarına (bu da hücre ölümüne neden olabilir), kalıcı olarak değiştirilmiş DNA dizilimlerine (mutasyon) ve kopyalama hatalarına neden olabilir. Peroksizmadan DNA hasarı, poli (ADP-riboz) polimerazı aktive edebilir [135]. Aktive edildiğinde, bu enzim hasar görmüş DNA'yı onarmak için büyük miktarda NAD kullanacaktır [136]. Bu, bir hücrenin ATP üretme yeteneğini bozabilir. Bu tek başına hücre ölümüne neden olmak için yetersiz olmasına rağmen [137], ROS'un normal adenin ve piridin nükleotid statüsünün korunması için kritik olan yolları bozabileceği açıktır.

2.5 Antioksidanlar

Bir antioksidan diğer moleküllerin oksidasyonunu yavaşlatan veya önleyen bir moleküldür. Oksidasyon reaksiyonları, hücrelere zarar veren zincir reaksiyonlara neden olan serbest radikal üretebilir. Antioksidanlar, bu zincir reaksiyonlarını, radikal ara

maddeleri çıkarıp diğer oksidasyon reaksiyonlarını kendileri oksitleyerek inhibe ederek sonlandırırlar. Bu nedenle, antioksidanlar sıklıkla tiyoller veya polifenoller gibi indirgeyici ajanlardır [138].

Oksidasyon reaksiyonları hayati önem taşımasına rağmen zarar verici olabilirler; Dolayısıyla, bitkiler ve hayvanlar, glutatyon, vitamin C ve vitamin E gibi çeşitli antioksidanları, ayrıca katalaz, süperoksit dismutaz ve peroksidazlar gibi enzimleri içerir. Düşük antioksidan düzeyleri veya antioksidan enzimlerin inhibisyonu oksidatif strese neden olur ve hücrelere zarar verebilir veya hücreleri öldürebilir [139].

Antioksidan savunma sistemlerinin, serbest radikallerin başlangıçtaki üretimini engellemek, oksidanları temizlemek, oksidanları daha az toksik bileşiklere dönüştürmek, ikincil toksik metabolitlerin veya enflamatuar mediatörlerin üretimini engellemek, sekonder oksidanların zincir çoğalmasını engellemek, serbest radikaller tarafından indüklenen moleküler hasarı onarmak veya endojen antioksidan savunma sistemini güçlendirmek gibi işlevleri bulunmaktadır. Bu savunma mekanizmaları, vücudu oksidatif stresden korumak için birlikte hareket eder. Antioksidan savunma sistemi, güçlü enzimatik ve non-enzimatik antioksidanlardan oluşur [140].

2.5.1 Enzimatik Antioksidanlar

Vücuttaki tüm hücreler güçlü antioksidan enzimler içerir. Antioksidan enzimlerin üç ana sınıfı süperoksit dismutazlar, katalazlar ve glutatyon (GSH) peroksidazlardır. Buna ek olarak, oksidanlarla reaksiyona giren ve oksitleyicileri detoxifying eden sayısız özel antioksidan enzimler vardır [139].

2.5.1.1 Süperoksit dismutazlar (SOD)

Bunlar, süperoksit anyonunun oksijen ve hidrojen peroksit içine parçalanmasını katalize eden enzimlerin bir sınıfıdır [8]. Neredeyse tüm aerobik hücrelerde ve hücre dışı sıvılarda bulunurlar. Bakır, çinko, mangan veya demir olabilen metal iyonları içerirler. İnsanlarda sitozolda bakır/çinko süperoksit dismutaz bulunurken mitokondriada mangan süperoksit dismutaz bulunur. Ekstraselüler sıvılardaki aktif yerlerinde bakır ve çinko içeren üçüncü bir süperoksit dismutaz formu da

bulunmaktadır [9]. Süperoksit dismutaz, O_2 'yi giderir (Bir bozunum reaksiyonunu katalize ederek). Süperoksit dismutaz yokluğunda, bu reaksiyon enzimatik olmayan, ancak çok yavaş bir hızda gerçekleşir [141].

2.5.1.2 Katalaz (CAT)

Katalaz (H_2O_2 oksidoredüktaz) dört polipeptit zincirinin tetrameri olup her biri 500 aminoasit uzunluğunda olup, enzimin hidrojen peroksit ile reaksiyona girmesine izin veren dört porfirin hem (demir) grubu içerir. Katalaz, enzimatik aktivitenin iki farklı moduyla katalize edilen reaksiyonlarda hidrojen peroksit (H_2O_2) 'yi parçalayabilir:

Katalaz, tüm enzimlerin en yüksek devir hızlarından birine sahiptir; Bir katalaz molekülü milyonlarca hidrojen peroksit molekülünü saniyede suya ve oksijene dönüştürür. Katalazın katalitik aktivitesi ile H_2O_2 ayrışımı, birinci derece reaksiyon modeli izler ve hızı H_2O_2 konsantrasyonuna bağlıdır [139,142].

Katalaz, tüm prokaryotlarda ve ökaryotlarda bulunur. Eritrositler haricinde ağırlıklı olarak H_2O_2 'nin çeşitli oksidazlar tarafından üretildiği her tür memeli hücresinin peroksizomlarında bulunur. H_2O_2 , oldukça reaktif hidroksil radikali oluşturan belirli reaksiyon için bir substrat görevi gördüğünden, katalazın, H_2O_2 birikimini sınırlandırarak hücrel antioksidan savunma mekanizmalarında rol oynadığına inanılmaktadır [143].

Katalazın hücre ve dokuları oksidatif strese karşı savunmadaki rolü kapsamlı olarak incelenmiştir. Katalazın aşırı ekspresyonu, hücreleri, H_2O_2 ve oksidan aracılı yaralanma toksisitesine karşı daha dirençli hale getirir [144].

2.5.1.3 Glutasyon sistemleri

Glutasyon peroksidazı, hidrojen peroksit ve organik hidroperoksitlerin parçalanmasını katalize eden bir enzimdir. Glutasyon S-transferazlar, lipid peroksitlerle yüksek aktivite gösteren başka bir glutasyon bağımlı antioksidan sınıfıdır [145]. Bu enzimler karaciğerde yüksek seviyededir ve detoksifikasyon metabolizmasına yardım eder [146].

Glutasyon redüktaz (GR), önemli bir hücrel antioksidan sistem olan NADPH-bağımlı mekanizması ile glutasyon disülfid (GSSG) 'yi sulfhidril formuna (GSH) indirgeyen kritik

bir enzimdir. Önemi nedeniyle, enzim birçok hayvan, bitki ve mikrobiyal kaynaklardan saflaştırılmış ve yapısını, kinetik mekanizmasını ve moleküler özelliklerini tanımlamak ve açıklamak için çalışılmıştır [147].

Kinetik mekanizmasının bir ping-pong/ardışık düzenlenmiş model olduğu bilinmektedir. GR, NADPH tarafından indirgenebilen bir protez grubu olarak iki FAD molekülünü içeren bir flavoproteindir. GR, termostabil enzimlerden biridir. GR, organizmayı kimyasal ve oksidatif strese karşı koruyan savunma sistemine aittir. Eksiklik, eritrosit membranların H_2O_2 'ye duyarlılığının artması nedeniyle hemoliz ile karakterizedir ve birçok hastalığın patogeneğinde anahtar rol oynayan oksidatif strese katkıda bulunur [148].

2.5.2 Enzimatik olmayan antioksidanlar

2.5.2.1 Askorbik asit

Askorbik asit veya vitamin C, hem hayvanlarda hem de bitkilerde bulunan bir monosakarit antioksidan olup insanlarda sentezlenemez ve diyetle alınması gerekir. Hücrelerde, glutatyon ile reaksiyona sokularak indirgenmiş halde tutulur. Askorbik asit, hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerini azaltabilen ve nötralize edebilen bir indirgeyici ajandır [147].

2.5.2.2 Glutatyon (GSH)

Glutatyon, aerobik yaşamın çoğunda bulunan sistein içeren bir peptiddir. Diyetle gerekli değildir ve hücrelerde sentezlenmiştir. Glutatyonun antioksidan özellikleri vardır. Bu özellik yapısında bulunan sistein tiol grubundan kaynaklanmaktadır. İndirgeyici maddedir ve tersinir şekilde oksitlenebilir. Hücrelerde, glutatyon, glutatyon redüktaz tarafından azaltılmış biçimde tutulur ve sırayla diğer metabolitleri ve enzimleri düşürür, aynı zamanda doğrudan oksidanlarla reaksiyona girer. Yüksek konsantrasyonunun ve hücrenin redoks durumunun korunmasında merkezi rol oynadığı için, glutatyon en önemli hücresel antioksidanlardan biridir [148].

2.5.2.3 Tokoferoller ve tokotriyoller (E vitamini)

E Vitamini (α -tokoferol), lipid ile çözünen en önemli antioksidandır ve lipid peroksidasyon zincir reaksiyonunda üretilen lipid radikalleriyle reaksiyona girer ve serbest radikal ara ürünlerini uzaklaştırarak hücre zarlarını oksidasyona karşı korur. Tokotrienollerin nöroproteksiyonda özel bir rolü olabilir [149].

2.5.2.4 Beta karoten

Karotenoidler, lipid fazlarında antioksidan fonksiyonlara sahip lipofilik özelliklere sahip bileşiklerdir. Beta-karoten, A vitamini öncülüğünün yanı sıra, tekli oksijeni uzaklaştırdığı için güçlü antioksidan özelliklere sahiptir. Böylece serbest radikal saldırısına karşı koruma sağlar. Karaciğer, yumurta sarısı, süt, tereyağı, ıspanak, havuç, domates ve tahıllarda bulunurlar [147].

2.6 *Abelmoschus esculentus* L. (syn. *Hibiscus esculentus*) özellikleri

Abelmoschus esculentus (syn. *Hibiscus esculentus*) L. (Malvaceae), yıllık sebze olup bambu parmakları, bamya, guino-gombo, guibero ve bhindi olarak dünyanın farklı yerlerinde birçok yerel isimle bilinir. Bamyanın optimum gelişme sıcaklığı 25-30 °C olup, hava sıcaklığı 16°C'nin, toprak sıcaklığı ise 15°C'nin üzerinde olduğunda yetiştirilebilmektedir. *Abelmoschus esculentus* L. geleneksel tıpta terapötik potansiyel özelliklerinde dolayı Orta Doğu, Uzak Doğu ve Türkiyede uzun süredir kullanılmaktadır [150-152].

Abelmoschus esculentus L., değerli bir besin olarak çiğ veya pişmiş olarak yenebilir. *Abelmoschus esculentus* L., aminoasit, lipid, karbonhidrat, diyet lifi, mineral ve vitamin (A, C, E, K, β -karoten, folat, kolin ve niasin) gibi fonksiyonel bileşenler bakımından zengindir. Beslenme içeriğinin yanı sıra, sağlık için faydalı bileşenlere sahiptir[153-155,3].



Şekil 2.2 *Abelmoschus esculentus* (syn. *Hibiscus esculentus*)

Geleneksel tıpta *Abelmoschus esculentus* L. idrar söktürücü, antispazmodik, rahatlatıcı, müshil ve anti-kanser etkileri gösterdiği düşünülmektedir [153,155]. Ayrıca yararlı mukus şeklindeki içeriği ile bilinir. Ayrıca, *Abelmoschus esculentus* L.'nin *in vivo* ve *in vitro* antioksidan, antidiyabetik antihiperlipidemik, antimikrobiyal, antifatigue, hepatoprotektif ve nöroprotektif etkileri bildirilmiştir [151-155]. *Abelmoschus esculentus* L. 'nin antioksidan bir biyoaktif molekülü olan quercetin (Que), hidroksil, peroksil yapıları ve süperoksitler anyonlarına karşı serbest radikal süpürme aktivitesi sergilediği kanıtlanmıştır [156,24].

Çizelge 2.1 *Abelmoschus esculentus* L. yapısında bulunan başlıca bileşenler

Quercetin 30-O-xylosyl glucoside	Epigallokateşin
Quercetin 30-O-glukosil glucosid	Rutin
Quercetin 30-O-glukosid	Hiperin
Quercetin 30-O- (600-O-malonyl) -glukosid	İzoquercetin
	Hibifolin
	Myisetin

MATERYAL METOD

3.1 Materyal

3.1.1 Kimyasallar

Sodyum klorür, sodyum dihidrojen fosfat, sodyum hidroksit, metafosforik asit, sodyum sitrat, fosforik asit, bakır (II) sülfat, hidrazin sülfat, sodyum asetat, perklorik asit, asetik asit, sülfürik asit, tiyoüre, hidrojen peroksit, indirgenmiş glutatyon (GSH), tiobarbitürik asit, fosfat tamponu, bütillenmiş hidroksitoluen, trikloroasetik asit, EDTA, [5,5-ditiyobis- (2-nitrobenzoik asit)], disodyum hidrojen fosfat, fenilendiamin, sodyum azid, 2,4-dinitrofenilhidrazin, etil alkol, asetonitril, 2-propanol, heksan ve Quercetin (Moleküler ağırlığı: 302,24 g/mol), Sigma-Aldrich'den satın alındı. Fam (FamodinVR 40 mg/kg Sandoz, İstanbul, Türkiye) kullanıldı. Çözücü olarak ultra-distile su kullanıldı. Apoptoz tespit kiti (Apop Tag artı Peroksidaz in situ Apoptoz Algılama Seti S7101, Millipore, Billerica, MA) monoklonal anti-prolifere edici hücre nükleer antijen (PCNA) antikoru (MS-106-B, Thermo Lab Vision, Fremont, CA), biyotinlenmiş sekonder antikor (Ultra Vizyon Algılama Sistemi-HRP kiti, Thermo, Fremont, CA) ve streptavidin peroksidaz (Ultra Vizyon Algılama Sistemi-HRP kiti, Lab Vision, Fremont, CA) da kullanıldı.

3.1.2 Bitki materyali

Çalışmada kullanılan *Abelmoschus esculentus* L. Ağustos 2014'te Türkiye Amasya'dan toplanmıştır. Bitki toplandıktan sonra literatüre uygun olarak teşhis edildi. *Abelmoschus esculentus* L. meyve kısımları 25 °C'de üç gün boyunca etüvde kurutuldu.

Kurutulmuş bitkiler blenderda öğütölerek toz haline getirildi. Bitkinin öğütölmüş kısmı (40±2 g) %95 'lik etil alkol (200ml) bulunan kaplara aktarilarak oda sıcaklığında soxilet ekstraksiyon cihazında 96 saat süreyle ekstrakte edildi. Elde edilen karışım süzölerek çözelti içerisindeki çözöcö, rotary evaporatörde 50°C'de, düşük basınçta uzaklaştırıldı. Örnekler deneysel çalışmada kullanılmak üzere +4⁰C 'de saklandı [157].

3.1.3 Hayvan Materyali

Çalışmada kullanılan 49 adet 150–200 g ağırlığındaki Albino-Wistar sıçanlar, Bağcılar Eğitim Araştırma Hastanesi Deney Hayvanları Merkezinden temin edildi. Ayrıca çalışmanın deney hayvanları ile ilgili yapılan bölümü de Bağcılar Eğitim Araştırma Hastanesi Deney Hayvanları Merkezinde yapıldı. Deney hayvanları 20–24 °C'de 12 saat gündüz–12 saat gece olan bir ortamda standart yem ve su ile beslenip standart rat kafeslerinde beslendi. Ülser deneyinden 24 saat önce tüm sıçanlar aç bırakıldı ancak su içmeleri serbest bırakıldı; dışkılarını yemelerini önlemek için kafeslerin altına tel ızgara yerleştirildi [157].

Deneysel çalışmada deney grupları şu şekilde oluşturuldu:

Grup 1(Sham): Kontrol grubu olup 1 ml izotonik %0,9 NaCl gavaj ile verildi. Bir saat sonunda ketamin anestezisi altında sakrifiye edildi.

Grup 2 (Etil alkol): Bu gruba 1 ml etil alkol (%80) gavajla verilerek akut mide ülseri oluşturuldu. Bu gruba etil alkol dışında hiçbir madde verilmedi. Bir saat sonunda ketamin anestezisi altında sakrifiye edildi.

Grup 3 (AEE-100): *Abelmoschus esculentus* L. ekstresi (AEE) düşük doz olarak 100 mg/kg gavaj ile verildikten bir saat sonra 1 ml etil alkol (%80) gavajla yardımıyla uygulandı. Uygulamadan 1 saat sonra sıçanlar ketamin anestezisi altında sakrifiye edildi.

Grup 4 (AEE-250): *Abelmoschus esculentus* L. ekstresi (AEE) düşük doz olarak 250 mg/kg gavaj ile verildikten bir saat sonra 1 ml etil alkol (%80) gavajla yardımıyla uygulandı. Uygulamadan 1 saat sonra sıçanlar ketamin anestezisi altında sakrifiye edildi.

Grup 5 (AEE-500): *Abelmoschus esculentus* L. ekstresi (AEE) düşük doz olarak 500 mg/kg gavaj ile verildikten bir saat sonra 1 ml etil alkol (%80) gavajla yardımıyla uygulandı. Uygulamadan 1 saat sonra sıçanlar ketamin anestezisi altında sakrifiye edildi.

Grup 6 (Que-75): 75 mg/kg quercetin (Que) gavaj ile verildikten bir saat sonra 1 ml etil alkol (%80) gavajla yardımıyla uygulandı. Uygulamadan 1 saat sonra sıçanlar ketamin anestezisi altında sakrifiye edildi. gavaj ile verildi. Bir saat sonunda ketamin anestezisi altında sakrifiye edildi.

Grup 7 (Fam-20): 20 mg/kg famodin (Fam) gavaj ile verildikten bir saat sonra 1 ml etil alkol (%80) gavajla yardımıyla uygulandı. Uygulamadan 1 saat sonra sıçanlar ketamin anestezisi altında sakrifiye edildi. gavaj ile verildi. Bir saat sonunda ketamin anestezisi altında sakrifiye edildi.



Şekil 3.1. Akut ülser çalışması ve doz uygulaması

3.1.4 Akut toksisite çalışmaları

Akut toksisite, Swiss albino farelerde (25-40 g) CPCSEA tarafından verilen 420 no'lu OECD Kılavuzuna göre sabit doz yöntemi uygulandı. Hayvanlar altı gruba (n=7) ayrıldı ve *Abelmoschus esculentus* L. ekstresi (AEE) oral yolla uygulandı. Oluşturulan gruplara sırasıyla vücut ağırlığının kilogramı başına 100, 250, 500, 1000, 3000 ve 5000 mg *Abelmoschus esculentus* L. ekstresi (AEE) dozu verildi. Farelere *ad libitum* olarak beslendi. 24 saatlik bir süre boyunca ölüm ve davranış değişikliklerinin yüzdelерini belirlemek için düzenli olarak gözlem altında tutuldu. 24 saat sonunda sonuçlar kaydedilerek veriler hesaplandı.

3.2 Analizler için gerekli örneklerin alınması, hazırlanması ve saklama işlemleri

Ketamin anestezisi ile çalışmaya dâhil edilen grupların hepsinden kan örnekleri alınmıştır. Kan örnekleri kalpten alınmıştır. MDA ve GSH analizleri için kullanılacak olan kan örnekleri EDTA'lı cam tüplerde saklanmıştır [157].



Şekil 3.2 Ratlardan kan alma işlemi

3.2.1 Serum Örneklerinin hazırlanması

Biyokimyasal analizler için gerekli olan kan örnekleri normal tüplere alınmıştır. Normal tüplere alınan kan örnekleri oda sıcaklığında bekletilip 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek gerekli serum maddesi alınmış ve analizlere kadar derin dondurucuda (-20°C) saklanmıştır [157]. Serum örneklerinde askorbik asit, β -karoten ve retinol analizleri yapılmıştır.

3.2.2 Eritrosit paketlerinin hazırlanması

Glutasyon peroksidaz, katalaz ve süperoksit dismutaz enzim aktivitelerinin tayini için eritrosit paketleri hazırlanmıştır. Heparinli cam tüplere alınan kan örnekleri bir saat +4°C'de bekletildikten sonra 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilerek, oluşan plazma ortamdan uzaklaştırılmıştır. Altta kalan miktara eşit oranda serum fizyolojik (%0.9 NaCl) eklenerek eritrositlerin yıkanması gerçekleştirildi. Serum fizyolojik eklenen tüpler 2000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilir. Eritrosit yıkama işlemi üç kez tekrarlanmıştır. Elde edilen eritrosit paketleri, derin dondurucuda muhafaza edilmiştir [157].

3.3 Mide doku örneklerinin alınması ve ülser indeksinin hesaplanması

Ratlar sakrifiye edilip kanları alındıktan sonra mideleri çıkarılarak, büyük kurvatur boyunca kesilip açılmıştır. Açılan mideler serum fizyolojik ile yıkanmıştır. Daha sonra mukozal lezyonları belirlemek için bilgisayarlı görüntüleme programı yardımıyla fotoğraflanan midelerde toplam mide alanları ile ülser alanları hesaplanmıştır. Toplam ülser alanı/toplam mide alanı yüzdelik değer olarak hesaplanıp, bu veri ülser indeksi olarak belirlenmiştir [157].



Şekil 3.3 Ratların ketamin anestezisi ile sakrifiye edilip midelerin çıkartılması

3.3.1 Dokuların Homojenizasyonu

Mide doku örneklerinden 0.2 gr hassas tartı yardımıyla tartılmıştır. 0.2 gr doku örneğinin üzerine 2.8 ml %0.9 'luk NaCl çözeltisi eklenerek, homojenizatör yardımıyla dokular homojenize edilmiştir. Elde edilen homojen çözelti 3000 rpm de 20 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonunda alınan süpernatant doku MDA ve GSH analizlerinde kullanılmıştır [157].

3.3.2 Organik matrisin doku numunelerinden ayrıştırılması

Mide dokularında bioelement düzeylerini ölçebilmek için dokularda bulunan organik maddelerin uzaklaştırılması gerekir. Organik matrisin doku numunelerinden ayrışması için mikrodalga fırın kullanılarak dokular yakılmıştır. Pro 24 Yüksek Verimli Rotor ve bir sıcaklık kontrol programı ile donatılmış bir Milestone Start D (İtalya) mikrodalga fırın kullanılmıştır. Elementlerin numunelerin mineralizasyondan sonra tespit edilmiştir. 0,5 g'lık doku örnekleri tartılmış(ıslak ağırlık) ve yüksek basınçlı Teflon kaplarına konulmuştur. Doku örneklerinin bulunduğu Teflon kaplara 3 ml konsantre HNO₃, 1 ml

H₂O₂ ve 0.5 ml HClO₄ (ultrapure, Merck, Almanya) ilave edilmiştir. Teflon kaplar mikrodalga fırına dengeli bir şekilde yerleştirilmiştir. Teflon kaplardaki karışım mikrodalga fırında aşağıdaki sıraya (sıcaklık / süre) göre ısıtılmış: 90 °C/15 dakika, 120 °C/15 dakika, 140° C/60 dakika, 150 °C/60 dakika. Oda sıcaklığına soğutulduktan sonra, bu solüsyon niceliksel olarak transfer edildi ve 18.2 MΩ.cm ultra-su (Milipore DirectQ UV, Japonya) ile 10 ml'ye bir şişede ayarlanmıştır [158]. Elde edilen numuneler ICP-OES cihazı yardımıyla ölçülmüştür.

3.4 Biyokimyasal Analizler

3.4.1 MDA Tayini

Serbest radikallerin, doymamış yağ asitlerinin peroksidasyona uğratarak oluşturdukları son ürünlerden biri malondialdehittir (MDA). MDA, TBA (tiobarbitürik asit) ile reaksiyona girerek renkli formda bir bileşik meydana getirir. Oluşan bu renkli bileşiğin 532 ve 600 nm dalga boylarında spektrofotometrede (Jenway 6305 UV/VIS) absorbansı ölçülerek lipid peroksidasyonu tayini yapılmıştır [159].

3.4.2 GSH Tayini

Glutasyon (GSH) genellikle vücudun ana antioksidanı olarak adlandırılır. Tüm kandan distile su ile hazırlanan hemolizatın içindeki SH (sülfhidril) taşıyan bütün proteinler, presipitasyon (çöktürücü) çözeltisi ile proteinler çöktürülüp, süzülerek ayrılır. Redükte glutasyon (GSH), elde edilen berrak sıvıda SH gruplarının DTNB (5,5'-2-Dithiobis nitrobenzoik asit) ile tepkime sonucunda oluşan sarı rengin 412 nm dalga boyunda absorbansı spektrofotometrede (Jenway 6305 UV/VIS) ölçülmüştür [160].

3.4.3 Glutasyon Peroksidaz (GPx) Tayini

GPx, reaksiyonda görülen kümen hidroksit (ROOH) ile redükte glutasyonu (GSH) okside eden reaksiyonunu katalizler. Ortamda glutasyon redüktaz (GRx) ve nikotinamit adenin dinükleotid fosfat hidrojen (NADPH) var ise yükseltgenmiş glutasyon (GSSG), NADPH'ın NADP⁺ ye oksidasyonu ile GSH'a indirgenir. Bu son reaksiyonda meydana gelen NADPH- NADP⁺ değişimi 340 nm'de azalan absorbansın

kinetik ölçümü ile saptanır. Glutasyon peroksidaz enzim aktivitesi, Cayman marka ELISA kitleri ile yapılmıştır [161].

3.4.4 Katalaz (CAT) Tayini

Katalaz enzim aktivitesi ölçümü peroksitin yıkım esasına dayanmaktadır. Katalaz düşük molekül ağırlıklı alkollerle elektron alışverişinde bulunur. Örnekte bulunan katalaz enzimi, substrattaki H_2O_2 'i 37 °C'de pH 7,4'de H_2O ve O_2 'e dönüştürür. Geriye kalan parçalanmamış substrat (H_2O_2), kromojen madde ile sarı renkli stabil bir kompleks oluşturur. Kromojen maddenin şiddeti formaldehidle değişir. Oluşan rengin şiddeti katalaz konsantrasyonu ile ters orantılı olup 540 nm'de ölçüm yapılır. Bir ünite katalaz (U/ml) birim zamanda 25 °C'de 1 nmol formaldehid'in yapısını değiştiren enzim aktivitesidir. Katalaz düzeyleri Cayman ELISA kiti kullanılarak tayin edilmiştir [162].

3.4.5 Süperoksit Dismutaz (SOD) Tayini

Süperoksit dismutaz aktivitesi ölçümü Cayman marka ticari ELISA kitleri ile yapıldı. Metod, ksantin-ksantin oksidaz sistemi kullanılarak üretilen süperoksitlerin nitroblue tetrazoliumun (NBT) indirgenmesini inhibe etmesi esasına dayanmaktadır. Biyolojik sistemlerde aerobik oksidasyon sonucunda meydana gelen süperoksit radikalleri NBT boyar maddesini redükte ederek formazonların oluşmasına neden olmaktadır. SOD ise bu oluşan NBT'nin formazonlara dönüşümüne durdurmaktadır. NBT indirgenme hızının inhibisyonuna bağlı olarak SOD aktivite tayini yapılmaktadır [163].

3.4.6 Askorbik Asit Tayini

Serum, %6'lık perklorik asit ile ekstrakte edildikten sonra oluşan ekstrakt reaksiyon solüsyonu (dinitro fenil hidrazin (DNPH), % 0.6'lık bakır sülfat ($CuSO_4$) ve %5'lik tiyoüre) ile muamele edilir. Oluşan sarı renkli kompleksin spektrofotometrede 520 nm'de absorbansı ölçülerek vitamin C analizi yapılır. Derin dondurucuda analiz gününe kadar muhafaza edilen ve vitamin C analizi yapılacak olan serumlar, derin dondurucudan çıkarılarak oda sıcaklığına gelmeleri sağlanmıştır. Numuneler spektrofotometrik metot ile analiz edilmiştir [164].

3.4.7 Vitamin A (Retinol) ve β -carotene

Serumdan Vitamin A analizi Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi (HPLC) metodu ile yapılmıştır. Metot, aynı çalışma zamanında (15 dk) her iki vitaminin de konsantrasyonunu verebilen izokratik bir yöntemdir. Bu yöntemde göre, 250 mikrolitre (μ L) serum, 50 μ L ve 500 μ L presipitasyon solüsyonu 1.5 ml'lik reaksiyon tüpüne konulduktan sonra vorteks ile homojen karışım elde edilir. Karışım 2-8°C'de 30 dakika inkübasyona bırakıldıktan sonra 11.800 rpm'de 10 dakika boyunca santrifüj edilerek süpernatantı alınır. Elde edilen süpernatantın 100 μ L'si alınarak HPLC sistemine enjekte edilir. Vitamin A (retinol) 325, tayin edilebilir [165].

3.5 Histopatolojik Analiz

Ratlar sakrifiye edildikten sonra alınan mide dokuları %10'luk formaldehit solüsyonunda fikse edildi. Parafin doku takip işlemi uygulandı. Mikrotom yardımıyla 6 μ m kalınlığında parafin kesitleri elde edildi. Elde edilen kesitler deparafinize edilerek, Hematoksilen-Eozin Boyama Protokolü kullanılarak boyandı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskobu ile incelendi. Histopatolojik değişiklikler önceden yapılan histolojik çalışma yöntemlerine göre hesaplanmıştır [166,167]. Çalışma kapsamında hesaplanan her parametreler ile ilgili belirteçler 0-4 ve 0-3 arasında numaralandırılmıştır. Numaralandırma aşağıdaki gibidir:

- (a) Mukozal ödem (0, lezyon yok; 1, zayıf ödem; 2, mukozal zayıf ödem; 3, mukozal ve submukozal zayıf ödem ile mukozal ve 4, submukozal güçlü ödem)
- (b) Hemoraji (0, lezyon yok; 1, hiperemi; 2, hemoraji noktaları; 3, büyük hemorajik alanları ve 4, ortak hemorajik alanları)
- (c) İnflamasyon (0, inflamasyon yok; 1, yüzeysel mukozal inflamasyon; 2, güçlü mukozal inflamasyon ve 3, mukozal ve submukozal inflamasyon)
- (d) Epitel hücre erozyonu (: 0, ülser yok; 1, küçük birkaç ülser; 2, büyük ülserler; 3, mide tamamen ülser alanları ile dolu).

Bütün değerlendirmeler mukozal ve submukozal tabakalarda yapıldı.

3.6 İmmünohistokimyasal Analiz

3.6.1 PCNA (Proliferating cell nuclear antigen) analizi

Kesitler (6 µm) oda sıcaklığında 1:50 oranında seyreltilen özel bir monoklonal anti-proliferating cell nuclear antigen (PCNA) (MS-106-B, ThermoLabVision, Fremont, California, USA) ile inkübe edilmiştir. Kesitler üç kez PBS ile yıkanmış ve biyotinlenmiş sekonder antikor (Ultra Vision Detection System-HRP kit, Thermo, Fremont, USA) ile inkübe edilmiştir. Bunu takiben kesitler Streptavidin Peroksidaz konjugatı(Ultra Vision Detection System-HRP kit, Lab Vision, Fremont, USA) eklenerek oda ısısında 20 dakika süreyle bekletilmiştir. Chromogen 3-amino-9-ethyl-carbazole(AEC Substrate System, Thermo Scientific/Lab Vision) kullanıldı ve kesitlere hematoksilen ile zıt boyama yapılmıştır [168].

3.6.2 IL-1β ve IL-6 analizi

Mide dokusu örnekleri % 10 formalin solüsyonu içinde sabitlenmiş ve parafin içine gömülülerek 6 µm kalınlığında kesitler alınmıştır. IL-1β ve IL-6 pozitif hücreler streptavidin biyotin peroksidaz boyama yöntemi ile belirlenmiştir. Antijenler, sitrat tampon maddesi (10 mM, pH 6) içinde 10 dakika kaynatılarak, deparafinli ve rehidrate edilmiş kesitler alınmıştır. İmmunohistokimya muayeneleri için tavşan poliklonal anti-IL-1β (ab9324, Abcam ABD) ve fare monoklonal anti-IL6 (ab6672, Abcam ABD) primer antikorlar ve biyotinlenmiş sekonder antikor (DAKO-Universal LSAB Kit-K0690) kullanılmıştır. Antikorum bağlanma yerleri, aminoetilkarbazol substrat kiti (AEC kiti; Zymed Laboratories) ile kaplandı ve yüksek güçlü ışık mikroskopisi (Olympus CX31, Japonya) ile değerlendirilmiştir. Her örnek için, yaklaşık 20X objektif lens kullanılarak rasgele seçilmiş on bölgede IL1β ve IL6 pozitif immünreaktivite belirlenmiştir. İmmunohistokimyasal reaksiyonların yarı kantitatif değerlendirmesi, etiketli hücrelerin yüzdesini (<% 25,% 25-50,% 50-75 ve>% 75) dikkate alarak ve zayıf (1+), orta (2+), yoğun (3+) ve çok yoğun (4+) olarak belirlenmiştir [167].

3.7 TUNEL metodu

Kesitler apoptozis değeriendirilmesi için terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP nickend labeling (TUNEL) ile indirekt immunoperoksidaz yöntemi kullanılarak ticari kit (Apop Tag plus Peroxidase in Situ Apoptosis Detection Kit S7101, Millipore, USA) yardımıyla çalışılmıştır [167,169]. Hazırlanan preparatlar Olympus BX51 model ışık mikroskobu altında incelenmiştir (Version 2.11.5.1, Argenit Kameram). PCNA sayısı ve TUNEL-pozitif hücre hesaplaması her rat için 15 farklı kesitte hesaplanmıştır. PCNA sayısı ve TUNEL-pozitif hücre sayıları birim alan olarak hesaplanmıştır (hücre sayısı/mm²).

3.8 RP-HPLC analizi

HPLC ekipmanı Shimadzu LC-20Avp sistemi, iki LC-20AD çözücü verme ünitesi, SPD-20A UV-vis fotodiyot dizisi detektörü, CBM-20A sistem kontrol cihazı, bir CTO-20A kolon fırın, bir DGU-20A3 degaser ve 20 mL enjeksiyon valfinden oluşmaktadır. Veriler, Pentium II 400 PC uyumlu bir bilgisayarda Shimadzu Sınıf VP 5.3 HPLC veri sistemi kullanılarak işlendi. Inertsil ODS-4 (50 mm 2.1 mm 3 mm) kolonu kullanılmıştır. Kolon sıcaklığı 30 ° C idi. Elüsyon, 0.05 mL/dak'lık bir akış oranında saf su: asetonitril: 2-propanol (70:22:8) içeren bir mobil faz kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kromatogramlar 370 nm'de kaydedildi. AEE içindeki Quercetin varlığı ve miktarı, aynı şartlarda standart quercetin kullanılarak ve kromatogramlar karşılaştırılarak tayin edilmiştir [170].

3.9 ICP-OES analizi

Mide dokusunda bulunan bioelementlerin ölçümünde kullanılan ICP-OES cihazı özellikleri ve bioelementlerin belirlenmesi için gerekli analitik koşullar aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Çizelge 3.1 ICP-OES cihaz özellikleri

Cihaz	Spectro Genesis Fee, Almanya
Nebulizatör	Çapraz Akışı
Plazma Gücü	1380 W
Coolnat Akış	14.00 L / dak
Yardımcı Akış	1.00 L / dak
Nebülizatör Akışı	1.05 L / dak
Optik Yıkama	Normal
Ölçü Stratejisi	En İyi SNR
Reply	2
Ölçüm zamanı	90 saniye
Yıkama zamanı	40 saniye

3.10 İstatiksel analiz

Elde edilen bulguların istatistik hesaplamaları, SPSS 10.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Çalışmada elde edilen veriler “ortalama $\pm$ standart sapma” olarak ifade edildi ($X \pm SD$). Gruplara varyans analizi (ANOVA) Tukey post testi uygulanarak istatistiksel ilişki belirlenmiştir. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ kabul edilmiştir.

3.11 Hayvan Etik Kurulu

Araştırmaya başlamadan önce Bağcılar Eğitim Araştırma Hastanesi Hayvan Etik Kuruluna başvurularak etik kurulu onayı alınmıştır.

BÖLÜM 4

BULGULAR

4.1 Biyokimyasal Bulgular

Çizelge 4.1, deney grubunun tüm kanlarındaki MDA ve GSH düzeylerini göstermektedir. Kanda MDA düzeyi AEE-500 mg/kg grubunda minimum, etil alkol grubunda maksimum olarak belirlenmiştir. MDA düzeyleri, AEE-100, 250 ve 500 mg/kg, Fam-20 mg/kg ve Que-75 mg/kg tedavi gruplarında etil alkol grubu ile karşılaştırıldığında belirgin bir şekilde azaldığı görülmektedir ($p<0.001$). Vücut oksidatif strese karşı koruyan endojen maddeler olarak GSH seviyeleri etil alkol grubundaki en düşük seviyede bulunmuştur. Bununla birlikte, AEE-250, 500 mg/kg ve Fam-20 mg/kg tedavisi, etil alkol grubuna kıyasla, GSH düzeylerinde azalmayı önemli ölçüde inhibe etmiştir ($p<0.001$, $p<0.05$).

Çizelge 4.1 Tüm gruplara ait tam kan MDA ve GSH değerleri

	MDA (nmol/mg)	GSH (nmol/mg)
AEE-500	1.02 ± 0.2^a	61.18 ± 3.79^a
AEE-250	1.05 ± 0.2^a	59.50 ± 3.1^a
AEE-100	1.18 ± 0.2^a	53.73 ± 3.7
Fam-20	1.29 ± 0.3^a	57.34 ± 2.7^b
Que-75	1.19 ± 0.2^a	53.98 ± 3.9
Etil alkol	2.56 ± 0.4	49.57 ± 4.5
Sham	0.97 ± 0.1^a	91.43 ± 3.5^a

^a: Etil alkol'den farklıdır ($p<0.001$)

^b: Etil alkol'den farklıdır ($p<0.05$)

Çizelge 4.2, deneysel grupların serumundaki antioksidan vitamin seviyelerini göstermektedir. Deney grubunun serum askorbik asit seviyeleri arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Sadece 500 mg/kg dozunda AEE ile tedavi edilen grupta β -karoten düzeylerinde anlamlı artış vardır ($p<0.05$). AEE-500 mg/kg'da retinol düzeyleri etil alkol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır ($p<0.05$).

Tablo 4.2 Tüm gruplara ait serum Askorbik asit, β -karoten ve Retinol değerleri

	Askorbik asit (mg/dl)	β -karoten (μ g/dl)	Retinol (μ g/dl)
AEE-500	2.26 $\pm$ 0.2	19.12 $\pm$ 2.5 ^a	49.17 $\pm$ 3.7 ^b
AEE-250	2.18 $\pm$ 0.2	16.28 $\pm$ 3.1	44.08 $\pm$ 3.8
AEE-100	2.02 $\pm$ 0.2	14.86 $\pm$ 2.3	41.74 $\pm$ 3.3
Fam-20	2.08 $\pm$ 0.2	15.58 $\pm$ 2.8	42.06 $\pm$ 4.0
Que-75	1.94 $\pm$ 0.2	15.12 $\pm$ 2.5	41.90 $\pm$ 2.9
Etil alkol	2.10 $\pm$ 0.3	13.63 $\pm$ 3.3	39.85 $\pm$ 3.5
Sham	2.29 $\pm$ 0.1	20.29 $\pm$ 2.4 ^b	53.14 $\pm$ 2.5 ^c

^a: Etil Alkol'den farklıdır ($p< 0.05$)

^b: Etil Alkol'den farklıdır ($p< 0.01$)

^c: Etil Alkol'den farklıdır ($p< 0.001$)

Çalışmada eritrosit örneklerinde analiz edilen enzimatik antioksidanlardan GPx, SOD ve CAT ile ilgili bulgular aşağıdaki Çizelge 4.3 de gösterilmiştir.

Elde edilen verilere göre GPx değerleri sham grubu etil alkol grubuna göre istatistiksel olarak $p < 0.001$ oranında farklıdır. AEE-100, 250 mg/kg, Fam-20 mg/kg ve Que-75 mg/kg grupları etil alkol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak $p < 0.05$ oranında farklıdır. AEE-500 mg/kg uygulanan grubun istatistiksel olarak $p < 0.01$ oranında etil alkol grubundan farklı olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlara göre GPx seviyesinin AEE-500 mg/kg uygulanan grupta en yüksek olduğu ve bu değer sham grubu ile yakın olduğu görülmektedir. SOD değerleri karşılaştırıldığında AEE-100 ve 500 mg/kg uygulanan gruplar etil alkol grubuna göre sırasıyla istatistiksel olarak $p < 0.001$ ve $p < 0.01$ oranında anlamlıdır. Bu gruplarda SOD miktarını önemli ölçüde artmıştır. CAT sonuçları değerlendirildiğinde AEE-250 ve 500 mg/kg grupları etil alkol grubuna göre istatistiksel olarak $p < 0.01$ oranında anlamlı bulunmuştur.

Çizelge 4.3 Eritrosit antioksidan enzim aktiviteleri

	GPx (U/L)	SOD (U/mL)	CAT (kU/L)
AEE-500	7192.14 ± 603.8 ^b	195.40 ± 12.7 ^b	6976.17 ± 492.1 ^b
AEE-250	6676.43 ± 666.3 ^a	182.73 ± 10.2	6977.91 ± 403.9 ^b
AEE-100	6480.15 ± 489.1 ^a	189.61 ± 14.4 ^c	6336.34 ± 368.9
Fam-20	6579.21 ± 469.9 ^a	184.01 ± 13.7	6150.55 ± 530.7
Que-75	6583.28 ± 549.7 ^a	180.11 ± 14.2	6080.49 ± 414.5
Etil alkol	5830.37 ± 513.9	165.64 ± 12.5	5671.33 ± 761.9
Sham	7814.76 ± 432.6 ^c	204.83 ± 11.2 ^c	7375.88 ± 295.3 ^c

^a: Etil alkol'den farklıdır ($p < 0.05$)

^b: Etil alkol'den farklıdır ($p < 0.01$)

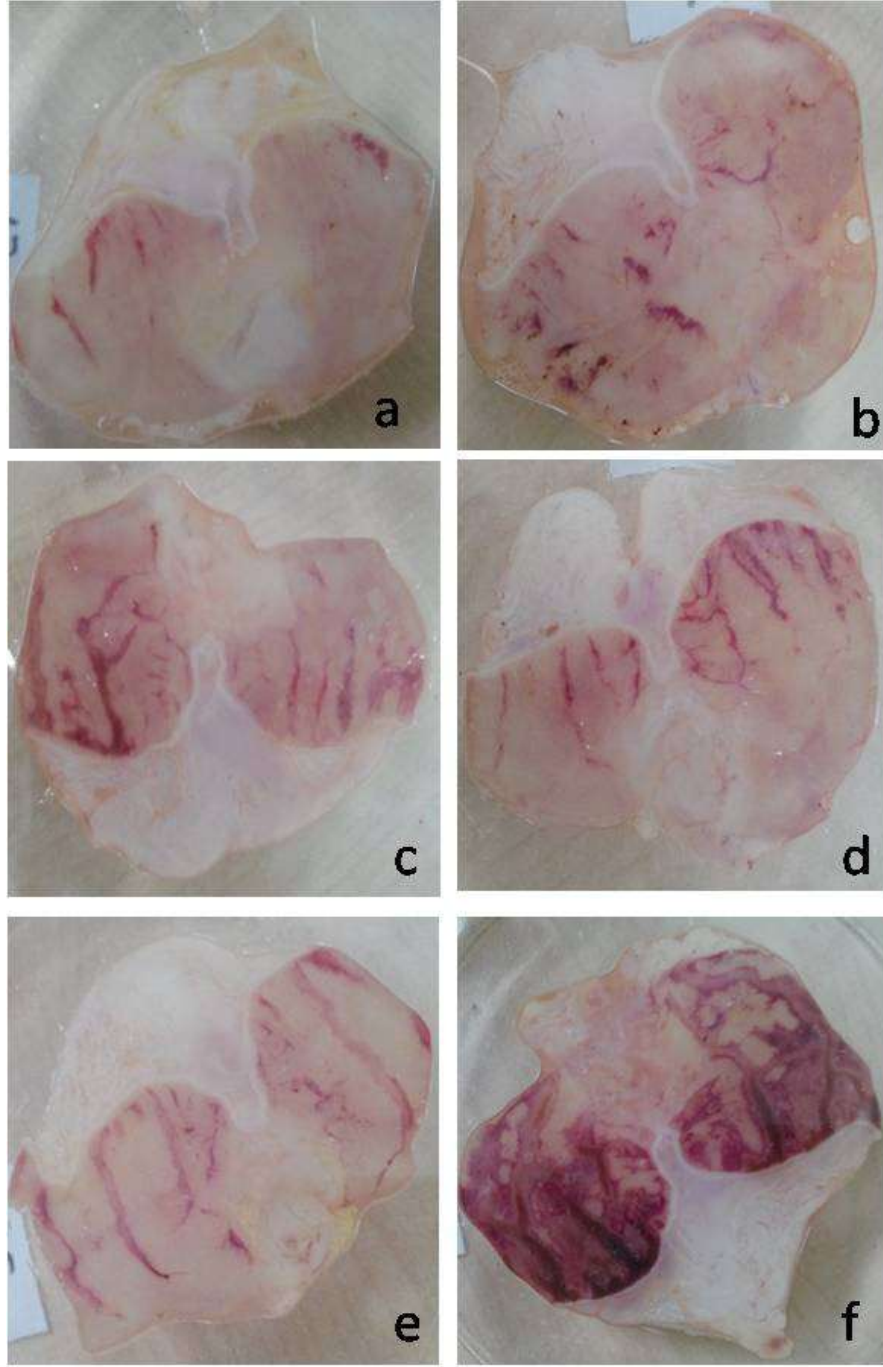
^c: Etil alkol'den farklıdır ($p < 0.001$)

Çizelge 4.4 ve Şekil 4.1'de, bamyanın etil alkol kaynaklı gastrik hasar üzerine etkisinin, ülser indeksi ve inhibisyonu % gösterilmiştir. AEE-100, 250 ve 500 mg/kg, ülser oluşumunu sırasıyla 67.02, 67.49 ve 81.02 oranında inhibe etmiştir. AEE-500 mg/kg dozu, etil alkol grubundan istatistiksel olarak ($p<0.05$) farklı en yüksek inhibisyonu göstermiştir (Çizelge 4.4). Pozitif kontrol olarak Fam-20 mg/kg ve Que-75 mg/kg, etil alkol kaynaklı gastrik lezyonlara karşı sırasıyla % 76.29 ve % 72.40'lık bir inhibisyonu oluşturmuş ve AEE-500 mg/kg'dan daha düşük çıkmıştır.

Çizelge 4.4 Ülser indeksi ve %'de İnhibisyon

	Ülser indeksi	İnhibisyon (%)
AEE-500	5.26 ± 2.4 ^a	81.02
AEE-250	9.01 ± 3.9 ^a	67.49
AEE-100	9.14 ± 3.5 ^a	67.02
Fam-20	6.57 ± 2.7 ^a	76.29
Que-75	7.65 ± 4.4 ^a	72.40
Etil alkol	27.72 ± 4.7	-
Sham	0	-

^a: Etil Alkol'den farklıdır ($p<0.001$)



Şekil 4.1 Mide örneklerinde ülser alanlarının görünümü

a)AEE-500 mg/kg grubu b) AEE-250 mg/kg grubu c) AEE-100 mg/kg grubu d) Fam-20 mg/kg grubu e) Que-75 mg/kg grubu f) Etil alkol grubu

Mide doku örneklerinde analiz edilen MDA ve GSH seviyeleri Çizelge 4.5 de gösterilmektedir. Gruplar arasında MDA değerlerine bakıldığında AEE-500,250, 100 ve Que-75 grupları ile etil alkol grubu arasında $p<0.01$ düzeyinde anlamlı bir farklılık bulunmuştur. Ayrıca Fam-20 grubu etil alkol grubu ile karşılaştırıldığında $p<0.05$ düzeyinde farklılık bulunur. GSH seviyelerine bakıldığında bütün gruplar ve etil alkol grubu arasında $p<0.001$ düzeyinde anlamlı farklılık bulunmuştur.

Çizelge 4.5 Doku MDA ve GSH seviyeleri

	MDA (nmol/mg doku)	GSH (nmol/g doku)
AEE-500	16.89 ± 1.5^b	116.46 ± 4.8^c
AEE-250	16.98 ± 1.1^b	115.63 ± 4.9^c
AEE-100	17.76 ± 2.8^b	113.73 ± 4.4^c
Fam-20	18.68 ± 2.7^a	114.01 ± 3.3^c
Que-75	17.43 ± 1.6^b	116.31 ± 4.4^c
Etil alkol	22.21 ± 2.7	96.39 ± 5.5
Sham	15.88 ± 1.3^c	138.21 ± 3.8^c

^a: Etil Alkol'den farklıdır ($p<0.05$)

^b: Etil Alkol'den farklıdır ($p<0.01$)

^c: Etil Alkol'den farklıdır ($p<0.001$)

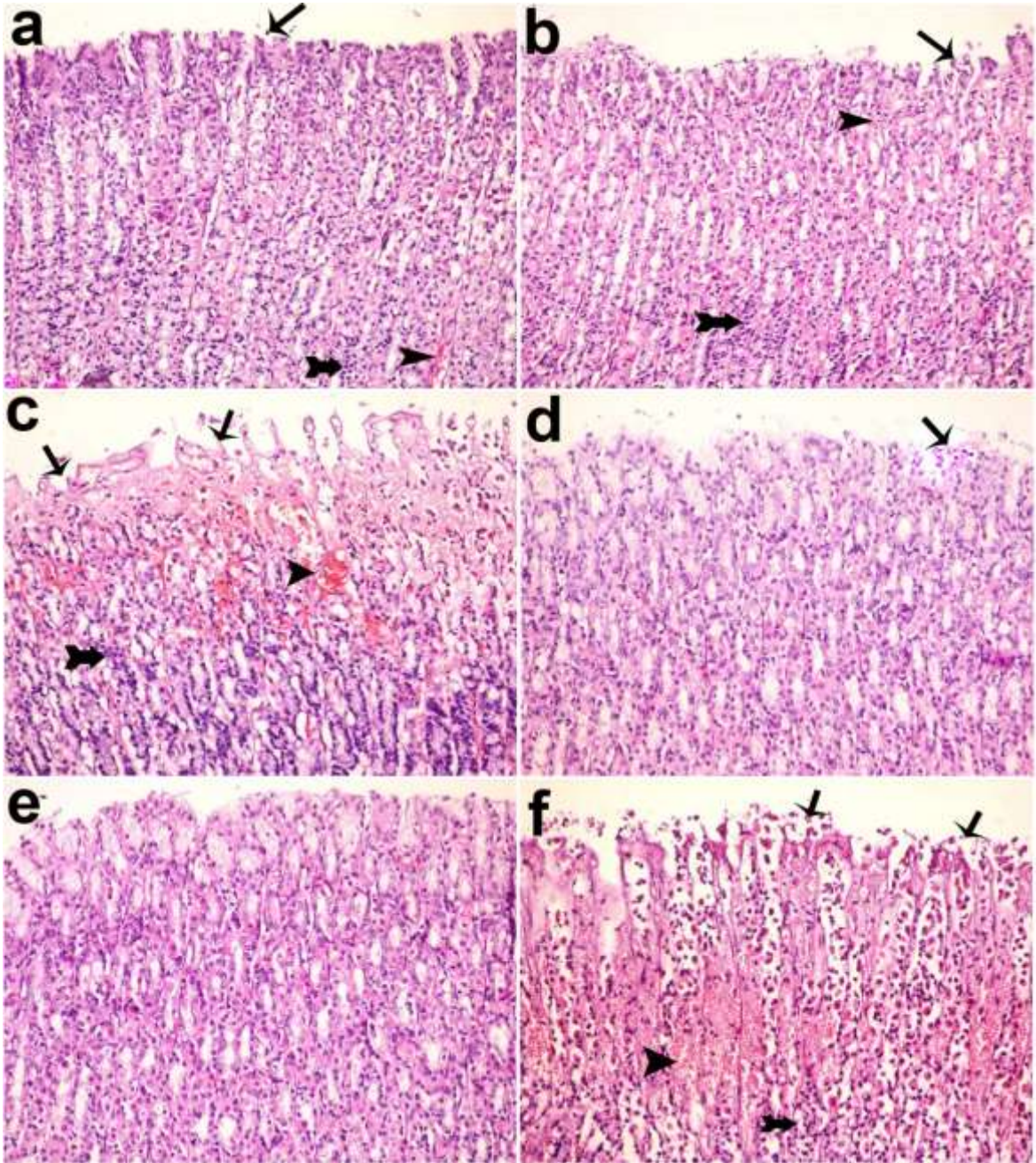
4.2 Histopatolojik bulgular

Etil alkol tarafından gerçekleştirilen mukozal gastrik hasarı sonucu, mide mukozasında yapılan histolojik incelemelerde hemorajik, mukozal / submukozal ödem, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve mukozal epitel hücre kaybı tespit edilmiştir (Tablo 2, Şekil 1). Çizelge 4.6 ve Şekil 4.2’de gösterildiği üzere AEE’nin, 500 mg/kg dozunun etil alkol grubu ve 100 mg/kg doz grubu ($p<0.05$) ile karşılaştırıldığında ödem, hemoraji ve inflamasyonu önemli derecede azalttığı görülmektedir. Hemoraji ile ilgili AEE-500 mg/kg doz grubu AEE-250 mg/kg, Fam-20 mg/kg ve Que-75 mg/kg grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Çizelge 4.6 AEE-100, 250, 500 mg/kg, Fam-20 mg/kg and Que-75 mg/kg dozlarının mukozal ödem, hemoraji, inflamasyon ve epitel hücre erozyonu üzerine etkileri

	Mukozal ödem	Hemoraji	İnflamasyon	Epitel hücre erozyonu
AEE-500	0.7 ± 0.5^a	0.5 ± 0.2^a	0.7 ± 0.3^a	0.7 ± 0.1^a
AEE-250	0.8 ± 0.07^a	1.0 ± 0.3^a	1.1 ± 0.2	0.9 ± 0.7^a
AEE-100	2.3 ± 1.0	2.1 ± 0.5	1.3 ± 0.4	2.3 ± 0.4
Fam-20	0.9 ± 0.2^a	0.5 ± 0.1^a	0.2 ± 0.1^a	1.0 ± 0.7^a
Que-75	1.0 ± 0.5^a	0.8 ± 0.4^a	0.6 ± 0.2^a	1.3 ± 0.5^a
Etil alkol	2.5 ± 0.8	2.2 ± 0.2	1.7 ± 0.3	2.9 ± 0.7
Sham	0	0	0	0

^a: Etil Alkol’den farklıdır ($p<0.05$)

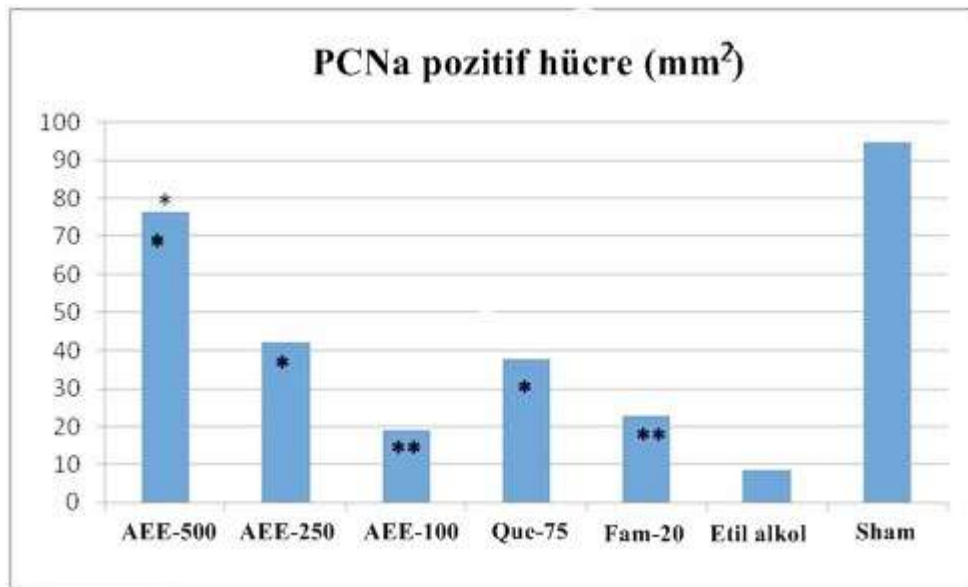


Şekil 4.2 Gastrik mukozanın histolojik görünümü.

Yaklaşık normal mukoza görünümü, AEE-500 (a) ve AEE-250 (b); hemoraji, epitel ülserasyon ve çok ödem AEE-100 (c); azalan ülserasyon, hemoroji ve inflamasyon (d) Fam-20 ve (e) Que-75 grupları; fazla epitel ülserasyonu, hemoraji, inflamasyon ve ödem (f) etil alkol grubu. (H&E; Büyütme: 200X). İnce oklar: epitelyal ülserasyon; ok uçları: Kanama; Kalın Oklar: İnflamatuar hücreler.

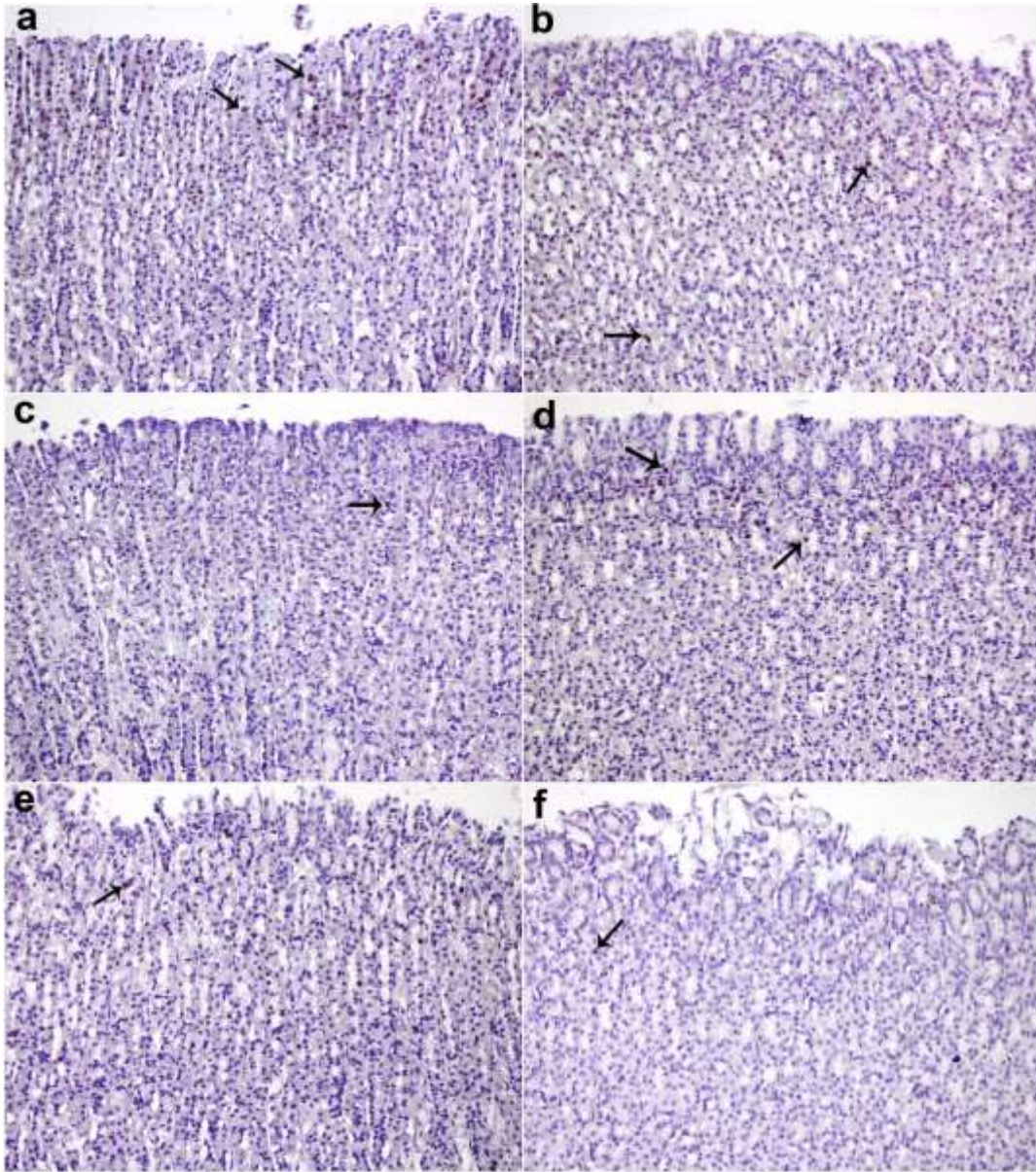
4.3 İmmünohistokimyasal Bulgular

Etil alkol ile indüklenen mide ülseri modelinde elde gastrik dokuların immünohistokimyasal lokalizasyonu için PCNA antikoru kullanılmıştır. Etil alkol grubunda, epitel tabakasının yok edilmesi nedeniyle reaktivite görülmemiştir, fakat ülsere bitişik tabakada minimal aktivite gözlemlenmek muhtemeldir (Şekil 4.3). AEE, Fam veya Que farklı dozları uygulanan sıçanlarda, işaretli PCNA pozitif çekirdeklerde değişen yoğun aktivite gözlemlendi. AEE-500 ve 250 mg/kg gruplarında pozitif çekirdeklerin boyanması diğer gruplara göre daha yüksek bir yüzdesi göstermiştir. Bu durum AEE tedavisinin mide mukozal bölgesinde hücre proliferasyonunu anlamlı bir şekilde arttırdığını ve iyileşmeyi sağladığını düşündürmektedir (Şekil 4.4).



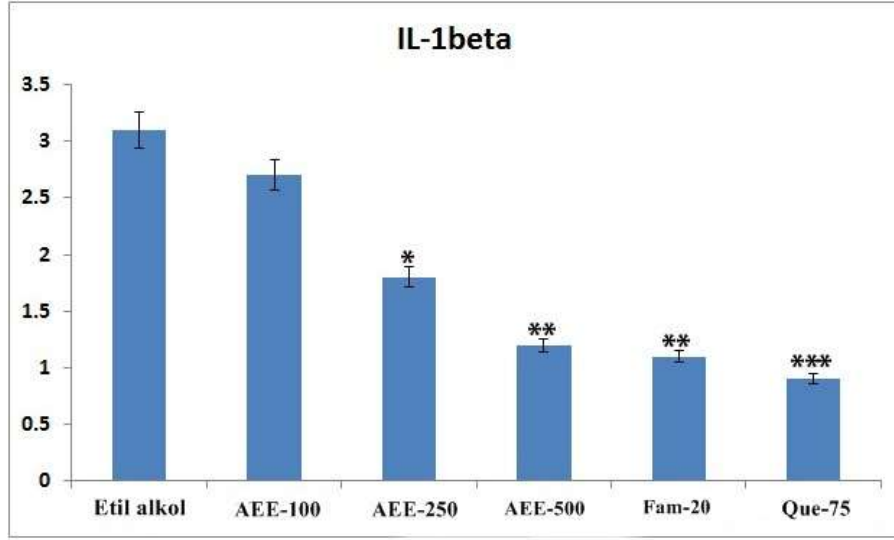
Şekil 4.3 PCNA pozitif hücre dağılımı

PCNA pozitif hücre yoğunluğu etil alkol grubunda en az; özellikle AEE-500 grubu başta olmak üzere bütün gruplarda önemli olarak artı. *: $p < 0.001$; etil alkol ile karşılaştırıldığında; **: $p < 0.05$ etil alkol ile karşılaştırıldığında.



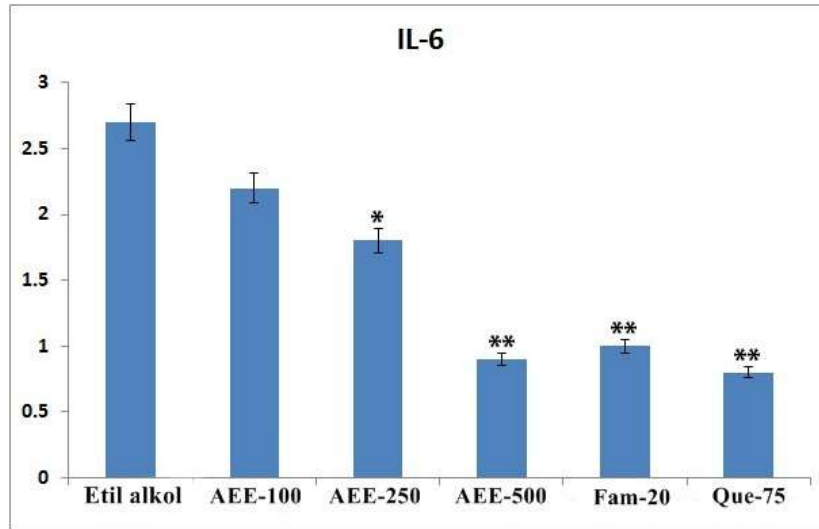
Şekil 4.4 PCNA-pozitif hücre sayısı

AEE-500 grubunda yoğun (sham hariç); en az bir grup tespit edilmiştir. (a) AEE-500; (b) AEE-250; (c) AEE-100, (d) Fam- 20; (e) Que-75 and (f) etil alkol grupları. Oklar: PCNA pozitif hücreler. Büyütmeler: 200X



Şekil 4.5 Tüm gruplarda IL-1 Beta değerleri

*: $P < 0.05$; Ethanol ve AEE-100 grubu karşılaştırıldığında, **: $p < 0.05$; Ethanol, AEE-100 ve AEE-250 grubu karşılaştırıldığında, ***: $p < 0.05$; Ethanol, AEE-100, AEE-250, AEE-500 ve Fam-20 grupları karşılaştırıldığında.

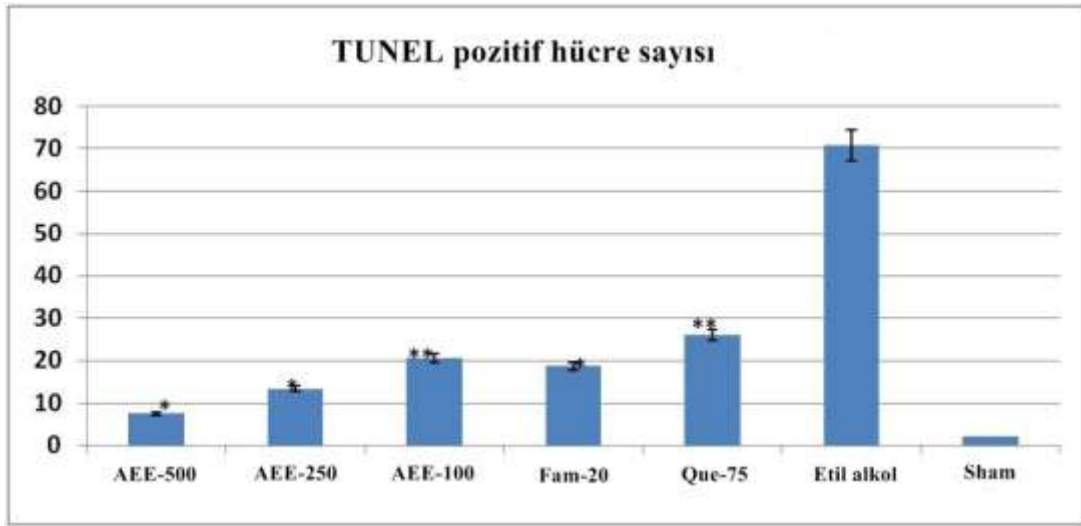


Şekil 4.6 Tüm gruplarda IL-6 değerleri

*: $p < 0.05$; Etil alkol and AEE-100 grubu karşılaştırıldığında, **: $p < 0.05$; Etil alkol, AEE-100 ve AEE-250 grupları karşılaştırıldığında.

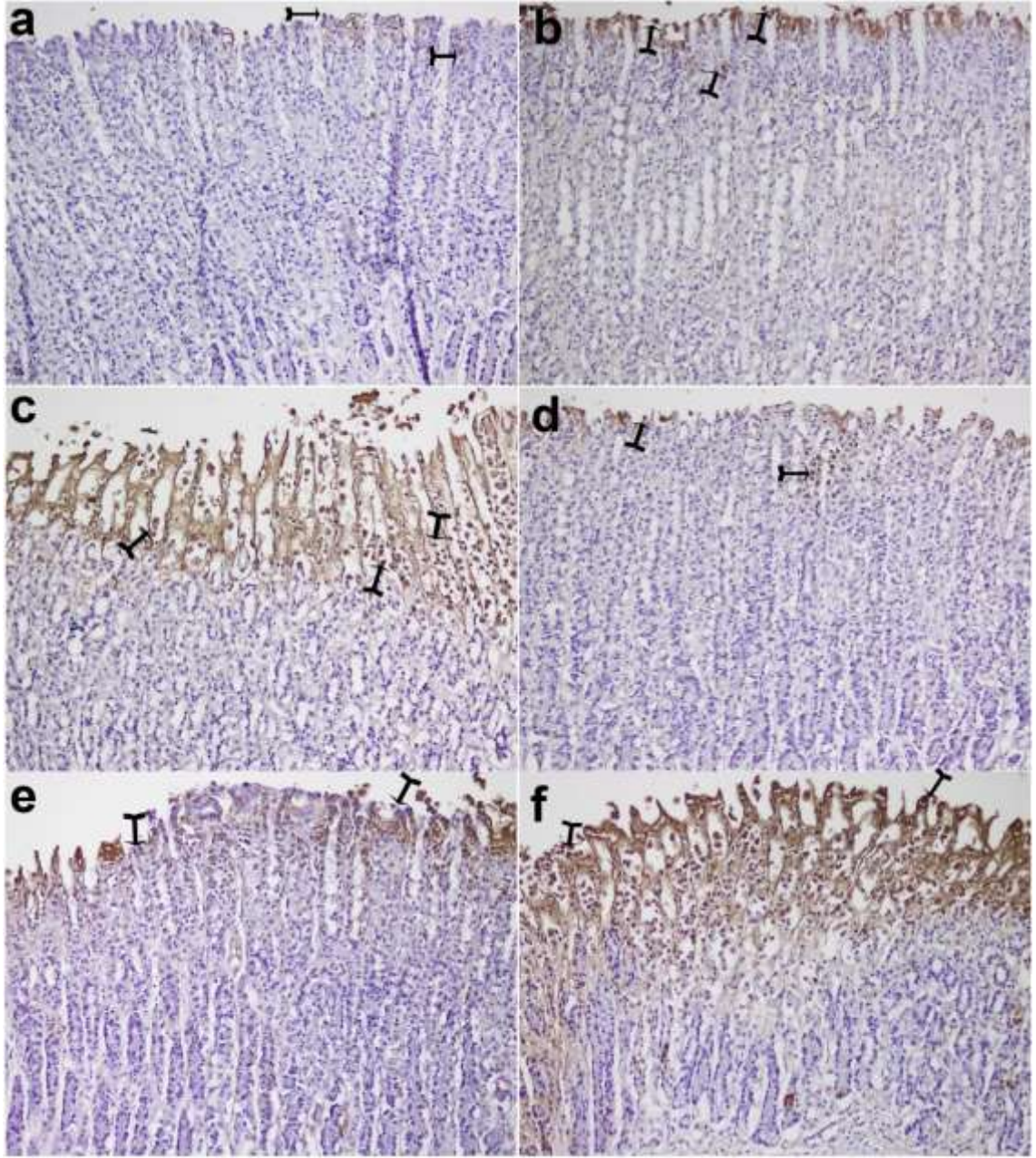
4.4 TUNEL Bulguları

Sham grubunda birkaç TUNEL-pozitif hücreleri gözlemlenmiştir. Etil alkol grubunda TUNEL-pozitif hücrelerinin sayısı sham grubuna göre çok fazla artmıştır. AEE -500, 250 mg/kg ve Fam-20 mg/kg doz uygulaması sonucu TUNEL-pozitif hücrelerinin sayısı etil alkol grubuna ile kıyaslandığında önemli bir azalma görülmüştür (Şekil 4). Bunun yanı sıra TUNEL-pozitif hücrelerinin sayısı AEE-100mg/kg ve Que- 75mg/kg gruplarında etil alkol grubuna ($p<0.05$) göre daha az bulunmaktadır (Şekil 5) .



Şekil 4.7 TUNEL pozitif hücre dağılımı

TUNEL pozitif hücre sayısı etil alkol grubunda çok yüksek, fakat tedavi gruplarında önemli derecede azaldı. *: $p<0.001$; etil alkol ile karşılaştırıldığında; **: $p< 0.05$ etil alkol ile karşılaştırıldığında.



Şekil 4.8 TUNEL sonuçları

Normal mukoza görünümüne yakın ve minimal TUNEL-pozitif hücre gözlemlendi (a ve b). TUNEL-pozitif hücre varlığı etil alkol grubunda (f), AEE-100, Fam-20 ve Que-75 gruplarında TUNEL-pozitif hücre orta miktarda tespit edildi (c, d ve e, sırasıyla). (a). AEE-500; (b). AEE-250; (c) AEE-100, (d) Fam-20; (e) Que-75 ve (f) etil alkol grupları. Ok: TUNEL –pozitif hücre. Büyütme: 200X.

4.5 ICP-OES Bulguları

Mide dokusunda analiz edilen element seviyeleri aşağıda Çizelge 4.7 de verilmiştir. Kalsiyum, Bakır, Demir ve Selenyum elementi ölçümünden elde edilen verilere göre AEE-500 mg/kg grubu etil alkole göre istatistiksel olarak $p<0.05$ oranında anlamlı bulunmuştur. Potasyum ve Sodyum elementi ölçümlerinde gruplar arasında anlamlı istatistiksel fark bulunamamıştır. Mangan elementi ile ilgili AEE-100, 250, 500 mg/kg ve Fam-20 mg/kg grupları ile etil alkol karşılaştırıldığında $p<0.001$ oranında istatistiksel farklılık bulunmuştur. Çinko elementi sonuçları değerlendirildiğinde AEE-250, 500 mg/kg gruplarının etil alkole göre sırasıyla $p<0.05$ ve $p<0.01$ oranında farklılık bulunmuştur.

Çizelge 4.7 Çalışma grupları mide dokusunda bioelement konsantrasyonları (µg/g doku)

Element	Etil alkol	AEE-100	AEE-250	AEE-500	Fam-20	Que-75	Sham (Control)
Kalsiyum (Ca)	111.67 ± 31.9	113.14 ± 34.5	124.17 ± 26.3	160.86 ± 21.9 ^a	104.67 ± 42.5	69.00 ± 11.5	120.17 ± 27.4
Bakır (Cu)	0.83 ± 0.2	1.09 ± 0.2	0.94 ± 0.1	1.22 ± 0.1 ^a	0.81 ± 0.2	0.61 ± 0.2	1.41 ± 0.5 ^b
Demir (Fe)	16.83 ± 2.1	19.63 ± 3.6	17.22 ± 1.7	21.18 ± 2.7 ^a	16.11 ± 1.4	13.91 ± 3.2	20.97 ± 2.1 ^a
Potasyum (K)	907.85 ± 135.9	831.802 ± 58.9	941.37 ± 99.2	1018.93 ± 105.1	1025.62 ± 139.2	890.56 ± 125.4	1199.14 ± 141.6
Magnezyum (Mg)	91.01 ± 14.8	81.59 ± 8.8	83.56 ± 9.9	100.26 ± 7.8	91.70 ± 14.4	79.08 ± 15.5	118.64 ± 4.5
Mangan (Mn)	0.22 ± 0.1	0.46 ± 0.1 ^c	0.54 ± 0.1 ^c	0.57 ± 0.1 ^c	0.56 ± 0.1 ^c	0.25 ± 0.1	0.31 ± 0.0 ^a
Sodyum (Na)	1112.23 ± 80.2	1018.74 ± 89.2	1100.05 ± 76.9	876.10 ± 56.1	956.32 ± 111.9	809.21 ± 144.2	861.43 ± 67.6
Çinko (Zn)	7.38 ± 1.3	10.70 ± 1.4	11.82 ± 2.9 ^a	14.11 ± 2.1 ^b	10.20 ± 2.2	8.09 ± 1.8	11.27 ± 2.3 ^a
Selenyum (Se)	1.33 ± 0.2	1.46 ± 0.2	1.59 ± 0.2	1.74 ± 0.2 ^a	1.54 ± 0.3	1.42 ± 0.3	1.81 ± 0.2 ^b

^a: Etil Alkol'den farklıdır (p < 0.05)

^b: Etil Alkol'den farklıdır (p < 0.01)

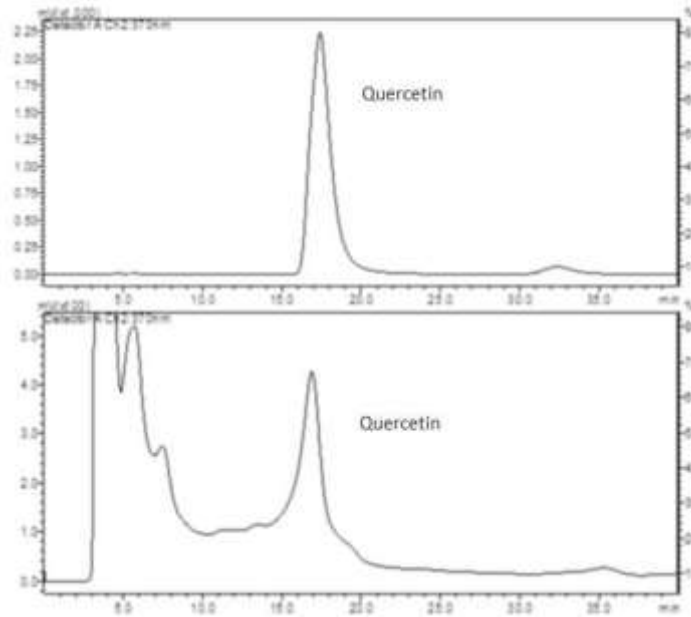
^c: Etil Alkol'den farklıdır (n < 0.001)

Çizelge 4.8 *Abelmoschus esculentus* L. ekstraktının mineral içeriği

Element	AEE (µg/g)
Alüminyum (Al)	169.2 ± 0.3
Bor (B)	0.44 ± 0.01
Berilyum(Be)	0.17 ± 0.01
Baryum(Ba)	11.82± 0.3
Kobalt(Co)	14.76± 0.1
Kalsiyum (Ca)	4460.0 ± 12.6
Bakır (Cu)	145.1 ± 0.2
Demir (Fe)	124.0 ± 3.1
Lityum(Li)	23.41± 1.2
Magnezyum (Mg)	830.6 ± 17.8
Mangan (Mn)	8.26 ± 0.05
Nikel (Ni)	0.15± 0.2
Kurşun (Pb)	N.D
Selenyum (Se)	2.90 ± 0.2
Gümüş (Ag)	N.D
Tellurium (Te)	0.008 ± 0.001
Çinko (Zn)	462.4 ± 1.6

4.6 RP-HPLC Bulguları

Standart quercetin ve *Abelmoschus esculentus* L. ekstraktı içinde bulunan quercetin miktarının hesaplanması için HPLC analizi yapıldı. Elde edilen kromatogramlar Şekil 4.9'da verilmektedir. HPLC 'deki pik alanları kıyaslanarak Standart quercetin pik alanı/AEE quercetin pik alanı=Standart quercetin miktarı/AEE quercetin miktarı hesaplanmıştır. Yapılan hesaplamalara göre 20 µl de bulunan Standart quercetin ve AEE quercetin miktarı sırasıyla 4.40 mg ve 0.3 mg olarak belirlenmiştir. Bu hesaplamalardan yola çıkarak deneyde kullandığımız 500, 250 ve 100 mg/kg AEE dozlarında sırasıyla yaklaşık olarak 7.5 mg, 3.75 mg, 1.5 mg quercetin miktarı hesaplanmıştır.



Şekil 4.9 RP-HPLC analizi

a)Standart quercetin b) *Abelmoschus esculentus* L. ekstraktının içinde ayrılan quercetin

BÖLÜM 5

TARTIŞMA

Abelmoschus esculentus L. gibi çeşitli tıbbi bitkiler, dünyanın birçok bölgesinde muhtemel terapötik yararları nedeniyle artan bir ilgi görmüştür [3-5,9]. Bu çalışmada, *Abelmoschus esculentus* L.'nin antiülser etkisi sıçanlarda etil alkol kaynaklı bir ülser modeli kullanılarak araştırılmıştır. Çalışmada *Abelmoschus esculentus* L.'nin oksidan ve nonenzimatik antioksidanlar üzerindeki etkisi ve ayrıca ülser indeksi, mide doku element düzeyleri, ülser inhibisyonu, mukozal ödem, kanama, inflamasyon, mukoza dokusunun epitel erozyonu, interlökin markerlar, hücre proliferasyonu ve apoptozu değerlendirildi.

Bu çalışmanın deneysel sonuçları, *Abelmoschus esculentus* L.'nin, kullanılan tüm dozlarda etil alkol kaynaklı ülser lezyonlarını önemli ölçüde azalttığını gösterdi. Bu çalışmadaki immünohistokimyasal analiz sonucunda TUNEL pozitif apoptotik hücre miktarının önemli ölçüde azaldığını ve PCNA hücrelerinin AEE-500, 250 mg/kg dozlarında tedavide arttığını göstermektedir. Biyokimyasal, histopatolojik, mikroskopik ve makroskopik sonuçlar, *Abelmoschus esculentus* L. tedavisinin mide ülserlerine karşı korunduğunu göstermektedir.

Abelmoschus esculentus L. gastroprotektif etkisi muhtemelen quercetin (Que) gibi polifenolik ve flavonoid bileşenlerin varlığına bağlıdır [152-154]. Quercetin'in gastroprotektif etkinliği farklı hayvan çalışmalarında bildirilmiştir ve çoğu araştırmacı olası çoklu mekanizmalarına odaklanmıştır [152,153,156,157,171].

Bir başka çalışmada, Que'nin *H. pylori* ile infekte mide mukoza hücreleri tarafından indüklenen DNA hasarını koruduğu bildirilmiştir [172]. Que alımının gastrik kanser riski ile kuvvetle negatif ilişkili olduğu belirtilmiştir [173-174].

Çalışmamızda *Abelmoschus esculentus* L. ekstraktı içinde bulunan quercetin varlığını belirlemek için yapılan analiz sonucunda 20 µL ekstrak içinde 0.3 mg/mol quercetin bulunmuştur. Çalışmada kullanılan AEE dozlarının yapısındaki quercetin miktarı 500, 250 ve 100 mg/kg'da sırasıyla yaklaşık olarak 7.5 mg, 3.75 mg, 1.5 mg olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlar *Abelmoschus esculentus* L.'nin gastroprotektif etkisinin sadece quercetinden değil, zengin içerik bileşiminden kaynaklandığını göstermektedir.

Etil alkol ile indüklenen gastrik mukozal hasar, potansiyel anti-ülser aktivitesine sahip ajanların klinik öncesi değerlendirilmesinde genellikle kullanılan önemli bir deney modeli olup, insanlarda mide ülseri için önde gelen bir neden olarak kabul edilmektedir [175]. Etil alkol kanama, ödem, inflamatuvar infiltrasyon ve epitel hücre kaybı gibi patofizyolojik değişikliklerle karakterizedir [3-5,9].

Bu çalışmanın sonuçları, tek bir etil alkol dozunun sıçanlarda akut mide kanaması ve hemorajik lezyonlara neden olduğunu göstermektedir (Şekil 4.2). *Abelmoschus esculentus* L. dozları verilen gruplarda ise, gastrik dokuda kanama, ödem, nekroz, inflamatuvar ve displastik değişiklikler, erozyon ve ülserasyon şeklinde histopatolojik değişiklikleri önlenmiştir (Şekil 4.2-4.8).

Apoptoz, programlanmış hücre ölümü, büyüme sırasında homeostazı koruyan önemli bir mekanizma olup hayvan ve insan organizmalarındaki harici uyarılara karşı bir tepkidir. Arab ve ark. (2015), etil alkol kaynaklı ülserin, mide mukozasında apoptozu artıran caspaz-3 aktivitesini artırdığını ileri sürmüştür [176].

Bizim çalışmamızda, bir takım apoptotik hücreler 500, 250 mg/kg *Abelmoschus esculentus* L. ile tedavi edilen hayvanlarda önemli ölçüde azalmıştır. Literatür değerlendirmelerine paralel olarak çalışmamızda tedavi gruplarında apoptotik hücrelerdeki azalmanın *Abelmoschus esculentus* L.'nin zengin içeriğinden kaynaklandığı söylenebilir.

Etil alkol kaynaklı gastrik mukozal hasarın patogenezinde ROS'un rol oynadığını belirtmiştir [2,5,9]. ROS, mitokondriyal solunum sırasında normal ürünler olarak

Üretilen elenmemi moleküllerdir ve canlı organizmalardaki farklı redoks reaksiyonlarını katalizlemek için peroksizomlardan ROS retimi birikir [177,178]. Bu durum hücre antioksidan sistemini atığında, oksidatif stres oluşur [179].

Hücresel membrana karşı ROS reaksiyonunun sonucu olan lipid peroksidasyonu, MDA gibi aşırı lipid peroksidasyon ürünleri üretir ve oksidatif mide hasarına neden olur. MDA, lipid peroksidasyon seviyelerini belirlemek için kullanılır. Gastrik ülser ile artmış MDA seviyeleri arasında bir ilişki olduğu ve etil alkolun neden olduğu gastrik doku yaralanmalarının ardından MDA üretiminin arttığını bildirmiştir [2,14].

M. pruriens'in gastroprotektif etkisi üzerine yapılan deneysel bir çalışmada, *M.pruriens*'in antioksidan üretimini arttırdığı ve ilgili n işleme tabi tutulmuş gruplarda MDA düzeyini düşürdüğü gösterilmiştir [5]. Bu çalışmada da literatüre benzer olarak tüm *Abelmoschus esculentus* L. dozları MDA düzeylerini belirgin olarak drmtir (p <0.001) (izelge 4.1, 4.5). Bu bulgu, *Abelmoschus esculentus* L.'nin antioksidan seviyesini ve polisakkarit ieriğininin; serbest radikal temizleme aktivitesi ve lipid peroksidasyonunu azaltma yeteneği olduğunu vurgulamaktadır.

GSH, önemli bir enzimatik olmayan sitosolik antioksidan olan bir tripeptittir ve bazı antioksidan enzimler için indirgeyici/kofaktör görevi görür [171,180]. Yapılan bir çalışmada zerumbonun endojen antioksidan GSH'de belirgin bir artıa lipid peroksidasyon seviyesinin azalması eşlik ettiğini bildirmiştir [152].

Çalışmamız da Fam-20 mg/kg, Que-75 mg/kg ve AEE-100, 250, 500 mg/kg ile yapılan tüm tedavilerin GSH içeriğini arttırdığını gösterilmiştir. Fam mide ülseri tedavisinde kullanılan ticari bir ilaçtır. nceki alımalarda Fam'ın etil alkol kaynaklı ülserin inhibisyonunda önemli rol oynadığını ortaya konulmuştur [2,14]. Öte yandan, Fam ve Que kombinasyonu ile tedavi, GSH düzeylerinin azalmasını önemli ölçüde engelleyerek gastrik dokunun, tedaviden sonra normal GSH düzeylerine geldiği bildirilmiştir [158].

Çalışmamızda, AEE-500 mg/kg tedavi grubu Fam-20 mg/kg tedavisi ile karşılaştırıldığında GSH düzeylerinde anlamlı bir artış gözlenmiştir (izelde 4.1,4.5). Bulgularımız, AEE-500 mg/kg gastroprotektif etkisinin Fam-20 mg/kg'dan yüksek olduğunu göstermiştir.

Serbest oksijen radikallerinin meydana getirdiği etkilerin giderilmesi için vücut savunma sistemi geliştirmiştir. Antioksidan savunma sistemi adı verilen bu sistem, fizyolojik veya çevresel olarak meydana getirilen serbest oksijen radikallerini ortadan kaldırmaktadır. SOD, CAT, GPx oksijen radikallerinin yapmış olduğu hasarı önlemeye yardım eden enzimatik savunma sistemlerinin başında gelir [181,182].

SOD, hücrelerdeki hasarın korunması için aşırı süperoksit radikalleri temizleyen, önemli enzimlerin bir enzimidir [183]. Gastrik mukozanın hasar seviyesi, SOD seviyesinin azalmasıyla belirlenebilir [184]. Serbest radikallerin hücre zarlarında hareket etmesi sonucunda lipid peroksidasyon reaksiyonunu başlar ve MDA seviyesi yükselir. Bütün bu değişiklikler, epitel hücresinde denatürasyona, hücre geçirgenliğinde artışa ve ülser oluşumunda ivmelenmeye neden olur. Bu nedenle, MDA ölçümü ile birlikte, SOD aktivite tayini, lipid peroksidasyonu ve süperoksit radikallerinin neden olduğu gastrik lezyonun ciddiyetini ortaya çıkarmak için bir belirteç olarak kullanılır [185-188].

Literatür çalışmalarında gastrik lezyonda SOD aktivitesi azaldığında MDA konsantrasyonunun buna ters orantılı olarak arttığı belirtilmiştir [189]. Ma ve Liu (2014)'nın *Conyza blinii* bitkisini etil alkol ile indüklenen ülser üzerine etkisini araştırdığı çalışmada SOD değerleri artarken, MDA seviyelerinin azaldığını belirtmişlerdir. Ayrıca MDA ve SOD'un mukozal hasarı belirlemede altın standart olabileceği vurgulanmıştır [190]. Yaptığımız çalışmada ise literatüre paralel olarak doku ve kan numunelerinde MDA oranlarının azaldığı; buna orantılı olarak da SOD aktivitesinin arttığı görölmektedir.

CAT, peroksil radikalının su gibi biyolojik açıdan güvenli maddelere hızla dönüşmesini tetiklemektedir. H. erinaceus'un sulu ekstraktıyla kullanılarak etil alkol ile indüklenen sıçanların gastrik dokusunda SOD ve CAT seviyelerinin arttığı belirtilmiştir. Ayrıca SOD ve CAT seviyelerinin artmasının tedavi sonucunda serbest radikallerin nötralize edilmesi ile bağlantılı olduğu vurgulanmıştır [191]. Curcumin etken maddesi artmış lipid peroksidatif hasarı hafifletebilir ve gentamisine bağlı oksidatif stres sırasında renal hasarın ve idrar boşaltma indekslerinin belirteçleri olan GSH, GSH-Px ve CAT aktivitelerinin tükenmesini önleyebilir [192]. Bizim çalışmamızda da benzer olarak tedavi gruplarında CAT ve GPx enzimi seviyelerinde belirgin bir artış görölmüştür.

Etil alkol doğuştan gelen bağışıklık sistemini uyarak IL-6, IL-1 β ve TNF- α gibi pro-inflamasyon sitokinlerinin salınmasına neden olabilir [193,194]. H₂O₂ stimülasyonu, aşırı derecede ROS'a neden olur. Ayrıca, inflamasyon mediatörlerinin inhibisyonu gastrik ülserin iyileşmesi için yararlı olduğu belirtilmiştir [174]. Proinflamatuvar sitokinler, özellikle TNF- α , gastrik ülser dâhil olmak üzere çeşitli dokularda inflamasyon, hasar ve karsinogenez gelişiminde agresif faktörlerden biridir [195].

TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, ve IL-12 gibi diğer sitokinlerin salınımının gerçekleşmesi için NF- κ B yolağının aktive eder [196]. IL-1 β nihai olarak inflamatuvar mediatörlerin salınmasına ve nötrofillerin birikimine neden olan başka bir sitokindir. IL-6, IL-1 β ve TNF- α seviyeleri gastrik mukozal inflamasyon şiddeti ile ilişkilidir [197,198]. Pleiotropik işlevleri olan temsili bir enflamasyonlu sitokin olan IL-1 β , iltihaplanma sürecinde önemli bir rol oynamaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, IL-1 β 'nın şiddetli mukozal inflamasyonda olumsuz etkilere sahip olduğunu bulmuştur [199].

Etil alkol kaynaklı mide ülseri üzerine 28 günlük ginseng tedavisi yapılan ratların gastrik lezyonlarda IL-1 β üretimini belirgin bir şekilde inhibe edildiği bildirilmiştir [191]. Yapılan bir çalışmada, salidroside ile tedavi edilen gastrik lezyonlarda IL-6, IL-1 β ve TNF- α üretimini baskılanmış inflamasyon semptomlarını belirgin derecede azaldığı görülmüştür. Bizim çalışmamızda ise özellikle AEE-500 mg/kg uygulanan gruplarda IL-6, IL-1 β seviyelerinin etil alkol hrubuna göre önemli derecede azaldığı görülmüştür. Buna bağlı olarak tedavi grupları ve etil alkol grubu ile karşılaştırıldığında dokularda gastrik hasardan dolayı oluşan hemoroji, ödem, inflamasyon ve epitel hücre kayıpları da azalmalar görülmüştür. Bu sonuçlar kullanılan *Abelmoschus esculentus* L. ekstresinin dokularda IL-6, IL-1 β sitokinlerinin salgılanmasını önemli derecede engellediğini ortaya koymaktadır.

Çinko, hücre aracılı bağışıklık işlevlerinde önemli bir role sahiptir ve ayrıca bir antioksidan ve anti-inflamatuvar ajan olarak işlev görür. Çinko eksikliğinin sıçan karnındaki gastrik salgı hacmi, asit ve pepsini yavaşlatarak, ülserasyon oluşturu ve glandüler ülserasyon oluşumunu önemli ölçüde arttırdığı gösterilmiştir [200]. Bir çinko bileşiğinin uygulandığı etil alkol kaynaklı ülserde TNF- α ve IL-6 üretimini azaltarak gastroprotektif etkinlik gösterdiği belirtilmiştir [175]. Çalışmamızda dokulardaki çinko

elementinin etil alkol grubunda azaldığı, fakat AEE-250, 500 mg/kg tedavi gruplarında önemli bir şekilde arttığı görülmektedir.

Hücrelerdeki biyo-elementlerin fonksiyonları genellikle karmaşıktır. Enzimler bir protein yapısına sahiptir ve manganez (Mn), Zn, Cu, Fe ve Se gibi eser elementleri içerir. İz elementler arasında, Se birincil antioksidan enzim ailesi olarak GPx'in vazgeçilmez bir bileşenidir; Mn, Cu ve Zn ise Mn SOD ve Cu-Zn SOD'un yapısal bileşenleri olup Fe de CAT'in bir parçasıdır [192].

Bununla birlikte çalışmamızda, etil alkol grubunda mide dokusunda Mn, Cu ve Zn element seviyelerinin tedavi gruplarına göre daha düşük bulundu. Dahası, AEE uygulaması, etil alkol grubuna kıyasla, tedavi gruplarındaki mide dokularında Mn, Cu ve Zn element konsantrasyonlarını arttırmıştır. Ayrıca, eritrosit SOD aktiviteleri etil alkol grubunda grubunda anlamlı olarak azalmıştır. Bu çalışma aynı zamanda Mn, Cu ve Zn'nin artışının eritrosit SOD aktivitesi ile ilişkili olduğunu da göstermiştir.

Se, normal sağlık ve üreme için hayati önem taşıyan selenoproteinlere dâhil edilir. İmmün uygunluk, testosteron ve tiroit hormonu metabolizması için gereklidir. Se ayrıca yapısal ve enzimatik roller oynar. Selenoenzimlerin önemli bir parçasıdır. Se'nun bilinen en iyi biyolojik aktivitesi, selenoenzim GPx'dir. Ayrıca eksikliğinde eksiklik, kardiyovasküler hastalık, duygudurum bozuklukları ve kansere yatkınlığın yanı sıra bağışıklık ve antioksidan işlev üzerinde etkiye sahiptir [201].

Çalışmamızda ise Se elementi AEE-500 mg/kg tedavi grubunda etil alkol grubu ile kıyaslandığında anlamlı bir şekilde artış göstermiştir. Benzer olarak GPx enzimi de AEE tedavi gruplarında etil alkol grubuna göre önemli derecede artış göstermiştir. Bu sonuçlar GPx ve Se elementi arasındaki korelayonu göstermektedir.

Fe normal fizyolojik işlev için gereklidir. Hemoglobin, miyoglobin ve CAT gibi birtakım metaloenzimlerin bir bileşenidir. Vücutta demirin % 30'u dalak, karaciğer ve kemik iliğinde ferritin ve hemosiderin gibi saklama formlarında bulunur. Küçük bir miktar kan nakil proteini transferrin ile ilişkilidir [202]. Yaptığımız çalışmada etil alkol grubunda Fe ve CAT seviyeleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında azaldığı görülmüştür. Fakat AEE-500 mg/kg dozu uygulanan grup etil alkol grubu ile karşılaştırıldığında Fe ve CAT seviyelerinde artış görülmektedir.

Askorbik asit, retinol ve β -karoten gibi enzimatik olmayan antioksidanlar, ROS tarafından üretilen oksidatif hasarın azaltılmasında veya yok edilmesinde önemli bir akut ve kronik rol oynamaktadır. Enzimatik olmayan antioksidanlar kendiliğinden bir antioksidan etki yapar (böylece ROS'u temizlerler) ve böylece hücresel zararları çeşitli faktörlerle başlatılan oksidatif strese karşı korurlar [171,179,203].

Retinol, biyolojik sistemlerde de önemli bir antioksidan rol oynamaktadır. Mevcut çalışmamızda, askorbik asit düzeylerinde gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadığı ortaya çıkmıştır. AEE-500 mg/kg grup sıçanlarında serum β -karoten ve retinol konsantrasyonları, etil alkol grubundaki sıçanlardan anlamlı derecede yüksektir.

Bu çalışmada, AEE-500 ve 250 mg/kg dozlarında muamele edilen midelerde çoğalan hücrelerin sayısı, PCNA immünohistokimyasal analizi yoluyla etil alkol grubuna göre çok daha yüksek çıkmıştır (Şekil 4.5). Sonuç olarak, PCNA pozitif hücrelerin sayısındaki artış, *Abelmoschus esculentus* L.'nin etil alkol kaynaklı gastrik ülser modelinde iyileştirici bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir.

Abelmoschus esculentus L.'nin yapılan akut toksistite çalışmaları sonucunda farelerde herhangi bir semptom bulunmamıştır. Ayrıca, bu çalışmada *Abelmoschus esculentus* L. ekstraktının 5000 mg/kg 'a kadar LD50 değeri gözlenmemiştir. Akut toksisite çalışmasında fareler anormal bir bulgu ve diyare göstermemiştir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmada *Abelmoschus esculentus* L.'nin oksidan ve nonenzimatik antioksidanlar üzerindeki etkisi ve ayrıca ülser indeksi, mide doku element düzeyleri, ülser inhibisyonu, mukozal ödem, kanama, inflamasyon, mukoza dokusunun epitel erozyonu, interlökin markerlar, hücre proliferasyonu ve apoptozu değerlendirildi. Elde edilen verilere göre aşağıdaki sonuçlar belirtilmiştir:

- Çalışma gruplarında *Abelmoschus esculentus* L. ekstraktı'nın tüm dozlarında belirgin bir şekilde ülser lezyonlarında azalma görülmüştür.
- Çalışmada tüm *Abelmoschus esculentus* L. dozlarında doku ve kanda MDA düzeylerini belirgin olarak düşürmüştü, buna orantılı olarak da SOD aktivitesinin arttığı görülmektedir
- GSH düzeylerinin azalmasını önemli ölçüde engelleyerek gastrik dokuda, tedaviden sonra normal GSH düzeyleri belirlenmiştir.
- Tedavi gruplarında CAT ve GPx enzimi seviyelerinde belirgin bir artış görülmüştür.
- Bu çalışmadaki immünohistokimyasal analiz sonucunda TUNEL pozitif apoptotik hücre miktarının önemli ölçüde azaldığını ve PCNA hücrelerinin tedavi gruplarında arttığını göstermektedir.
- *Abelmoschus esculentus* L. ekstresinin dokularda IL-6, IL-1 β sitokinlerinin salgılanmasını önemli derecede engelleyerek dokularda gastrik hasardan dolayı

oluşan hemoraji, ödem, inflamasyon ve epitel hücre kayıpları da azalmalar görülmüştür.

- *Abelmoschus esculentus* L.'nin yapılan akut toksistite çalışmaları sonucunda farelerde herhangi bir semptom bulunmamıştır ve 5000 mg/kg 'a kadar LD50 değeri gözlenmemiştir.

Günümüzde ülser önemli bir hastalık olarak karşımıza çıkmaktadır. Hastalığın etkileri ve belirtileri her bireyde farklılık göstermektedir. Tedavisi için kullanılan yöntemler bulunmasına rağmen tedavi bitiminde tekrar nüksedebilmektedir. Bu durum araştırmacıları doğal kaynaklardan antiülser ajanı elde etme çalışmalarına yönlendirilmiştir. Bu çalışmalarda birçok doğal ülser ajanı tanımlanmıştır. Bizim çalışmamızda *Abelmoschus esculentus* L.'nin mide ülseri üzerine gastroprotektif etki gösterdiğinden bir antiülser ajan olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Abelmoschus esculentus L.'nin sahip olduğu zengin içeriğin daha verimli değerlendirilebilmesi için varlığındaki bileşenlerin yüksek verimde izolasyonunun, karakterizasyonunu ve elde edilen değerli bileşenlerin stabilizasyonunun yapılması önerilmektedir. Ayrıca elde edilen içeriğin daha verimli kullanılabilmesi için yapısındaki sekonder metabolitlerin ayrıştırılıp kapsüle edilmesi de önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Choi, E., Hwang, H., ve Kim, I., (2009). "Protective Effects Of a Polysaccharide From *Hizikia Fusiformis* Against Ethanol Toxicity in Rats ", Food Chem Toxicol, 47:134–139.
- [2] Cemek, M., Yılmaz, E. ve Büyükkokuroğlu, ME., (2010). "Protective Effect of *Matricaria chamomilla* on Ethanol-Induced Acute Gastric Mucosal Injury in Rats", Pharm Biol, 48:757–763.
- [3] Jarret, RL., Wang, ML. ve Levy, IJ., (2011). "Seed Oil and Fatty Acid Content in Okra (*Abelmoschus esculentus*) and Related Species", J Agric Food Chem, 59:4019–4024.
- [4] Yesilada, E., Gürbüz, I. ve Toker, G., (2014). "Anti-Ulcerogenic Activity and Isolation Of The Active Principles From *Sambucus Ebulus* L. Leaves, J Ethnopharmacol, 28:478–483.
- [5] Liju, VB., Jeena, K. ve Kuttan, R., (2015). "Gastroprotective Activity Of Essential Oils From Turmeric and Ginger", J Basic Clin Physiol Pharmacol, 26:95–103.
- [6] Dacha, S., Razvi, M., Massaad, J., Cai, Q. ve Wehbi, M., (2015). "Hypergastrinemia", Gastroenterology, 201–208.
- [7] Sheen, E. ve Triadafilopoulos, G., (2011). "Adverse Effects Of Long-Term Proton Pump Inhibitor Therapy", Dig.Dis.Sci, 56,931–950.
- [8] Kangwan,N., Park,J.M., Kim,E.H. ve Hahm,K.B., (2014). "Quality Of Healing Of Gastric Ulcers: Natural Products Beyond Acid Suppression", World J. Gastrointest, Pathophysiol, 5,40–47.
- [9] Sidahmed, HMA., Hashim, NM. ve Abdulla, MA., (2015). "Antisecretory, Gastroprotective, Antioxidant and Anti-*Helicobacter pylori* Activity Of Zerumbone From *Zingiber Zerumbet* (L.) ", Smith. PLoS One, 10:e0121060.
- [10] Al Batran, R., Al-Bayaty, F., Al-Obaidi, M. M. J., Abdualkader, A. M., Hadi, H. A., Ali, H. M. ve Abdulla, M. A., (2013). "In vivo Antioxidant and Antiulcer Activity Of *Parkia speciosa* Ethanolic Leaf Extract Against Ethanol-Induced Gastric Ulcer in Rats", PloS one, 8(5), e64751.

- [11] Repetto, M. ve Llesuy, S., (2002). "Antioxidant Properties Of Natural Compounds Used in Popular Medicine For Gastric Ulcers", Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 35: 523–534.
- [12] La Casa, C., Villegas, I., Alarcon de La Lastra, C., Motilva, V. ve Martin Calero, M., (2000). "Evidence For Protective and Antioxidant Properties Of Rutin, a Natural Flavone, Against Ethanol Induced Gastric Lesions", Journal of Ethnopharmacology, 71: 45–53.
- [13] Maitreyi, K., Mamta, S., Devdas, S. ve Sunita, J., (2006). "Antiulcer Activity Of The Root Bark Of *Oroxylum indicum* Against Experimental Gastric Ulcers", Pharm Bio, 44:363–70.
- [14] Birdane, FM., Cemek, M., Birdane, YO., Gulcin, I. ve Buyukokuroglu, M.E., (2007). "Beneficial Effects Of *Foeniculum vulgare* on Ethanol-Induced Acute Gastric Mucosal Injury in Rats", World J Gastroenterol, 13:607–11.
- [15] Boeing, T., da Silva, L. M., Somensi, L. B., Cury, B. J., Costa, A. P. M., Petreanu, M. ve de Andrade, S. F., (2016). "Antiulcer Mechanisms of *Vernonia condensata* Baker: A Medicinal Plant Used in The Treatment Of Gastritis and Gastric Ilcer", Journal of ethnopharmacology, 184, 196-207.
- [16] Farzaei, M.H., Abdollahi, M. ve Rahimi, R., (2015). "Role Of Dietary Polyphenols in The Management Of Peptic Ulcer", World J. Gastroenterol, 21, 6499–6517.
- [17] Shimoyama, A.T., Santin, J.R., Machado, I.D., Silva, A.M.O., Melo, I.L.P., Mancini Filho, J. ve Farsky, S.H.P., (2013). "Antiulcerogenic Activity Of Chlorogenic Acid in Different Models of Gastric Ulcer", Naunyn-Schmiede.'s. Arch. Pharm, 386, 5–14.
- [18] Sreenika, G., Sravanthi, K.N., Lakshmi, B.V.S., Thulja, P. ve Sudhakar, M., (2015). "Antioxidant and Antitumor Activity Of *Euphorbia milli* Flower Extract Against in vivo Breast Cancer and Colon Cancer in Mice", World J. Pharm. Pharma. Sci. 4, 912–934.
- [19] Begum, R., Aslam, B., Javed, I., Khaliq, T., Muhammad, F. ve Raza, A., (2014). "Gastroprotective and Antioxidant Effect Of *Euphorbia prostrata* Against Indomethacin Induced Gastric Ulcers in Healthy Adult Male Albino Rabbits", Int. Res. J. Pharm. 5,846–850.
- [20] Chang, X., Luo, F., Jiang, W., Zhu, L., Gao, J., He, H. ve Yan, T., (2015). "Protective Activity of Salidroside Against Ethanol-induced Gastric Ulcer Via The MAPK/NF- κ B Pathway in vivo and in vitro", International immunopharmacology, 28(1), 604-615.
- [21] Siddaraju, MN., Annaiah, HN. ve Shylaja, MD., (2009). "Gastroprotective Effect of Ginger Rhizome (*Zingiber officinale*) Extract: Role of Gallic Acid and Cinnamic Acid in H⁺, K⁺-ATPase/H.pylori Inhibition and Anti-oxidative Mechanism", Evid Based Complement Alternat Med, 6:1–13.

- [22] Gregory, M., Vithalrao, KP., Franklin, G. ve Kalaichelavan, V., (2009). "Anti-Ulcer (Ulcer-Preventive) Activity of *Ficus arnottiana* Miq.(Moraceae) Leaf Methanolic Extract", *Am J Pharmacol Toxicol*, 4:89–93.
- [23] Dekanski, D., Janicijevic-Hudomal, S., Tadic, V., Markovic, G., Arsic, I. ve Dusan, MM., (2009). "Phytochemical Analysis and Gastroprotective Activity Of an Olive Leaf Extract", *J Serb Chem Soc*, 74:367–77.
- [24] Lengsfeld, C., Titgemeyer, F., Faller, G. ve Hensel A., (2004). "Glycosylated Compounds From Okra Inhibit Adhesion of *Helicobacter pylori* to Human Gastric Mucosa", *J Agric Food Chem*, 52:1495–1503.
- [25] Shrikant, VJ., Kalyani, AK., Urvashi, VM., Sandesh, RL., Payal, DS., Heta, GV., Ruchi, BV., Bhavin, AV. ve Gajanan, GK., (2011). "Alteration of Gastric Mucus Secretion in Rats Treated With *Abelmoschus esculentus* Seed Mucilage", *Der Pharmacia Lettre*, 3:183–188.
- [26] Borrelli, F. ve Izzo, AA., (2000). "The Plant Kingdom As a Source Of Anti-Ulcer Remedies", *Phytother Res*, 14: 581-591.
- [27] Repetto, MG. ve Llesuy, SF., (2002). "Antioxidant Properties of Natural Compounds Used in Popular Medicine for Gastric Ulcers, *Braz J Med Biol Res*, 35: 523-534.
- [28] Cryer, B., (2001). "Mucosal Defense and Repair. Role of Prostaglandins in The Stomach and Duodenum", *Gastroenterol Clin North Am*, 30: 877-894.
- [29] Sumbul, S., Ahmad, MA., Mohd, A. ve Mohd, A., (2011). "Role of Phenolic Compounds in Peptic Ulcer: An Overview", *J Pharm Bioallied Sci*, 3: 361-367.
- [30] Bandyopadhyay, D., Biswas, K., Bhattacharyya, M., Reiter, RJ. ve Banerjee, RK., (2001). "Gastric Toxicity and Mucosal Ulceration Induced by Oxygen-Derived Reactive Species: Protection by Melatonin", *Curr Mol Med*, 1: 501-513.
- [31] Arakawa, T., Watanabe, T., Tanigawa, T., Tominaga, K., Fujiwara, Y. ve Morimoto, K., (2012). "Quality of Ulcer Healing in Gastrointestinal Tract: Its Pathophysiology and Clinical Relevance", *World J Gastroenterol*, 18: 4811-4822.
- [32] Halter, F., Tarnawski, AS., Schmassmann, A. ve Peskar, BM., (2001). "Cyclooxygenase 2-implications on Maintenance of Gastric Mucosal Integrity and Ulcer Healing: Controversial Issues and Perspectives", *Gut*, 49: 443-453.
- [33] Wallace, JL., (2012). "NSAID Gastropathy and Enteropathy: Distinct Pathogenesis Likely Necessitates Distinct Prevention Strategies", *Br J Pharmacol*, 165: 67-74.
- [34] Souza, MH., Mota, JM., Oliveira, RB. ve Cunha, FQ., (2008). "Gastric Damage Induced by Different Doses of Indomethacin in Rats is Variably Affected by Inhibiting iNOS or Leukocyte Infiltration", *Inflamm Res*, 57: 28-33.
- [35] Yadav, SK., Adhikary, B., Chand, S., Maity, B., Bandyopadhyay, SK. ve Chattopadhyay, S., (2012). "Molecular Mechanism of Indomethacin-Induced Gastropathy", *Free Radic Biol Med*, 52: 1175-1187.

- [36] Langenbach, R., Morham, SG., Tiano, HF., Loftin, CD., Ghanayem, BI., Chulada, PC., Mahler, JF., Lee, CA., Goulding, EH., Kluckman, KD., Kim, HS. ve Smithies, O., (1995). "Prostaglandin Synthase 1 Gene Disruption in Mice Reduces Arachidonic acid-induced Inflammation and Indomethacin Induced Gastric Ulceration", *Cell*, 83: 483-492.
- [37] Tarnawski, AS. ve Jones, MK., (2003). "Inhibition of Angiogenesis by NSAIDs: Molecular Mechanisms and Clinical Implications", *J Mol Med (Berl)*, 81: 627-636.
- [38] Wang, YC., (2014). "Medicinal Plant Activity on *Helicobacter pylori* Related Diseases", *World J Gastroenterol*, 20: 10368-10382.
- [39] Vítor, JM. ve Vale, FF., (2011). "Alternative Therapies for *Helicobacter pylori*: Probiotics and Phytomedicine", *FEMS Immunol Med Microbiol*, 63: 153-164.
- [40] Zaidi, SF., Ahmed, K., Yamamoto, T., Kondo, T., Usmanghani, K., Kadowaki, M. ve Sugiyama, T., (2009). "Effect of Resveratrol on *Helicobacter pylori*-Induced Interleukin-8 Secretion, Reactive Oxygen Species Generation and Morphological Changes in Human Gastric Epithelial Cells", *Biol Pharm Bull*, 32: 1931-1935.
- [41] Crabtree, JE., Xiang, Z., Lindley, IJ., Tompkins, DS., Rappuoli, R. ve Covacci, A., (1995). "Induction of Interleukin-8 secretion From Gastric Epithelial Cells by a cagA Negative Isogenic Mutant of *Helicobacter pylori*", *J Clin Pathol*; 48: 967-969.
- [42] Toracchio, S., Cellini, L., Di Campi, E., Cappello, G., Malatesta, MG., Ferri, A., Ciccaglione, AF., Grossi, L. ve Marzio, L., (2000). "Role of Antimicrobial Susceptibility Testing on Efficacy of Triple Therapy in *Helicobacter pylori* Eradication", *Aliment Pharmacol Ther*, 14: 1639-1643.
- [43] Piper, D.W., Greig, M., Shinnars, J., Thomas, J. ve Crawford, J., (1978). "Chronic Gastric Ulcer and Stress", *Digestion*, 18: 303-09.
- [44] Toma, W., Hiruma-Lima, C.A. ve Guerrero, R.O., (2005). "Preliminary Studies of *Mammea americana* L. (Guttiferae) Bark/Latex Extract Point to an Effective Antiulcer Effect on Gastric Ulcer Models in Mice", *Phytomedicine*, 12: 345-50.
- [45] Nelson, D.L. ve Cox, M.M., (2005). *Lehninger Principles of Biochemistry*, 4th ed, (WH Freeman and Company, New York), 263-264.
- [46] Duggan, J.M. ve Duggan, A.E., (2006). "The Possible Causes of the Pandemic of Peptic Ulcer in the Late 19th and early 20th century", *Med J Aust*. 185: 667-69.
- [47] Sonnenberg, A., (1986). "Dietary Salt and Gastric Ulcer", *Gut*, 27: 1138-142
- [48] Clark, W.G., Brater, D.C. ve Johnson, A.R., (1992). *Goth's Medical Pharmacology*, 13th ed, (Mosby Year Book, St Louis,) 507-13.
- [49] Walker, V. ve Taylor, W.H., (1979). "Cigarette Smoking, Chronic Peptic Ulceration, and Pepsin 1 Secretion", *Gut*, 20: 971-76.

- [50] Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C.J. ve Telser, J., (2004). "Role of Oxygen Radicals in DNA Damage and Cancer Incidence", *Mol. Cell. Biochem*, 266 37–56.
- [51] Inoue, M., Sato, E.F., Nishikawa, M., Park, A.M., Kira, Y., Imada, I. ve Utsumi, K., (2003). "Mitochondrial Generation Of Reactive Oxygen Species and Its Role in Aerobic Life", *Curr. Med.*
- [52] Loschen, G. ve Flohe, B., (1971). "Chance Respiratory Chain Linked H₂O₂ Production in Pigeon Heart Mitochondria", *FEBS Lett.* 18 261–263.
- [53] Poli, G., Leonarduzzi, G., Biasi, F. ve Chiarpotto, E., (2004). "Oxidative Stress and Cell Signalling", *Curr. Med. Chem*, 11 1163–1182.
- [54] Li, C. ve Jackson, R. M. (2002). "Reactive Species Mechanisms Of Cellular Hypoxia-Reoxygenation Injury", *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 282(2), C227-C241.
- [55] Conner, E. M. ve Grisham, M. B., (1996). "Inflammation, Free Radicals, and Antioxidants, Nutrition", 12(4), 274-277.
- [56] Gupta, M., Dobashi, K., Greene, E. L., Orak, J. K. ve Singh, I., (1997). "Studies On Hepatic Injury and Antioxidant Enzyme Activities in Rat Subcellular Organelles Following in vivo Ischemia and Reperfusion", In *The Cellular Basis of Cardiovascular Function in Health and Disease* (pp. 337-347). Springer, Boston, MA.
- [57] Klaunig, J. E. ve Kamendulis, L. M., (2004). "The Role Of Oxidative Stress in Carcinogenesis", *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 44, 239-267.
- [58] Klaunig, J. E., Xu, Y., Bachowski, S. ve Jiang, J., (1997). "Free-Radical Oxygen-Induced Changes in Chemical Carcinogenesis", *Free radical toxicology*, 375-400.
- [59] Dimple, B., (1991). "Regulation Of Bacterial Oxidative Stress Genes", *Annual Review Of Genetics*, 25(1), 315-337.
- [60] Hermes-Lima, M., (2004). "Oxygen In Biology and Biochemistry: Role Of Free Radicals", *Functional Metabolism: Regulation and Adaptation*, 1, 319-66.
- [61] Lushchak, V. I., (2011). "Adaptive Response To Oxidative Stress: Bacteria, Fungi, Plants and Animals", *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 153(2), 175-190.
- [62] Lushchak, V. I., (2011). "Environmentally induced Oxidative Stress in Aquatic Animals", *Aquatic Toxicology*, 101(1), 13-30.
- [63] Leinonen, H. M., Kansanen, E., Pölönen, P., Heinäniemi, M. ve Levonen, A. L., (2014). "Role Of The Keap1–Nrf2 Pathway in Cancer", in *Advances in Cancer Research* (Vol. 122, pp. 281-320).
- [64] Drel, V. R. ve Sybirna, N., (2010). "Protective Effects Of Polyphenolics in Red Wine on Diabetes Associated Oxidative/Nitrative Stress in Streptozotocin-Diabetic Rats", *Cell Biology International*, 34(12), 1147-1153.

- [65] Yan, L. J., (2014). "Pathogenesis Of Chronic Hyperglycemia: From Reductive Stress To Oxidative Stress", *Journal Of Diabetes Research*, 2014.
- [66] Feoli, A. M. P., Macagnan, F. E., Piovesan, C. H., Bodanese, L. C. ve Siqueira, I. R., (2014). "Xanthine Oxidase Activity Is Associated With Risk Factors For Cardiovascular Disease and Inflammatory and Oxidative Status Markers in Metabolic Syndrome: Effects Of a Single Exercise Session", *Oxidative Medicine And Cellular Longevity*, 2014.
- [67] Mei, Y., Thompson, M. D., Cohen, R. A. ve Tong, X., (2015). "Autophagy and Oxidative Stress in Cardiovascular Diseases", *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1852(2), 243-251.
- [68] Ahmad, F., Nidadavolu, P., Durgadoss, L. ve Ravindranath, V., (2014). "Critical Cysteines In Akt1 Regulate Its Activity And Proteasomal Degradation: Implications For Neurodegenerative Diseases", *Free Radical Biology and Medicine*, 74, 118-128.
- [69] Kamat, P. K., Kalani, A., Kyles, P., Tyagi, S. C. ve Tyagi, N., (2014). "Autophagy Of Mitochondria: A Promising Therapeutic Target For Neurodegenerative Disease", *Cell biochemistry and biophysics*, 70(2), 707-719.
- [70] Zhang, P. ve Tian, B., (2014). "Metabolic Syndrome: An Important Risk Factor For Parkinson's Disease", *Oxidative Medicine And Cellular Longevity*.
- [71] Lushchak, V. I., Bagnyukova, T. V., Husak, V. V., Luzhna, L. I., Lushchak, V., Storey, K. B., (2005). "Hyperoxia Results in Transient Oxidative Stress and an Adaptive Response By Antioxidant Enzymes in Goldfish Tissues", *The International Journal Of Biochemistry & Cell Biology*, 37(8), 1670-1680.
- [72] Zara, S., De Colli, M., Rapino, M., Di Valerio, V., Marconi, G. D., Cataldi, A. ve Porzionato, A., (2013). "NF-Kb Involvement In Hyperoxia-Induced Myocardial Damage in Newborn Rat Hearts", *Histochemistry and Cell Biology*, 140(5), 575-583.
- [73] Lushchak, V. I., Lushchak, L. P., Mota, A. A. ve Hermes-Lima, M., (2001). "Oxidative Stress and Antioxidant Defenses in Goldfish *Carassius Auratus* During Anoxia and Reoxygenation", *American Journal Of Physiology-Regulatory, Integrative And Comparative Physiology*, 280(1), R100-R107.
- [74] Lushchak, V. I., Bagnyukova, T. V., Lushchak, V., Storey, J. M. ve Storey, K. B., (2005). "Hypoxia And Recovery Perturb Free Radical Processes and Antioxidant Potential in Common Carp (*Cyprinus Carpio*) Tissues", *The International Journal Of Biochemistry & Cell Biology*, 37(6), 1319-1330.
- [75] Sari, A. N., Kacan, M., Unsal, D., Firat, S. S., Buharalioglu, C. K., Vezir, O. ve Ayaz, L., (2014). "Contribution Of Rhoa/Rho-Kinase/MEK1/ERK1/2/Inos Pathway To Ischemia/Reperfusion-Induced Oxidative/Nitrosative Stress and Inflammation Leading To Distant and Target Organ Injury in Rats", *European Journal Of Pharmacology*, 723, 234-245.

- [76] Lushchak, V. I. ve Bagnyukova, T. V., (2007). "Hypoxia Induces Oxidative Stress in Tissues Of a Goby, The Rotan *Perccottus Glenii*", *Comparative Biochemistry And Physiology Part B: Biochemistry And Molecular Biology*, 148(4), 390-397.
- [77] Giussani, D. A., Niu, Y., Herrera, E. A., Richter, H. G., Camm, E. J., Thakor, A. S. ve Itani, N., (2014). "Heart Disease Link To Fetal Hypoxia and Oxidative Stress", In *Advances In Fetal And Neonatal Physiology* (pp. 77-87). Springer, New York, NY.
- [78] Storey, K. B., (1996). "Oxidative Stress: Animal Adaptations in Nature", *Brazilian Journal Of Medical And Biological Research*, 29, 1715-1733.
- [79] Fridovich, I., (1986). "Biological Effects Of The Superoxide Radical", *Archives Of Biochemistry and Biophysics*, 247(1), 1-11.
- [80] Desideri, A., ve Falconi, M., (2003). "Prokaryotic Cu, Zn Superoxide Dismutases", *Biochemical Society Transactions*, (6) 1322-1325.
- [81] Michiels, C., Raes, M., Toussaint, O. ve Remacle, J., (1994). "Importance Of Se- Glutathione Peroxidase, Catalase, and Cu/Zn-SOD For Cell Survival Against Oxidative Stress", *Free Radical Biology and Medicine*, 17(3), 235-248.
- [82] Valko, M. M. H. C. M., Morris, H. ve Cronin, M. T. D., (2005). "Metals, Toxicity and Oxidative Stress", *Current Medicinal Chemistry*, 12(10), 1161-1208.
- [83] Liochev, S. I. ve Fridovich, I., (1994). "The Role Of O₂.- In The Production Of HO.: in vitro and in vivo", *Free Radical Biology and Medicine*, 16(1), 29-33.
- [84] Leonard, S. S., Harris, G. K. ve Shi, X., (2004). "Metal-Induced Oxidative Stress and Signal Transduction", *Free Radical Biology and Medicine*, 37(12), 1921-1942.
- [85] Stohs, S. J. ve Bagchi, D., (1995). "Oxidative Mechanisms in The Toxicity Of Metal Ions", *Free Radical Biology and Medicine*, 18(2), 321-336.
- [86] Pekarkova, I., Parara, S., Holecek, V., Stopka, P., Trefil, L., Racek, J. ve Rokyta, R., (2001). "Does Exogenous Melatonin Influence The Free Radicals Metabolism and Pain Sensation In Rat", *Physiol Res*, 50(6), 595-602.
- [87] Liochev, S. I. ve Fridovich, I., (2002). "The Haber-Weiss Cycle—70 Years Later: an Alternative View", *Redox Report*, 7(1), 55-57.
- [88] Henzler, T. ve Steudle, E., (2000). "Transport and Metabolic Degradation Of Hydrogen Peroxide in Chara Corallina: Model Calculations and Measurements With The Pressure Probe Suggest Transport Of H₂O₂ Across Water Channels", *Journal Of Experimental Botany*, 51(353), 2053-2066.
- [89] Dalla Sega, F. V., Zambonin, L., Fiorentini, D., Rizzo, B., Caliceti, C., Landi, L. ve Prata, C., (2014). "Specific Aquaporins Facilitate Nox-Produced Hydrogen Peroxide Transport Through Plasma Membrane In Leukaemia Cells", *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1843(4), 806-814.
- [90] Buxton, G. V., Greenstock, C. L., Helman, W. P. ve Ross, A. B., (1988). "Critical Review Of Rate Constants For Reactions Of Hydrated Electrons, Hydrogen

- Atoms And Hydroxyl Radicals (OH/O⁻ Aqueous Solution", *Journal Of Physical And Chemical Reference Data*, 17(2), 513-886.
- [91] Pastor, N., Weinstein, H., Jamison, E. ve Brenowitz, M., (2000). "A Detailed Interpretation Of OH Radical Footprints In A TBP-DNA Complex Reveals The Role Of Dynamics in The Mechanism Of Sequence-Specific Binding", *Journal Of Molecular Biology*, 304(1), 55-68.
 - [92] Pláteník, J., Stopka, P., Vejražka, M. ve Štípek, S., (2001). "Quinolinic Acid—Iron (II) Complexes: Slow Autoxidation, But Enhanced Hydroxyl Radical Production in The Fenton Reaction", *Free Radical Research*, 34(5), 445-459.
 - [93] Rae, T. D., Schmidt, P. J., Pufahl, R. A., Culotta, V. C. ve O'halloran, T. V., (1999). "Undetectable Intracellular Free Copper: The Requirement Of a Copper Chaperone For Superoxide Dismutase", *Science*, 284(5415), 805-808.
 - [94] Kakhlon, O. ve Cabantchik, Z. I., (2002). "The Labile Iron Pool: Characterization, Measurement, and Participation In Cellular Processes", *Free Radical Biology And Medicine*, 33(8), 1037-1046.
 - [95] Konijn, A. M., Glickstein, H., Vaisman, B., Meyron-Holtz, E. G., Slotki, I. N. ve Cabantchik, Z. I., (1999). "The Cellular Labile Iron Pool and Intracellular Ferritin In K562 Cells", *Blood*, 94(6), 2128-2134.
 - [96] Weldor, D., Poulsen, T. D., Mikkelsen, K. V. ve Ogilby, P. R., (1999). "Singlet Sigma: The "Other" Singlet Oxygen in Solution", *Photochemistry and Photobiology*, 70(4), 369-379.
 - [97] Miyamoto, S., Martinez, G. R., Medeiros, M. H. ve Di Mascio, P., (2014). "Singlet Molecular Oxygen Generated By Biological Hydroperoxides", *Journal Of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 139, 24-33.
 - [98] Briviba, K., Klotz, L. O. ve Sies, H., (1997). "Toxic and Signaling Effects Of Photochemically Or Chemically Generated Singlet Oxygen in Biological Systems", *Biological Chemistry*, 378(11), 1259-1265.
 - [99] Klotz, L. O., (2002). "Oxidant-Induced Signaling: Effects Of Peroxynitrite and Singlet Oxygen", *Biological Chemistry*, 383(3-4), 443-456.
 - [100] Archer, S., (1993). "Measurement Of Nitric Oxide In Biological Models", *The FASEB Journal*, 7(2), 349-360.
 - [101] Alderton, W. K., Cooper, C. E. ve Knowles, R. G., (2001). "Nitric Oxide Synthases: Structure, Function and Inhibition", *Biochemical Journal*, 357(Pt 3), 593.
 - [102] Beneš, L., Ďuračková, Z. ve Ferenčík, M., (1999). "Chemistry, Physiology and Pathology Of Free Radicals", *Life Sciences*, 65(18-19), 1865-1874.
 - [103] Förstermann U., Boissel, J. P. ve Kleinert, H., (1998). "Expressional Control Of The 'Constitutive' isoforms Of Nitric Oxide Synthase (NOS I And NOS III) ", *The FASEB Journal*, 12(10), 773-790.
 - [104] Ghafourifar, P. ve Cadenas, E., (2005). "Mitochondrial Nitric Oxide Synthase", *Trends In Pharmacological Sciences*, 26(4), 190-195.

- [105] Koshland Jr, D. E., (1994). "Molecule Of The Year: The DNA Repair Enzyme", *Science*, 266(5193), 1925-1926.
- [106] Klatt, P. ve Lamas, S., (2000). "Regulation Of Protein Function By S-Glutathiolation in Response To Oxidative and Nitrosative Stress", *The FEBS Journal*, 267(16), 4928-4944.
- [107] Chiueh, C. C., (1999). "Neuroprotective Properties Of Nitric Oxide", *Annals Of The New York Academy Of Sciences*, 890(1), 301-311.
- [108] Carr, A. C., McCall, M. R. ve Frei, B., (2000). "Oxidation Of LDL By Myeloperoxidase and Reactive Nitrogen Species: Reaction Pathways and Antioxidant Protection", *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 20(7), 1716-1723.
- [109] Jacob, C., Giles, G. I., Giles, N. M. ve Sies, H., (2003). "Sulfur and Selenium: The Role Of Oxidation State in Protein Structure and Function", *Angewandte Chemie International Edition*, 42(39), 4742-4758.
- [110] Winterbourn, C. C. ve Hampton, M. B., (2008). "Thiol Chemistry and Specificity in Redox Signaling", *Free Radical Biology and Medicine*, 45(5), 549-561.
- [111] Ross, D., (1988). "Glutathione, Free Radicals and Chemotherapeutic Agents: Mechanisms Of Free-Radical Induced Toxicity and Glutathione-Dependent Protection", *Pharmacology & Therapeutics*, 37(2), 231-249.
- [112] Kappus, H. ve Sies, H., (1981). "Toxic Drug Effects Associated With Oxygen Metabolism: Redox Cycling and Lipid Peroxidation", *Experientia*, 37(12), 1233-1241.
- [113] Nishiyama, T., Izawa, T., Usami, M., Ohnuma, T., Ogura, K. ve Hiratsuka, A., (2010). "Cooperation Of NAD (P) H: Quinone Oxidoreductase 1 and UDP-Glucuronosyltransferases Reduces Menadione Cytotoxicity in HEK293 Cells", *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 394(3), 459-463.
- [114] Radi, R., Peluffo, G., Alvarez, M. N., Naviliat, M. ve Cayota, A., (2001). "Unraveling Peroxynitrite Formation in Biological Systems", In *Bio-Assays For Oxidative Stress Status* (Pp. 236-261).
- [115] Radi, R., (2013). "Peroxynitrite, A Stealthy Biological Oxidant", *Journal Of Biological Chemistry*, 288(37), 26464-26472.
- [116] Szabó, C., Ischiropoulos, H. ve Radi, R., (2007). "Peroxynitrite: Biochemistry, Pathophysiology and Development Of Therapeutics", *Nature Reviews Drug Discovery*, 6(8), 662.
- [117] Cadenas, E. ve Davies, K. J., (2000). "Mitochondrial Free Radical Generation, Oxidative Stress, and Aging", *Free Radical Biology and Medicine*, 29(3-4), 222-230.
- [118] Yang, C. Y., Wang, J., Krutchinsky, A. N., Chait, B. T., Morrisett, J. D. ve Smith, C. V., (2001). "Selective Oxidation in vitro By Myeloperoxidase Of The N-Terminal Amine in Apolipoprotein B-100", *Journal Of Lipid Research*, 42(11), 1891-1896.

- [119] Spickett, C. M. ve Pitt, A. R., (2012). "Protein Oxidation: Role in Signalling and Detection By Mass Spectrometry", *Amino Acids*, 42(1), 5-21.
- [120] Davies, M. J., (2005). "The Oxidative Environment and Protein Damage", *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 1703(2), 93-109.
- [121] Dean, R. T., Fu, S., Stocker, R. ve Davies, M. J., (1997). "Biochemistry and Pathology Of Radical-Mediated Protein Oxidation", *Biochemical Journal*, 324(Pt 1), 1.
- [122] Davies, K. J., (2001). "Degradation Of Oxidized Proteins By The 20S Proteasome", *Biochimie*, 83(3-4), 301-310.
- [123] Jung, T. ve Grune, T., (2008). "The Proteasome and Its Role in The Degradation Of Oxidized Proteins", *IUBMB life*, 60(11), 743-752.
- [124] Grune, T., Klotz, L. O., Gieche, J., Rudeck, M. ve Sies, H., (2001). "Protein Oxidation and Proteolysis By The Nonradical Oxidants Singlet Oxygen Or Peroxynitrite", *Free Radical Biology and Medicine*, 30(11), 1243-1253.
- [125] Howell, K. W., Meng, X., Fullerton, D. A., Jin, C., Reece, T. B. ve Cleveland, J. C., (2011). "Toll-like Receptor 4 Mediates Oxidized LDL-Induced Macrophage Differentiation To Foam Cells", *Journal Of Surgical Research*, 171(1), e27-e31.
- [126] Dunlop, R. A., Brunk, U. T. ve Rodgers, K. J., (2009). "Oxidized Proteins: Mechanisms Of Removal and Consequences Of Accumulation", *IUBMB Life*, 61(5), 522-527.
- [127] Baraibar, M. A., Liu, L., Ahmed, E. K. ve Friguet, B., (2012). "Protein Oxidative Damage At The Crossroads Of Cellular Senescence, Aging, and Age-Related Diseases", *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012.
- [128] Dimple, B. R. U. C. E. ve Levin, J. D., (1991). "Repair Systems For Radical-Damaged DNA", *Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants*, 119-154.
- [129] Ott, C., Jacobs, K., Haucke, E., Santos, A. N., Grune, T. ve Simm, A., (2014). "Role Of Advanced Glycation End Products In Cellular Signaling", *Redox Biology*, 2, 411-429.
- [130] Jomova, K. ve Valko, M., (2011). "Advances In Metal-Induced Oxidative Stress and Human Disease", *Toxicology*, 283(2-3), 65-87.
- [131] Rains, J. L. ve Jain, S. K., (2011). "Oxidative Stress, Insulin Signaling, and Diabetes", *Free Radical Biology and Medicine*, 50(5), 567-575.
- [132] Winczura, A., Zdżalik, D. ve Tudek, B., (2012). "Damage Of DNA and Proteins By Major Lipid Peroxidation Products in Genome Stability", *Free Radical Research*, 46(4), 442-459.
- [133] Cooke, M. S., Evans, M. D., Dizdaroglu, M. ve Lunec, J., (2003). "Oxidative DNA Damage: Mechanisms, Mutation, and Disease", *The FASEB Journal*, 17(10), 1195-1214.

- [134] Regulus, P., Duroux, B., Bayle, P. A., Favier, A., Cadet, J. ve Ravanat, J. L., (2007). "Oxidation Of The Sugar Moiety Of DNA By Ionizing Radiation Or Bleomycin Could Induce The Formation Of a Cluster DNA Lesion", *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 104(35), 14032-14037.
- [135] Luo, X. ve Kraus, W. L., (2012). "On PAR With PARP: Cellular Stress Signaling Through Poly (ADP-Ribose) and PARP-1", *Genes & Development*, 26(5), 417-432.
- [136] Bürkle, A. ve Virág, L., (2013). "Poly (ADP-ribose): Paradigms and PARadoxe", *Molecular Aspects Of Medicine*, 34(6), 1046-1065.
- [137] Andreoli, S. P., (1989). "Mechanisms Of Endothelial Cell ATP Depletion After Oxidant Injury", *Pediatric Research*, 25(1), 97.
- [138] Duarte, T. L. ve Lunec, J., (2005). "When Is an Antioxidant Not an Antioxidant? A Review Of Novel Actions and Reactions Of Vitamin C", *Free Radical Research*, 39(7), 671-686.
- [139] Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M. ve Telser, J., (2007). "Free Radicals and Antioxidants in Normal Physiological Functions and Human Disease", *The International Journal Of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44-84.
- [140] Halliwell, B., (2007). "Biochemistry Of Oxidative Stress", *Biochem Soc Trans*; 35: 1147-50.
- [141] Nozik-Grayck, E., Suliman, H. B. ve Piantadosi, C. A., (2005). "Extracellular Superoxide Dismutase", *The International Journal Of Biochemistry & Cell Biology*, 37(12), 2466-2471.
- [142] Berg, JM., Tymoczko, JL. ve Stryer, L., (2002). *Biochemistry*, 5th ed., Freeman WH and Co., New York; pp: 205-206.
- [143] Ho, Y. S., Xiong, Y., Ma, W., Spector, A. ve Ho, D. S., (2004). "Mice Lacking Catalase Develop Normally But Show Differential Sensitivity To Oxidant Tissue Injury", *Journal Of Biological Chemistry*, 279(31), 32804-32812.
- [144] Yang, H., Shi, M., VanRemmen, H., Chen, X., Vijg, J., Richardson, A. ve Guo, Z., (2003). "Reduction Of Pressor Response To Vasoconstrictor Agents By Overexpression Of Catalase in Mice", *American Journal Of Hypertension*, 16(1), 1-5.
- [145] Sharma, R., Yang, Y., Sharma, A., Awasthi, S. ve Awasthi, Y. C., (2004). "Antioxidant Role Of Glutathione S-Transferases: Protection Against Oxidant Toxicity and Regulation Of Stress-Mediated Apoptosis", *Antioxidants and Redox Signaling*, 6(2), 289-300.
- [146] Hayes, J. D., Flanagan, J. U. ve Jowsey, I. R., (2005). "Glutathione Transferases", *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 45, 51-88.
- [147] Linster, C. L. ve Van Schaftingen, E., (2007). "Vitamin C", *The FEBS Journal*, 274(1), 1-22.

- [148] Ulusu, N. N. ve Tandoğan, B., (2007). "Purification and Kinetic Properties Of Glutathione Reductase From Bovine Liver", Molecular and Cellular Biochemistry, 303(1-2), 45-51.
- [149] Sen, C. K., Khanna, S. ve Roy, S., (2006). "Tocotrienols: Vitamin E Beyond Tocopherols", Life Sciences, 78(18), 2088-2098.
- [150] Shui, G. ve Peng, L. L., (2004). "An Improved Method For The Analysis Of Major Antioxidants Of *Hibiscus Esculentus* Linn", Journal Of Chromatography A, 1048(1), 17-24.
- [151] Xia, F., Zhong, Y., Li, M., Chang, Q., Liao, Y., Liu, X. ve Pan, R., (2015). "Antioxidant and Anti-Fatigue Constituents Of Okra", Nutrients, 7(10), 8846-8858.
- [152] Gemed, H. F., Haki, G. D., Beyene, F., Woldegiorgis, A. Z. ve Rakshit, S. K., (2016). "Proximate, Mineral, and Antinutrient Compositions Of Indigenous Okra(*Abelmoschus esculentus*) Pod Accessions: Implications For Mineral Bioavailability", Food Science & Nutrition, 4(2), 223-233.
- [153] Ngoc, T. H., Ngo, N., Van, T. ve Phung, V., (2008). "Hypolipidemic Effect Of Extracts From *Abelmoschus esculentus* L.(Malvaceae) on Tyloxapol-induced Hyperlipidemia in Mice", Mahidol Univ. J. Pharm. Sci, 35, 42-46.
- [154] Sabitha, V., Ramachandran, S., Naveen, K. R. ve Panneerselvam, K. (2011). "Antidiabetic and Antihyperlipidemic Potential of *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats", Journal Of Pharmacy and Bioallied Sciences, 3(3), 397.
- [155] van Dam, R. M., Naidoo, N. ve Landberg, R., (2013). "Dietary Flavonoids and The Development Of Type 2 Diabetes and Cardiovascular Diseases: Review Of Recent Findings", Current Opinion In Lipidology, 24(1), 25-33.
- [156] Abourehab, M. A., Khaled, K. A., Sarhan, H. A. ve Ahmed, O. A., (2015). "Evaluation Of Combined Famotidine With Quercetin For The Treatment Of Peptic Ulcer: in vivo Animal Study", Drug Design, Development and Therapy, 9, 2159.
- [157] Cemek, M., Yilmaz, E. ve Büyükokuroğlu, M. E., (2010). Protective Effect Of *Matricaria chamomilla* on Ethanol-induced Acute Gastric Mucosal Injury in Rats", Pharmaceutical Biology, 48(7), 757-763.
- [158] Cemek, M., Büyükokuroğlu, M. E., Büyükbek, A., Aymelek, F., Yılmaz, F., Doğan, M. ve Yıldırım, D., (2010). Bio-element Status in Children With Acute Rheumatic Fever: Before Treatment and After Clinical Improvement", Pediatric Cardiology, 31(7), 1002-1007.
- [159] Jain, S. K., McVie, R., Duett, J. ve Herbst, J. J., (1989). "Erythrocyte Membrane Lipid Peroxidation and Glycosylated Hemoglobin in Diabetes", Diabetes, 38(12), 1539-1543.
- [160] Woolliams, J. A., Wiener, G., Anderson, P. H. ve McMurray, C. H., (1983). "Improved Method For The Determination Of Blood Glutathione", Res. Vet. Sci, 34, 253-256.

- [161] Paglia, D. E. ve Valentine, W. N., (1967). "Studies On The Quantitative and Qualitative Characterization Of Erythrocyte Glutathione Peroxidase", The Journal Of Laboratory and Clinical Medicine, 70(1), 158-169.
- [162] Johansson, L. H. ve Borg, L. H., (1988). "A Spectrophotometric Method For Determination Of Catalase Activity in Small Tissue Samples", Analytical Biochemistry, 174(1), 331-336.
- [163] Sun, Y. I., Oberley, L. W. ve Li, Y., (1988). "A Simple Method For Clinical Assay Of Superoxide Dismutase", Clinical Chemistry, 34(3), 497-500.
- [164] Omaye, S. T., Turnbull, J. D. ve Sauberlich, H. E., (1979). "Selected Methods For The Determination Of Ascorbic Acid in Animal Cells, Tissues, and Fluids", In Methods in Enzymology (Vol. 62, pp. 3-11). Academic Press.
- [165] Suzuki, J. ve Katoh, N., (1990). "A Simple and Cheap Method For Measuring Serum Vitamin A in Cattle Using Only A Spectrophotometer", Nippon Juigaku
- [166] Laine, L. ve Weinstein, W. M., (1988). "Histology Of Alcoholic Hemorrhagic "Gastritis": A Prospective Evaluation", Gastroenterology, 94(6), 1254-1262.
- [167] Amirshahrokhi, K. ve Khalili, A. R., (2015). "The Effect Of Thalidomide on Ethanol-Induced Gastric Mucosal Damage in Mice: Involvement Of Inflammatory Cytokines and Nitric Oxide", Chemico-Biological Interactions, 225, 63-69.
- [168] Wang, Y. Z., Cao, Y. Q., Wu, J. N., Chen, M. ve Cha, X. Y., (2005). "Expression Of Nitric Oxide Synthase in Human Gastric Carcinoma and Its Relation To P53, PCNA", World Journal Of Gastroenterology: WJG, 11(1), 46.
- [169] Gungor, A. N. C., Gencer, M., Karaca, T., Hacivelioglu, S., Uysal, A., Korkmaz, F. ve Cosar, E., (2014). "The Effect Of Hesperetin on Ischemia-Reperfusion Injury in Rat Ovary", Archives Of Gynecology and Obstetrics, 290(4), 763-769.
- [170] Careri, M., Corradini, C., Elviri, L., Nicoletti, I. ve Zagnoni, I., (2003). "Direct HPLC Analysis Of Quercetin and Trans-Resveratrol In Red Wine, Grape, and Winemaking Byproducts", Journal Of Agricultural and Food Chemistry, 51(18), 5226-5231.
- [171] Ertuğ, P. U., Aydinoglu, F., Ozturk, O. G., Singirik, E. ve Ögülener, N., (2013). "Comparative Study Of The Quercetin, Ascorbic Acid, Glutathione and Superoxide Dismutase For Nitric Oxide Protecting Effects In Mouse Gastric Fundus", European Journal Of Pharmacology, 698(1-3), 379-387.
- [172] Klupinska, G., Arabski, M., Wisniewska-Jarosinska, M., Drzewoski, J., Blasiak, J. ve Chojnacki, J., (2006). "Protective Action Of Melatonin and Quercetin Against DNA Damage Induced By N-Methyl-N'-Nitro-N-Nitrosoguanidine in Normal and Helicobacter pylori-Infected Gastric Mucosa Cell", Gastroenterologia Polska, 13(4), 247.
- [173] Ekström, A. M., Serafini, M., Nyren, O., Wolk, A., Bosetti, C., Bellocco, R., (2010). "Dietary Quercetin Intake and Risk Of Gastric Cancer: Results From a Population-Based Study In Sweden", Annals Of Oncology, 22(2), 438-443.

- [174] Yan, X. M., Joo, M. J., Lim, J. C., Whang, W. K., Sim, S. S., Im, C. ve Sohn, U. D., (2011). "The Effect Of Quercetin-3-O-B-D-Glucuronopyranoside On Indomethacin-Induced Gastric Damage in Rats Via Induction Of Mucus Secretion and Down-Regulation Of ICAM-1 Expression", Archives Of Pharmacal Research, 34(9), 1527.
- [175] Salga, M. S., Ali, H. M., Abdulla, M. A. ve Abdelwahab, S. I., (2012). "Gastroprotective Activity and Mechanism Of Novel Dichlorido-Zinc (II)-4-(2-(5-Methoxybenzylideneamino) Ethyl) Piperazin-1-iumphenolate Complex on Ethanol-Induced Gastric Ulceration", Chemico-Biological Interactions, 195(2), 144-153.
- [176] Arab, H. H., Salama, S. A., Omar, H. A., Arafa, E. S. A. ve Maghrabi, I. A. (2015). "Diosmin Protects Against Ethanol-Induced Gastric Injury in Rats: Novel Anti-Ulcer Actions", Plos One, 10(3), E0122417.
- [177] Uner, A., Sal, E., Doğan, M., Sanli, F. M., Acikgoz, M., Cemek, M. ve Cagan, E., (2010). "Investigation Of Oxidant and Antioxidant Pathway Changes in Acute Rheumatic Fever", Acta Cardiologica, 65(1), 53-57.
- [178] Çaksen, H., Özkan, M., Cemek, M. ve Cemek, F., (2014). "Oxidant and Antioxidant Status in Children With Subacute Sclerosing Panencephalitis", Journal Of Child Neurology, 29(11), 1448-1452.
- [179] Aslan, A., Gurelik, M., Cemek, M., Buyukokuroglu, M., Goksel, H. M. ve Eser, O., (2012). "Nimodipine Can Diminish Oxidative Stress in Patients With Severe Head Trauma", Journal Of Neurosurgical Sciences, 56(3), 247-253.
- [180] Cemek, M., Enginar, H., Karaca, T. ve Ünak, P., (2006). "In vivo Radioprotective Effects Of Nigella sativa L Oil and Reduced Glutathione Against Irradiation-Induced Oxidative Injury and Number Of Peripheral Blood Lymphocytes in Rat"s, Photochemistry And Photobiology, 82(6), 1691-1696.
- [181] Squier, T. C., (2001). "Oxidative Stress and Protein Aggregation During Biological Aging", Experimental Gerontology, 36(9), 1539-1550.
- [182] Scheibmeir, H. D., Christensen, K., Whitaker, S. H., Jegaethesan, J., Clancy, R. ve Pierce, J. D., (2005). "A Review Of Free Radicals and Antioxidants For Critical Care Nurses", Intensive And Critical Care Nursing, 21(1), 24-28.
- [183] McCord, J. M., Keele, B. B. ve Fridovich, I., (1971). "An Enzyme-Based Theory Of Obligate Anaerobiosis: The Physiological Function Of Superoxide Dismutase", Proceedings Of The National Academy Of Sciences, 68(5), 1024-1027.
- [184] Nartey, E. T., Ofosuhen, M. ve Agbale, C. M., (2012). "Anti-ulcerogenic Activity Of The Root Bark Extract Of The African Laburnum "*Cassia sieberiana*" and Its Effect On The Anti-Oxidant Defence System in Rats", BMC Complementary and Alternative Medicine, 12(1), 247.
- [185] Kanter, M., Demir, H., Karakaya, C. ve Ozbek, H., (2005). "Gastroprotective Activity Of *Nigella sativa* L. Oil and Its Constituent, Thymoquinone Against

- Acute Alcohol-Induced Gastric Mucosal Injury in Rats”, World Journal Of Gastroenterology: WJG, 11(42), 6662.
- [186] Kwiecien, S., Brzozowski, T. ve Konturek, S. J., (2002). “Effects Of Reactive Oxygen Species Action on Gastric Mucosa in Various Models Of Mucosal Injury”, Journal of Physiology and Pharmacology, 53(1), 39-50.
 - [187] La Casa, C., Villegas, I., De La Lastra, C. A., Motilva, V. ve Calero, M. M., (2000). “Evidence For Protective and Antioxidant Properties Of Rutin, a Natural Flavone, Against Ethanol induced Gastric Lesions”, Journal Of Ethnopharmacology, 71(1-2), 45-53.
 - [188] Abbas, A. M. ve Sakr, H. F., (2013). “Effect Of Selenium and Grape Seed Extract on Indomethacin-Induced Gastric Ulcers in Rats”, Journal Of Physiology and Biochemistry, 69(3), 527-537.
 - [189] Rahim, N. A., Hassandarvish, P., Golbabapour, S., Ismail, S., Tayyab, S. ve Abdulla, M. A., (2014). “Gastroprotective Effect Of Ethanolic Extract Of *Curcuma xanthorrhiza* Leaf Against Ethanol-Induced Gastric Mucosal Lesions in Sprague-Dawley Rats”, Biomed Research International, 2014.
 - [190] Ma, L. ve Liu, J., (2014). “The Protective Activity Of *Conyza blinii* Saponin Against Acute Gastric Ulcer Induced By Ethanol”, Journal Of Ethnopharmacology, 158, 358-363.
 - [191] Wong, J. Y., Abdulla, M. A., Raman, J., Phan, C. W., Kuppusamy, U. R., Golbabapour, S. ve Sabaratnam, V., (2013). “Gastroprotective Effects Of Lion’s Mane Mushroom *Hericium erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers.(Aphyllphoromycetideae) Extract Against Ethanol-Induced Ulcer in Rats”, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2013.
 - [192] Berger, M. M., (2006). “Antioxidant Micronutrients in Major Trauma and Burns: Evidence and Practice”, Nutrition in Clinical Practice, 21(5), 438-449.
 - [193] Huang, C. C., Chen, Y. M., Wang, D. C., Chiu, C. C., Lin, W. T., Huang, C. Y. ve Hsu, M. C., (2013). “Cytoprotective Effect Of American Ginseng in a Rat Ethanol Gastric Ulcer Model”, Molecules, 19(1), 316-326.
 - [194] Abdelwahab, S. I., Mohan, S., Abdulla, M. A., Sukari, M. A., Abdul, A. B., Taha, M. M. E. ve Lee, K. H., (2011). “The Methanolic Extract Of *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. and its Major Compound Pinostrobin Induces Anti-Ulcerogenic Property in vivo: Possible Involvement Of Indirect Antioxidant Action”, Journal Of Ethnopharmacology, 137(2), 963-970.
 - [195] El-Maraghy, S. A., Rizk, S. M. ve Shahin, N. N., (2015). “Gastroprotective Effect Of Crocin in Ethanol-Induced Gastric Injury in Rats”, Chemico-Biological Interactions, 229, 26-35.
 - [196] Chang, X., Luo, F., Jiang, W., Zhu, L., Gao, J., He, H. ve Yan, T., (2015). “Protective Activity Of Salidroside Against Ethanol-Induced Gastric Ulcer Via The MAPK/NF-Kb Pathway *in vivo* and *in vitro*”, International Immunopharmacology, 28(1), 604-615.

- [197] Mei, X., Xu, D., Xu, S., Zheng, Y. ve Xu, S., (2012). "Novel Role Of Zn (II)–Curcumin In Enhancing Cell Proliferation and Adjusting Proinflammatory Cytokine-Mediated Oxidative Damage Of Ethanol-Induced Acute Gastric Ulcers", *Chemico-Biological Interactions*, 197(1), 31-39.
- [198] Schulze-Osthoff, K., Bakker, A. C., Vanhaesebroeck, B., Beyaert, R., Jacob, W. A. ve Fiers, W., (1992). "Cytotoxic Activity Of Tumor Necrosis Factor Is Mediated By Early Damage Of Mitochondrial Functions. Evidence For The Involvement Of Mitochondrial Radical Generation", *Journal Of Biological Chemistry*, 267(8), 5317-5323.
- [199] Hwang, I. R., Kodama, T., Kikuchi, S., Sakai, K., Peterson, L. E., Graham, D. Y. ve Yamaoka, Y., (2002). "Effect Of Interleukin 1 Polymorphisms On Gastric Mucosal Interleukin 1 β Production in *Helicobacter pylori* Infection", *Gastroenterology*, 123(6), 1793-1803.
- [200] Cho, C. H., Fong, L. Y. Y., Ma, P. C. C. ve Ogle, C. W., (1987). "Zinc Deficiency: Its Role in Gastric Secretion and Stress-Induced Gastric Ulceration in Rats", *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 26(2), 293-297.
- [201] Strachan, S., (2010). "Trace Elements", *Current Anaesthesia and Critical Care*, 21(1), 44-48.
- [202] Hardy, G., Menendez, A. M. ve Manzanares, W., (2009). "Trace Element Supplementation in Parenteral Nutrition: Pharmacy, Posology, and Monitoring Guidance", *Nutrition*, 25(11), 1073-1084.
- [203] Winkler, B. S., Orselli, S. M. ve Rex, T. S., (1994). "The Redox Couple Between Glutathione and Ascorbic Acid: A Chemical and Physiological Perspective", *Free Radical Biology and Medicine*, 17(4), 333-349.VC

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı :DENİZ ORTAÇ
Doğum Tarihi ve Yeri : 1987/ ÇAYKARA
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : onat.deniz@hotmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Biyoloji	Recep Tayyip Erdoğan Ün.	2011
Lisans	Biyoloji	KaradenizTeknik Ün.	2009
Lise		İzmir Şirinyer Lisesi (YDA)	2005

YAYINLARI

Makale

1. Ortaç, D., Cemek, M., Karaca, T., Büyükokuroğlu, M. E., Özdemir, Z. Ö., Kocaman, A. T., Göneş, S., (2018). "In vivo anti-ulcerogenic effect of AEE (*Abelmoschus esculentus*) on ethanol-induced acute gastric mucosal lesions". *Pharmaceutical biology*, 56(1), 165-175.
2. Rasolonjatovo, M. A., Cemek, M., Cengiz, M. F., Ortaç, D., Konuk, H. B., Karaman, E., Göneş, S. (2017). "Reduction of methomyl and acetamiprid residues from tomatoes after various household washing solutions. *International Journal of Food Properties*". 20(11), 2748-2759.
3. Vardar, G., Altıkatoğlu, M., Ortaç, D., Cemek, M. (2015). "Measuring calcium, potassium, and nitrate in plant nutrient solutions using ion-selective electrodes in hydroponic greenhouse of some vegetables. *Biotechnology and applied biochemistry*", 62(5), 663-668.
4. Coşkunçelebi, K., Makbul, S., Gültepe, M., Onat, D., Güzel, M., Okur, S., (2012). "Scorzonera zorkunensis sp. nov. (Asteraceae) from S.Anatolia and its taxonomic position based on molecular data". *Turkish Journal of Botany*.

Bildiri

1. Cemek M., A. Hazini, A. Onul, I. Işıldak, D. Onat, I. Sarı, S. Alpdağtas, S. Gones, "Cardiac markers and ischemia modified albumin on acute myocardia infarction," International Symposium on Sustainable Development ISSD 2014. Biotechnology for Sustainable Development. Sarajevo, Bosnia and Herzegovina. May 15-18, 2014.
2. Hazini A., M. Cemek, I. Sarı, A. Onul, D. Onat, S. Alpdağtas, "Honey and propolis based wound dressing: A promising biomaterial for skin wound healing," International Symposium on Sustainable Development ISSD 2014. Biotechnology for Sustainable Development. Sarajevo, Bosnia and Herzegovina. May 15-18, 2014. GT26.
3. Vardar G, Altıkatoğlu M, Onat D, Cemek M, Işıldak İ. Calcium, Potassium and Nitrate in Plant Nutrient Solutions by Measuring of with Ion-Selective Electrodes in Hydroponic Green House of Some Vegetables. International BIO ENG'14 Bioengineering Conference Proceeding. Turkey, Istanbul. November 27-28, 2014.
4. M Cemek, D Ortaç, T Karaca, ME Büyükokuroğlu, ZÖ Özdemir, T Kocaman, S Alpdağtaş, E

Karaman, HB Konuk. Akut Mide Mukoza Hasarı Üzerine AEE (Abelmoschus Esculentus L.)'nin Anti-Ülser Etkisinin Araştırılması. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, VII. Ulusal Veteriner Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kongresi, 28-30 Mayıs 2015, Samsun.

5. S Göneş, M Cemek, ZÖ Özdemir, T Kocaman, A Önül, D Ortaç, İ Sarı, HB Konuk, E Karaman. Fonksiyonel Özelliğe Sahip Jelatin Sentezi ve Karakterizasyonu. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, VII. Ulusal Veteriner Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kongresi, 28-30 Mayıs 2015, Samsun.

6. MA Rasolonjatovo, M Cemek, Ü Şenel, T Kocaman, S Göneş, S Alpdağtaş, D Ortaç, HB Konuk, E Karaman. Domateste Bulunan Pestisit Kalıntılarının Giderilmesinde Doğal ve Kimyasal Çözücülerin Etkinliğinin Araştırılması. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, VII. Ulusal Veteriner Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kongresi, 28-30 Mayıs 2015, Samsun.