

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***CYPERUS ROTUNDUS* EKSTRESİNİN İSKEMİ/REPERFÜZYON
OLUSTURULMUS SIÇANLARDA GASTRAL MUKOZAL HASARA KARŞI
ETKİSİ**

Ayşe Nur AKGÜNLÜ

BIYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SANLIURFA
2006**

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***CYPERUS ROTUNDUS* EKSTRESİNİN İSKEMİ/REPERFÜZYON
OLUSTURULMUS SIÇANLARDA GASTRAL MUKOZAL HASARA KARŞI
ETKİSİ**

Ayşe Nur AKGÜNLÜ

BIYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SANLIURFA
2006**

Doç. Dr. Davut MUSA danismanliginda, Ayse Nur AKGÜNLÜ'nün hazirladigi “*Cyperus rotundus* Ekstresinin Iskemi/Reperfüzyon Olusturulmus Siçanlarda Gastral Mukozal Hasara Karsi Etkisi” konulu bu çalisma 14/04/2006 tarihinde Asagidaki jüri tarafindan Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmistir.

Danisman: Doç. Dr. Davut MUSA

Üye : Doç. Dr. Ökkes YILMAZ

Üye : Yrd. Doç. Dr. Füsün BABA

Bu Tezin Biyoloji Anabilim Dalinda Yapildigini ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendigini Onaylarim.

Prof. Dr. Ibrahim BOLAT
Enstitü Müdürü

Bu çalisma HÜBAK tarafından desteklenmistir.
Proje No: 668

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve baska kaynaktan yapılan bildirislerin, çizelge, sekil ve fotoğraflarin kaynak gösterilmeden kullanimi 5846 sayili Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZ	i
ABSTRACT	ii
TESEKKÜR	iii
SEKİLLER DİZİNİ	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	v
SİMGELER DİZİNİ	vi
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	3
2.1. Midenin Anatomik Yapısı.....	3
2.2. Mide Mukozası Hasarının Oluşumu	5
2.3. Gastroprotektif Faktörler	6
2.4. İskemi/Reperfüzyon Tanımı ve Mekanizması.....	9
2.4.1. İskemik ve hipoksik zedelenme	12
2.4.2. Hücre zedelenmesinde serbest radikaller.....	15
2.5. Serbest Radikal Kaynakları	16
2.5.1. Süperoksit radikali	17
2.5.2. Hidrojen peroksit radikali.....	18
2.5.3. Hidroksil radikali	19
2.5.4. Singlet oksijen radikali.....	19
2.5.5. Serbest radikallerin hücreye etkileri	20
2.6. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	21
2.6.1. Vitamin E.....	23
2.6.2. <i>Cyperus rotundus</i>	27
3. MATERYAL ve YÖNTEM	29
3.1. Deney Hayvanları	29
3.2. Deney Grupları	29
3.3. Bitki Ekstraksiyon Yöntemi	30
3.4. Deneyin Yapılışı.....	30
3.5. Histopatolojik Çalışmalar.....	31
3.6. Biyokimyasal Analizler.....	33
3.6.1. GDH analizi.....	33
3.6.2. MDA analizi	34
3.7. İstatistiksel Analizler.....	36
4. ARASTIRMA BULGULARI ve TARTISMA	37
4.1. Mide GSH Ölçüm Sonuçları	37
4.2. Mide MDA Ölçüm Sonuçları	37
4.3. Histopatolojik Çalışma Sonuçları.....	44
4.4. Tartisna	49
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	52
KAYNAKLAR	54
ÖZGEÇMİŞ	59
ÖZET	60
SUMMARY	62

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**CYPERUS ROTUNDUS EKSTRESİNİN İSKEMİ/REPERFÜZYON OLUSTURULMUS
SIÇANLARDA GASTRAL MUKOZAL HASARA KARSİ ETKİSİ**

Ayşe Nur AKGÜNLÜ

**Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı**

**Danışman: Doç. Dr. Davut MUSA
Yıl: 2006, Sayfa 63**

Bu araştırmada, siçanlarda İskemi/Reperfüzyon'un neden olduğu gastrik mukozal hasar üzerinde *Cyperus rotundus*'un metanol ekstresi ve Vitamin E' nin mide üzerinde koruyucu etkileri çalışılmıştır. Çalışmamızda, anestezi altında 1 saat boyunca celiac arterin kışkırtılması sonucu iskemi oluşturuldu. Çalışmamızda ayrıca oral yolla kullanılan *Cyperus rotundus* ekstresinin (200 mg/kg) ve Vitamin E'nin (100 mg/kg) bir saat iskemi ve bir saat iskemi/bir saat reperfüzyon uygulamalarında mukozal hasar üzerinde potansiyel antioksidan etkileri değerlendirildi. Çalışma sonunda GSH ve MDA analizleri sonuçlarına göre mide lezyonları üzerinde reaktif maddelerin seviyelerinde anlamlı derecede azalma görüldü.

ANAHTAR KELİMELEER: *Cyperus rotundus*, Gastrointestinal Sistem, İskemi/Reperfüzyon, Rat

ABSTRACT

MSc Thesis

EFFECT OF *CYPERUS ROTUNDUS* EXTRACTS AGAINST GASTRIC MUCOSAL INJURY INDUCED BY ISCHAEMIA/REPERFUSION IN RATS

Ayşe Nur AKGÜNLÜ

**Harran University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology**

**Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Davut MUSA
Year: 2006, Page: 63**

This study was carried out to investigate the gastroprotective effect of *Cyperus rotundus* on gastro ulceration induced by Ischemia/Reperfusion in rats. Our preliminary study shows that an Oral administration of a methanol extract of *Cyperus rotundus* and Vitamin E to study the protection effect on gastric ulcer of the stomach. Our study was carried out anesthetized rats, ischemia produced for one hour by clamping celiac artery. The study was further undertaken to evaluate the antioxidant potential of *Cyperus rotundus* extract orally dose of 200 mg/kg compared with Vitamin E at orally dose of 100 mg/kg for one hour ischemia and one hour ischemia/one hour reperfusion interval. The study was resulted in significant reduction in lesions of stomach and reduction in stomach MDA and GSH.

KEY WORDS: *Cyperus rotundus*, Gastrointestinal System, Ischemia/Reperfusion, Rats

TESEKKÜR

Bu alısmada benden yardımlarını esirgemeyen danısmanı Sayın Doç. Dr. Davut MUSA'ya, Biyoloji Anabilim Dalı Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Nihat DILSIZ'e, Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Füsün BABA'ya, Ars. Gör. Ayşe SAHABOGLU'na, Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Ökkes YILMAZ'a, sevgili arkadaşları Nesrin HASIMI'ye, Müslüm YÜKSEL'e, Metin YETKİN'e ve benden desteğini esirgemeyen çok sevgili aileme teşekkür ederim.

SEKILLER DIZINI

	Sayfa No
Sekil 2.1. Mide duvarından bir kesit	3
Sekil 2.2. Midenin genel anatomisi.....	4
Sekil 2.3. Reperfüzyon biyokimyasi.....	11
Sekil 2.4. Iskemi/Reperfüzyon hasarında endotelial hücrelerin rolü	12
Sekil 2.5. Iskemide hasarın zamana bağlı değişimi.....	13
Sekil 2.6. Iskemide oluşan oksijen radikalleri.....	15
Sekil 2.7. Vitamin E yapısı.....	24
Sekil 2.8. Vitamin E'nin diğer antioksidanlarla ilişkisi.....	25
Sekil 2.9. Vitamin E'nin antioksidan etkisi.....	26
Sekil 2.10. <i>Cyperus rotundus</i> ' un bir görüntüsü	28
Sekil 2.11. <i>Cyperus rotundus</i> ' un rizomları.....	28
Sekil 4.1. GSH standartlarından elde edilen değerler ve kalibrasyon eğrisi.....	39
Sekil 4.2. Siçan mide örneklerinde GSH miktarı.....	40
Sekil 4.3. MDA standartlarından elde edilen değerler ve kalibrasyon eğrisi.....	43
Sekil 4.4. Siçan mide örneklerinde MDA miktarı	43
Sekil 4.5. Mide epitel dokusunda mikrovilluslerde hasar oluşumunun skorlama yöntemine bağlı grafiği	45
Sekil 4.6. Mide epitel dokusundaki kript hücrelerinin hasar grafiği	45
Sekil 4.7. Kontrol iskemi grubunda mikrovillusları ile ilgili derecede etkileyen ve kriptlere uzanmış mukozal hasar (H.E x100)	46
Sekil 4.8. Mikrovillus epitelinde disorganizasyon ve dökülme (H.E. x200)	47
Sekil 4.9. Apoptotik ve nekrotik hücreler ile mukozal konjesyon (H.E. x400)	47
Sekil 4.10. Nekrotik hücre kümesini gösteren bir kesit (H.E. x400)	48
Sekil 4.11. Kriptlerde hafif hasar oluşumundan bir kesit (H.E. x200)	48
Sekil 4.12. Mikrovillus epitelinde hafif siddette disorganizasyon ve dökülme (H.E. x200)	48

ÇİZELGELER DIZINI

	Sayfa No
Çizelge 2.1. Iskemi/Reperfüzyon hasarında savunma mekanizması.....	14
Çizelge 2.2. Serbest oksijen radikalleri	16
Çizelge 3.1. Villus ve kript epitelyal inflamasyon ve nekrozis hücreleri skortlama sistemi	32
Çizelge 3.2. Grupların morfolojik inceleme skor tablosu	32
Çizelge 3.3. GSH standart egrisinin hazırlanması.....	34
Çizelge 3.4. MDA standart egrisinin hazırlanması.....	35
Çizelge 4.1. Sham kontrol grubunda (Grup 1) GSH değerleri	37
Çizelge 4.2. Kontrol Iskemi grubunda (Grup 2) GSH değerleri	38
Çizelge 4.3. <i>C. rotundus</i> + Iskemi grubunda (Grup 3) GSH değerleri	38
Çizelge 4.4. <i>C. rotundus</i> + I/R grubunda (Grup 4) GSH değerleri	38
Çizelge 4.5. Vitamin E + Iskemi grubunda (Grup 5) GSH değerleri	39
Çizelge 4.6. Tüm gruplardaki GSH ortalama değerleri	39
Çizelge 4.7. Sham kontrol grubunda (Grup 1) MDA değerleri.....	41
Çizelge 4.8. Kontrol Iskemi grubunda (Grup 2) MDA değerleri.....	41
Çizelge 4.9. <i>C. rotundus</i> + Iskemi grubunda (Grup 3) MDA değerleri	41
Çizelge 4.10. <i>C. rotundus</i> + I/R grubunda (Grup 4) GSH değerleri	42
Çizelge 4.11. Vitamin E + Iskemi grubunda (Grup 5) GSH değerleri	42
Çizelge 4.12. Tüm gruplardaki MDA ortalama değerleri.....	42

SIMGELER DIZINI

AMP	Adenozin monofosfat
ATP	Adenozin trifosfat
BHA	Butylated hydroxyanisole
BHT	Butylated hydroxytoluene
DNA	Deoksiribonükleik asit
GIS	Gastrointestinal sistem
GSH	Glutasyon redükte formu
GSSG	Glutasyon okside formu
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
I/R	Iskemi/Reperfüzyon
MDA	Malondialdehit
NAD ⁺	Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat redükte formu
NSAID	Antiinflamatuvar ilaçlar
PAYA	Poliansatüre yağ asidi
SOD	Süperoksid dismutaz
TET	Tetraetoksiopropan
TBA	Tiyobarbütirik asit
TBARS	Tiyobarbütirik asit reaktif maddeleri
µl	Mikrolitre
µM	Mikromolar

1. GIRIS

Mide mukozası zararlı etkenlere karşı iyi korunan ve direnç gösteren bir dokudur. Çeşitli faktörler bu koruma veya direnci yenip, mide mukozasına etki ederek farklı siddetlerde hasara neden olurlar. Midede mukozal korunma bozulduğunda mukozal hasar süreci başlamaktadır. İskemi/Reperfüzyon (I/R) hasarında reaktif oksijen türlerinin atakları sonucu birçok biyolojik molekülde patolojik değişiklikler ve beraberinde artan membran lipid peroksidasyonları oluşmaktadır. Gastrointestinal sistem (GIS)'in ülser yaralarının oluşumunda; stres, nonsteroidal antiinflamatuar ilaçlar (NSAID), etanol, HCl gibi kimyasallarla etkileşimi, ayrıca serbest radikaller, safra asitleri, proteazlar gibi iç kaynaklı faktörler rol oynar (Özer ve ark., 2004). Bu patolojik değişiklikler gastrik mukozada sitoprotektif sistemi kırarak erozyonların oluşumuna ya da ülser ataklarına neden olmaktadır.

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşan radikallerdir (Akkus, 1995). Oksijen radikalleri inflamasyon ve doku hasarı patogeneğinde rol aldıkları bilinen bileşiklerdir (Baki ve ark., 2000). Serbest oksijen radikalleri, hücrenin önemli bileşenleri olan lipid, karbonhidrat, protein ve DNA'yi oksitleyerek biyolojik sistemlerde ağır hücre zedelenmelerine neden olurlar (Uysal, 1998).

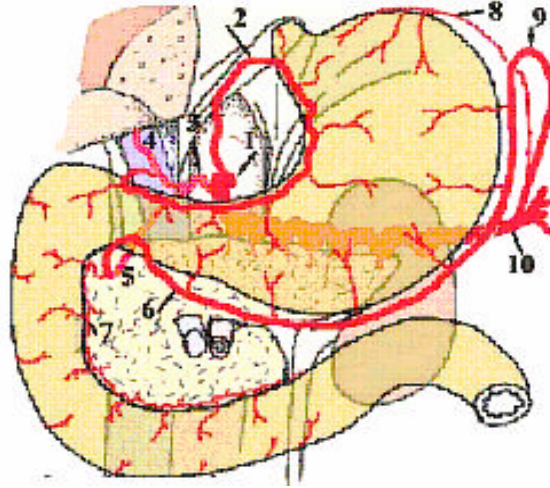
Organizmada serbest radikallerin zararlı etkilerini ortaya koymadan etkisizleştirilmesini sağlayan güçlü savunma sistemi bulunmaktadır. Serbest radikallerin oluşum hızı ile etkisizleştirilme hızı dengede olduğu sürece organizma bu bileşiklerden etkilenmemektedir. Buna karşılık savunma azalır ya da bu zararlı bileşiklerin oluşum hızı sistemin savunma gücünü aşarsa, bu denge bozulup serbest radikallere bağlı zararlı etkiler ortaya çıkmaktadır (Halliwell, 1996; Nakazawa ve ark.,1996).

Serbest radikaller, özellikle antioksidanlarla dengelenmediği durumlarda organizma için zararlı olabilmektedir. Bu radikaller GIS lezyonlarında rolleri olan çok önemli partiküller olup, birçok biyolojik molekülde zararlı etkiler doğururlar (Ogle ve ark., 1989). Serbest radikallere bağlı hücre hasarındaki en önemli mekanizmalardan biri membranlardaki lipid peroksidasyonudur. Lipid peroksidasyonu sonucu membranlarda yapısal ve fonksiyonel hücre hasarı oluşur. Malondialdehit (MDA) gibi ürünlerin ölçümü lipid peroksidasyonun bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. Mide mukozası hasarında lipid peroksidasyonu önemli rol oynar (Özer ve ark., 2004).

Gastrik ülser iyileşmesinde epitel yapıların yeniden oluşumu, alttaki bağ dokusunun tamiri gerekir. Kan akımının düzenlenmesinde, yeni damar ve yumuşak doku oluşumunda, GIS'in mide asit sekresyonunu inhibe etmede, mukus sekresyonunu artırarak mide mukoza bütünlüğünü korumada, epitel hücrelerinin çoğalmasını artırarak hücre üretimini dolayısıyla yara iyileşmesini hızlandırmada önemli rol oynar. GIS'e ait dolasimin engellenmesi ile ilgili bazı patolojiler midede iskemiye neden olabilir (Özer ve ark., 2004). I/R, midede serbest radikal oluşumu ile bağlantılı olarak gastrik lezyonların oluşmasına neden olur.

Cyperus rotundus alternatif tıp bilimlerinde; özellikle mide yaralarına karşı, gaz söktürücü, diüretik, antibakteriyel, antimalariyal, antiinflamatuvar, aneljezik, sakinleştirici olarak kök ve rizomları kullanılmaktadır. Bu çalışmada İskemi/Reperfüzyon oluşturulmuş siçan midelerindeki MDA ve GSH miktarları üzerinde Vitamin E ve *Cyperus rotundus*'un etkileri araştırılmıştır. Böylece mide lezyonlarının serbest radikal oluşumuna bağlı moleküler düzeyde araştırılması ve bu konuda alternatif tıp bilimlerinde kullanılan *Cyperus rotundus*'un tıbbi tedavi yöntemlerine katkıda bulunması amaçlanmaktadır.

Mide anatomik olarak (kardiya, fundus, korpus ve pilor) dört bölüme ayrılır. Kardiya; özofagus ile mide arasındaki geçiş bölgesinde dar sirküler bir banttir. Fundus, kardiyanın solunda üst kısımda yer alan kubbe biçimindeki bölgedir. Fundus ve korpus tübüler gastrik bezler (fundus bezleri) ile doludur. Gastrik bezlerdeki epitel hücrelerin dağılımı düzenli değildir. Gastrik bezlerin üst yarısında pariyetal hücreler bulunur, tabanında ise seyrekler. Pariyetal hücrelerin arasında kümeler halinde ya da tek olarak mukoz hücreleri ile esas hücreler de denilen Zimojen hücreler tübüler bezlerin alt bölümünde daha fazla bulunurlar. Korpus midenin en büyük parçasıdır. Pilor, duodenuma açılan midenin alt bölgesini oluşturur. Burada düz kas hücrelerinde oluşan pilor sfinkteri bulunur (Guyton ve Hall, 1996). Şekil 2.2.'de midenin genel anatomisi, mide kan damar sistemi numaralandırılarak gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Mideğin genel anatomisi (Anonymous, 2005)

1. Celiak arter gövdesi
2. Sol gastrik arter
3. Genel karaciğer arteri
4. Karaciğer arteri
5. Gastroduodenal arteri
6. Sağ gastroepipolik arteri
7. Duodenal arteri
8. Kısa gastrik arteri
9. Sol gastroepipolik arteri
10. Dalak arteri

Mide mukozasının epitel tabakasında çok sayıda tübüler bez yer alır. Bu bezlerde üç tip salgı hücresi bulunmaktadır. Zimojenik hücreler pepsinojen salgılar ve bu madde pariyetal hücrelerden saliverilen hidroklorik asit (HCL) ile pepsine dönüştürülür. Salgi yapan hücrelerin çoğu mukus ve lizozim üretir, ancak arada HCL salgılayan birkaç pariyetal hücre bulunabilir. Pariyetal hücreler esas olarak H⁺ salgılar. Bu hücrelerde bol miktarda bulunan karbonik anhidraz enziminin etkisiyle stoplazmada bikarbonat ve hidrojen iyonları oluşur. Mukus hücreleri mukus salgılayarak hem mukozayı asit ve pepsinden korur, hem de besinleri iletirip kayganlaştırır. Pariyetal hücrelerden insitrik faktör de salgılanmaktadır. Glikoprotein yapıdaki insitrik faktör, vitamin B₁₂'yi bağlar ve ileumdaki özel mukoza reseptörlerine taşınmasını sağlar (Gedda ve ark., 1995; Guyton ve Hall, 1996).

Mideye ait ekzokrin (asit ve pepsinojen) ve endokrin (gastrin, histamin, somatostatin ve prostaglandin) salgılar sinirsel, parakrin ve hormonal yollar ile santral, periferik ve intrasellüler olarak düzenlenmektedir. Mide asit salgısının düzenlenmesi sefalik, gastrik, intestinal kaynaklı sinirsel ve hormonal stimüluslar ile sağlanmaktadır. Sefalik uyaranlar besinlerin düşünülmesi veya görülmesi gibi durumlarda ortaya çıkmaktadır. Ruhsal durumdaki değişiklikler de mide asit salgısını etkileyebilmektedir. Besinin mideye girmesi, mide mukozasında lokal refleksler aracılığı ile asit, gastrin salınmasını ve motiliteyi başlatmaktadır. Proteinler ve peptidlerin asidi kısmen nötralize etmesi, mekanik uyarı ile başlayan salgıları daha da arttırmaktadır (Schubert, 1994).

2.2. Mide Mukozası Hasarının Oluşumu

Gastroduodenal mukozadaki doku hücre hasarının önemli kaynaklarından birisi çoğu zaman kan akımının azalması ya da iskemiden kaynaklanan hipoksidir. Hipoksi, dönüşümlü ya da dönüşümsüz hücre hasarına neden olabilmektedir. Serbest radikallerin oluşması hasarı daha da ileriye götürebilmektedir. Serbest radikaller; çözünebilir proteinleri ya da membran yapısındaki enzimatik proteinleri etkileyerek hasara neden olabilmektedir (Morales ve ark., 1992).

Gastroduodenal hasarın tipleri arasında; diffüze mukozal nekroz, lokalize lezyonlar, ülserler ve akut ya da kronik nekrozlar sayılabilmektedir. Erozyon; mukozanın en üst tabakasını da kapsayan yüzeysel nekrozdur (Szabo, 1991). Nekroz, muskularis mukozaya doğru ilerler ise ülser adını alır. Dönümsüz hasara uğramış hücreler ya infiltrat olan inflamatuvar hücrelerle, ya da o bölgedeki makrofajlarla ortadan kaldırılır. Bakteri gibi enfekte edici ajanlarla oluşan gastroduodenal hasarda hem akut hem de kronik inflamatuvar hücreler rol oynamaktadır (Wallace ve Granger, 1996). Inflamatuvar hücreler organizmanın savunma birimleridir. Fakat lökositlerden salınan proteazlar ilk hasara etki ederler. Olusabilen şekil değişikliklerini hiperplazi ya da hipertrofi, bazen de malign değişimler izleyebilir (Wallace ve Bell, 1994).

Mide çeşitli endojen ve eksojen hasar verici ajanların hasarı başlatabileceği, hızlandırabileceği ya da kötülestirebileceği aktif bir ortamdır (Szabo, 1991). İndometazin ve benzeri nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar ile *H. pylori* bugün gastrik ülserin temel nedenleri arasında yer almaktadır (Wangovan ve Cover, 1996).

2.3. Gastroprotektif Faktörler

Mide asidinin asiri salgılanmasının mukozada ülser oluşumuna neden olduğunun düşünülmesi; antikolinergik ilaçlar, H⁺ reseptör antagonistleri, antiasitler ve proton pompa inhibitörlerini kapsayan ülser tedavisinin temelini oluşturmaktadır. Fakat artan asit salınımının tek başına nadiren ülser oluşturduğu fark edilmiştir. Prostaglandinlerin mide mukozasında direnci artırdığının keşfedilmesi sonucunda, mukozanın kendisini nasıl savunduğunun ve bunun dışarıdan nasıl değiştirilebileceğinin anlaşılması sağlanmıştır.

Andre Robert “sitoproteksiyon” sözcüğünü ilk kez kullanmıştır (Robert ve ark., 1979). Sitoprotektif ajanların derin hemorajik nekroz önlemesine karşı asit nötralizasyonu ve inhibisyonundan farklı mekanizmalarla korunmanın adidir.

Sitoproteksiyon terimi sözcük anlamını tam olarak karşılamamaktadır. Aynı konularda araştırma yapan Szabo, “gastroproteksiyon” terimini önermiştir (Szabo, 1991). Sitoproteksiyon mide korunmasında yer alan çok önemli bir fizyolojik mekanizmadır. Bu fonksiyon prostaglandinler sayesinde gerçekleşir. Sitoproteksiyon etki hücrelerin zedeleyici ve öldürücü etkenlere karşı direncinin artırılmasıdır. Bu etki midedeki asit ve pepsin sekresyonunu inhibe edici etkiden bağımsızdır. Prostaglandinlerin antiülserojenik etkisinde her iki faktör de rol oynar.

Sitoprotektif etki şu şekilde özetlenebilir;

- Mukus salgısının artması
- Bu salgı içindeki bikarbonat iyonları (HCO_3^-) 'nin artması
- Mukoza bariyerinin negatif elektrik potansiyelinin artması ile birlikte H^+ difüzyonunun önlenmesi
- Mukozal epitelin rejeneratif kapasitesinin artırılması
- Epitel hücrelerin lizozom membranlarının stabilitesinin geliştirilmesi (Kayaalp ve Türker, 1998).

Mukoza savunması terimi, hidrojen iyonları (pH), ozmolarite ve sıcaklık gibi etkenlere sürekli maruziyete karşı mukoza bütünlüğünün bozulmasına izin vermeyen faktörleri ifade etmektedir. Mukoza hasarı sürekli olarak oluşurken, çok çabuk onarılabilir. Böylece hasar en üstteki hücre tabakasında sınırlanarak zararli bileşiklerin sistemik dolaşımına geçmesi önlenmektedir. Mukoza içinde iritanlar bulunduğu da mukozanın direnci artmaktadır. Bu yüzden mukozanın hasara karşı direnci, hareketsiz bir bariyer işlevinden çok dinamik bir olay olarak görünmektedir (Wallace ve Bell, 1994).

Savunmanın ilk basamağını submukoza bezlerinden salınan asit, mukus, immüoglobulinler, laktoferrin, antibakteriyel bileşikler ve yüzey aktif fosfolipidleri oluşturmaktadır. Epitel hücreleri ise savunmanın ikinci basamağıdır. Bu hücreler asitle oluşan hasara karşı dirençlidirler ve pasif difüzyona karşı seçici bariyer oluştururlar. Epitel bütünlüğü bozulduğunda çok hızlı bir onarım başlamaktadır. Mukoza mikrosirkülasyonu savunmanın üçüncü basamağıdır. Asit ve toksinlerin geri

difüzyonu mukoza kan akimında bir artis oluşturmaktadır. Bu artis hasarın sınırlanmasında ve onarımın kolaylaştırılmasında önemli role sahiptir.

Savunmanın dördüncü basamağını mukoza immün sistemi oluşturur. Mast hücreleri ve mukoza içine yabancı maddelerin girişini algılayarak uygun inflamatuvar yanıtı yöneten makrofajlar gibi çeşitli alarm hücreleri bu sistemi oluşturur. Son olarak, derine inen mukoza hasarında, mide mukoza bezlerinin büyümesi ve gelişmesi, innervasyon ve mikrosirkülasyonun yeniden kurulması ile onarım süreçleri başlamaktadır (Szabo, 1991; Whittle ve ark., 1990; Whittle ve Lopez-Belmonte, 1993).

Mide mukozasının korunmasını sağlayan faktörler;

- Epitel hücreleri arasındaki siki bağlar
- Yeterli mukozal kan akımı
- Mukoza üzerindeki yapışkan mukus tabakasının koruyucu etkisi
- Mukus tabakası içinde bulunan bikarbonat iyonları ve glikoprotein moleküllerinin negatif elektrik etkisi ile hidrojen iyonunun (H^+) nötralize edilmesi
- Mide mukozasında yapılan prostaglandinlerin hem asit salgısını azaltıcı hem de sitoprotektif etki göstermesi
- Mukusun devamlı yenilenmesi ile mukoza üzerinde elektronegatif bir permeabilite bariyerinin oluşması ve bu sayede H^+ 'nin mukozaya geri difüzyonunun önlenmesi
- Mukoza yüzey epitel hücrelerinin ve tübüler bezlerin rejenerasyon yeteneğinin yeterli olmasının epiteldeki hasarı hızla onarması (Guyton, 1986; Kayaalp, 1998; Ganong, 1995).

Mukoza savunmasının tüm seviyeleri asıldığında midede ülser oluşur. Bu hasar, mukozadan daha içeriye yayılarak muskularis mukozaya kadar ulaşır. Bu aşamada son savunma basamağı olarak onarım başlatılmaktadır. Nekrotik dokunun ortadan kaldırılmasında akut inflamatuvar yanıt belirleyici rol oynamaktadır. Granülasyon dokusu yeni bölünen hücrelerin üstünü kaplayarak, mukoza yapısının yeniden kurulmasına imkan tanımaktadır. Bu olay kan damarlarının da gelişimi ile

sona ermektedir. Mide bezlerinin yeniden oluşabilmesi için, hasara uğramış alan içindeki damarların yeniden yapılanması gerekmektedir. İyileşme olayı ülser alanının sınırlarından başlayıp, ülserin ilk oluştuğu alanın merkezine doğru ilerlemektedir (Szabo, 1991; Wallace ve Bell, 1994).

2.4. İskemi/Reperfüzyon Tanımı ve Mekanizması

İskemi; dokuya giden kan akımının herhangi bir nedenle kesintiye uğraması sonucunda, o doku veya organın işlevini görememesidir. Başlangıçta hücrel ve intestisyel ödem, hücre fonksiyonlarının bozulması, nihayetinde hücrel kaos ve ölüm gerçekleşir (Grace, 1994). İskemiye bağlı gelişen doku hasarında hücrel enerji depolarının (ATP) tükendiği ve toksik metabolitlerin birikiminin katkısı ile hücre ölümünün gerçekleştiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Yu, 1994). Plazma membran değişiklikleri, asidoz, osmotik sok, kromatin ve nükleer piknozisin kümelenmesini izleyen sodyum ve kalsiyum iyon dengesinin bozulmasına yol açar. Bu değişiklikler mitokondriyal fosfolipaz aktivasyonu tarafından sentetik ve hemostatik kapasitenin yetmezliğinin yol açtığı ATP üretiminin azalması ve oksidatif fosforilasyonun kaybı mitokondriyal fosforilasyonu tarafından karşılanır (Grace, 1994).

İskeminin gelişiminde birden fazla faktör veya süreç öne sürülmekle birlikte hücrel hipoksi ve enerji krizinin önemli bir etken olduğu bilinmektedir. İskemi sonucunda reaktif oksijen metabolitlerinin üretiminde artış, iyon imbalansı, osmotik stres, mekanik stres ve metabolik bozukluklar gelişir (Clerk ve ark., 1998). İskemi sırasında gelişen anaerobik metabolizma sonucunda hidrojen iyonlarının birikimi ve ATP'nin tüketilmesi oksijen dağılımının azalmasına yol açar. Hücre içinde ATP sentezi azalır ve dokunun enerji dengesi bozulur. Anaerobik glikolizis sonucunda laktik asidoz hızlanır ve reperfüzyonla birlikte vücut için toksik olan serbest oksijen radikalleri artar (Aricioğlu ve ark., 1994). Stresin yol açtığı iskemi sonucunda oluşan H₂O₂ ve serbest radikaller, glikoliz ve oksidatif fosforilasyonu inhibe ederek ATP miktarının düşmesine yol açarlar (Cochrane, 1991).

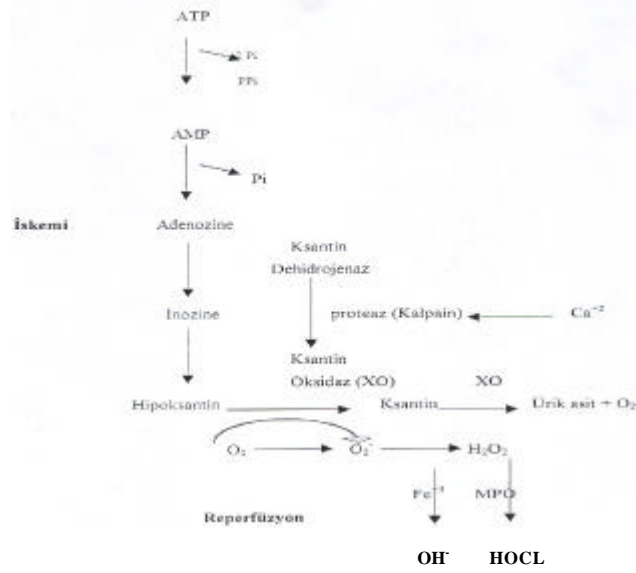
İskemi sırasında yüksek enerjili fosfat bileşiği olan ATP 'nin yitimi sonucunda hipoksantin ve ksantin gibi pürin metabolitlerinin konsantrasyonu yükselir, asiri miktarda hipoksantin birikir. Normal koşullarda hipoksantin, ksantin dehidrojenaz enzimini kullanarak, ortamdaki NADPH + H⁺ varlığında ksantin ve NADP oluşur (Czyrko ve ark., 1989). Ancak iske mi sırasında ksantin dehidrojenaz enzimi bol miktarda bulunduğundan, ksantin oksidaz'a dönüşür. Ksantin ve hipoksantin oksidasyonu esnasında *OH ve süperoksit radikali oluşur. Ksantin oksidaz endotel hücrenin önemli bir serbest radikal kaynağıdır. Süperoksit radikali post-iskemik dokuda ksantin oksidaz enzimi tarafından oluşturulan major üründür (Grace, 1994).

Reperfüzyon; kesintiye uğrayan kan akımının doku veya organda yeniden sağlanması, diğer bir deyişle dokunun yeniden kanlanmasıdır. İlk olarak yeniden enerji sağlanır, ikinci olarak ise toksik metabolitler ortamdaki uzaklaştırılır. Bu yüzden iskemik dokunun iyileşmesi için reperfüzyon şarttır. Bununla birlikte toksik metabolitlerin sistemik dolaşıma tekrar geri dönmeleri ciddi metabolik sonuçlara yol açabilir ve reperfüzyonun kendisi de ilave doku hasarları yapabilir (Grace, 1994).

Reperfüzyon esnasında aniden ortama bol miktarda oksijen katılması ile pürinlerin süratle okside olmasına neden olur. Oluşan ürat ve süperoksit anyonundan süperoksit; Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonlarını kullanarak demir veya bakır varlığında serbest hidroksil radikallerinin üretilmesine neden olur. Oluşan süperoksit anyonu endotel hücrelerde hidrojen peroksit, hidroksil peroksit, hidroksil radikali ve diğer oksijen metabolitlerinin açığa çıkmasına neden olur.

Ksantin oksidaz ve nötrofillerin aktivasyonu doku hasarında esas metabolizmayı oluştururlar (Şekil 2.3.). Sekonder otolizi (lizozomların sismesi, endoplazmik retikulumun vezikülasyonu ve dilatasyonu, enzimler ve proteinlerin sismesi, hücresel bölünmenin kaybı); membran bütünlüğünün bozulması ve hücre ölümü izler (Grace, 1994; Hansen, 1995). Reperfüzyon ile oksidatif aktivite meydana gelir, serbest radikaller üretilir. Hiperoksi durumunda moleküler oksijenin süperoksit radikale dönüşümü artarak, ilk birkaç dakika içinde serbest oksijen radikalleri

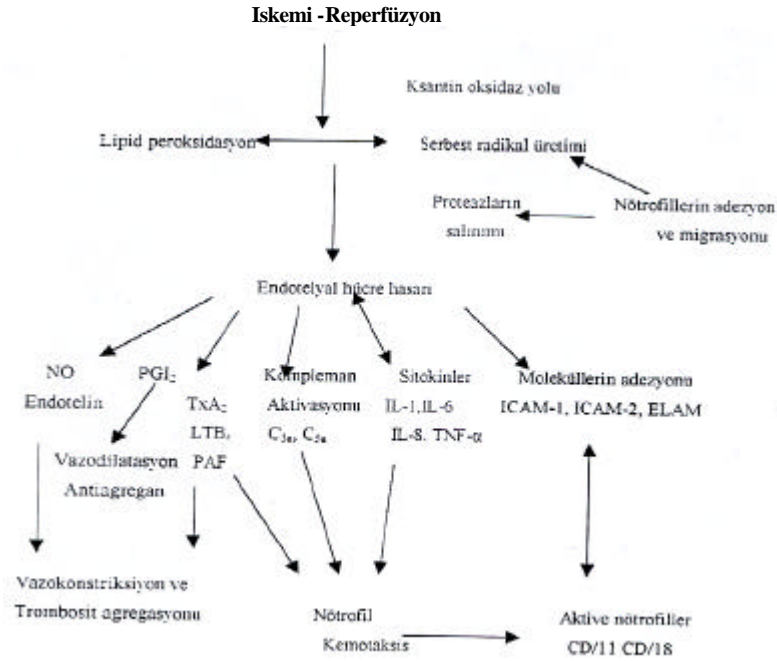
patlamasi olur ve bu durum reperfüzyon esnasinda hasarin daha da büyümesine neden olur (Grace, 1994).



Şekil 2.3. Reperfüzyon biyokimyası (Grace, 1994)

Reperfüzyon hasarının serbest radikaller, endotelial faktörler ve nötrofiller tarafından oluşturulduğu düşünülmektedir. Reperfüzyon esnasında çok sayıda serbest radikal elemanları üretilir ki hidroksil radikali çok daha reaktiftir ve lipid peroksidasyonunun başlangıç ürünüdür. Dinamik sistem çeşitli lokal çevre faktörleri, nötrofil kemotaksisi, yapışması ve göçü tarafından regüle edilir. Sonuçta, reperfüzyon tarafından oluşturulan hasarın iskemiye bağlı gelişen hasardan daha şiddetli olduğu bir çok araştırmacı tarafından açıklanmıştır (Grace, 1994; Hansen, 1995; Yu, 1994).

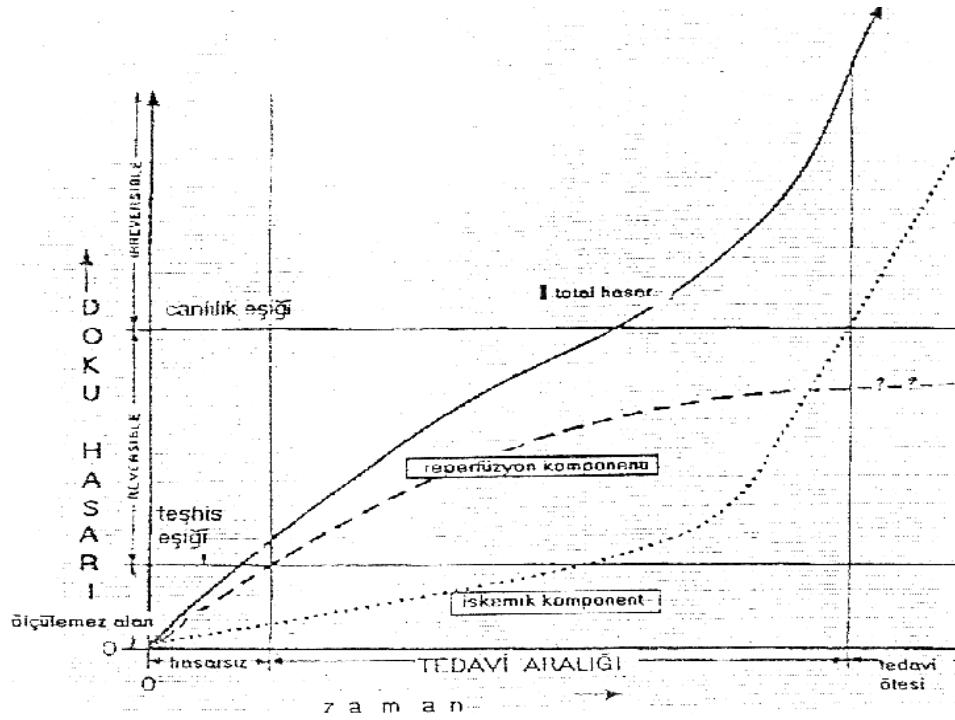
Reperfüzyon hasarı, mikrovasküler geçirgenliğin artışı, protein kaybı ve nötrofil salınımının morfolojik bulguları ile karakterizedir. Nötrofiller sistemik hasarda daima esas rolü oynarlar (Grace, 1994).



Şekil 2.4. İskemi/Reperfüzyon hasarında endotelial hücrelerin rolü (Grace, 1994)

2.4.1. İskemik ve hipoksik zedelenme

Hücre içerisinde hipoksi ilk olarak mitokondriyumda oksidatif fosforilasyonu engeller. Adenozin trifosfat (ATP) oluşumu durur. Hücre zarının duyarlı ATP aktivitesinin azalması, zarda aktif sodyum yetersizliğine yol açarak, hücre içi sodyum birikimi ve hücreden potasyumun dışarı atılmasına yol açar. Buna su birikimi de eşlik ederek akut hücresel şişme meydana gelir. Hücre içi adenozin monofosfat (AMP) artımı fosfofrüktokinaz enzimini uyarır ve aerobik glikoliz hızla artar. Hücre içerisinde inorganik fosfat birikimi, hücre içi pH'ı düşürür. Bu aşamada geri dönüşümlü zedelenme söz konusudur. Geri dönüşümsüz zedelenme aşamasında ise meydana gelen yapısal değişiklikler mitokondriyum ve kristallerinde asiri vakualizasyon, plazma zarında asiri zedelenme, lizozomlarda şişmeyi kapsamaktadır. İskemik alanın reoksijenizasyonu sırasında hücre içinde yoğun kalsiyum tutulumu oluşur. Bu birikme mitokondriyum matriksinde gerçekleşir.



Sekil 2.5. Iskemide hasarin zamana bagli degisimi (Hoshino ve ark., 1988)

Sonuçta oluşan hasar iskemi reperfüzyon periyodlarında oluşan hasarın toplamıdır. Sekil 2.5.'te iskemi-reperfüzyon komponentlerinin zamana bagli grafigi görülmektedir. Olayın gözlenebilmesi için toplam hasarın ölçülebilir düzeyde (teshis esigi) olması gerekir. Iskemi, geri dönüşümsüz hasar oluşacak kadar uzun sürmüссе (canlilik esigi), reperfüzyondan söz edilemez. Tedavi araligi asilir ve sonuçta tedavi ötesi söz konusudur. Iskeminin “orta periyodu” ya da tedavi araligi içerisinde iskemik komponent hala küçüktür ve reperfüzyon komponenti predominanttir. Etkin tedavi için uygun zamani gösterir.

Iskemi/Reperfüzyon sonucu oluşan total hasarın canlilik esigini geçme süresi tek basına iskemik periyod tamamen kısa ise, biyokimyasal degisiklikler için yeterli zaman söz konusudur. Bu durumun altında; total post iskemik hasar (hasarsiz alan) ölçülmeyecektir (Packer, 1991; Cotran ve ark., 1994).

Çizelge 2.1. İskemi/Reperfüzyon hasarında savunma mekanizması (Grace, 1994)

Serbest radikal temizleyicileri

Katalaz
SOD
Nafazotram

} Süperoksid ve hidrojen peroksid temizleyicileri

Mannitol
Dimetiltiyöüre
Dimetilsülfoksid
Merkapropionil glisin
Histidin

} Hidroksil radikali temizleyicileri

Serbest radikal üretim inhibitörleri

Allopurinol
Desferroksamin
Ksantin oksidaz inhibitörü
Demir bağlayıcı ajan

Nötrofil inhibitörleri

Adenozin ? Süperoksid anyonu modülatörü

Transforming growth faktor β
Monoklonal antikorlar CD-11, CD-18 } Nötrofil adhezyon inhibitörü

Antiproteazlar ? Nötrofil proteaz aktivitesi inhibüsyonu

Perflurokimyasallar ? Nötrofil kemotaksis supresyonu ve lilozim

Antioksidanlar

Vitamin E
Propranol Peroksidasyonu durduranlar
Kalsiyum kanal blokerleri
Kaptopril
Nafazatrom

} Peroksidasyonu durduranlar

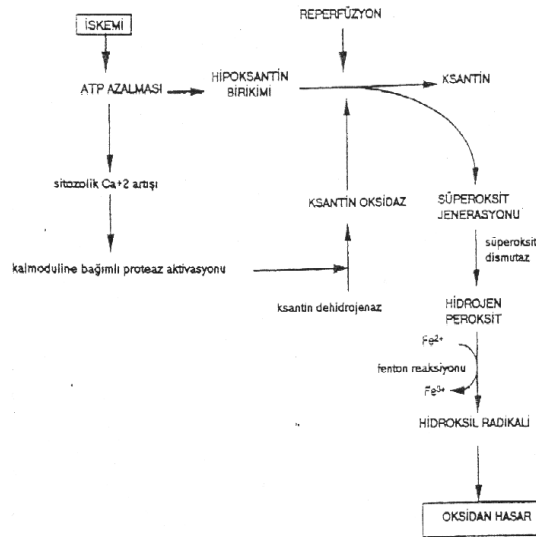
Hipotermi

? Metabolizmanın yavaşlaması

2.4.2. Hücre zedelenmesinde serbest radikaller

Reaktif oksijen türevlerinin (süperoksit radikali, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali) bir çok organ sisteminde iskemik peryotta oluşan hasardan daha fazla bir hasarın reperfüzyonda olustuguna dair deliller vardır (Yia-Herttua, 1991; Zimmerman ve Granger, 1994; Bulkley, 1987).

Reperfüze olmuş iskemik dokuda en az üç tane aktif oksijen radikal kaynağı mevcuttur. Aktifleşmiş fosfolipaz, hücre membran fosfolipidlerinden arasidonik asidi serbestleştirir. Bu da serbest radikal oluşturan siklooksijenaz ve lipooksijenaz yollarını aktive eder (Ferrari ve ark., 1991). Normalde NAD^+ 'yi NADH 'a indirgeyerek, hipoksantin-ksantin-ürik asit dönüşümünü katalizleyen ksantin dehidrojenaz, iskemi sırasında sınırlı bir proteoliz ile ksantin oksidaza dönüşür. Bu dönüşümün miktarı doku iskemisinin süresiyle orantılıdır. Ksantin oksidaz reaksiyon sırasında elektron alıcısı olarak NAD^+ 'yi değil moleküler oksijeni kullanır. Bu enzim düşük oksijen basıncında aktif değildir, reperfüzyonda oksijen basıncı arttığında aktifleşir. Aşağıdaki şekilde görüldüğü gibi; iskemik hücrelerde adenosin trifosfat (ATP) depoları hızla azalırken ksantin oksidaz enziminin substratı olan adenosin, inozin, hipoksantin gibi pürin metabolitleri ortamda birikirler.



Sekil 2.6. İskemide oluşan oksijen radikalleri (Brady ve ark., 1996)

Reperfüzyon esnasında oksijenin dokulara yeniden girişi ile aktifleşen ksantin oksidaz, bu maddeleri kullanarak süperoksit üretiminde adeta bir patlamaya sebep olur (Hoshino ve ark., 1988). İskemi, kompleman sistemini ve kemotaktik faktörlerin oluşumunu aktive eder. Bu sahada toplanan nötrofiller, NADPH oksidaz enzimi yolu ile süperoksit üretir.

2.5. Serbest Radikal Kaynakları

Serbest radikal dış orbitalinde tek sayıda elektron bulunan bir atom veya moleküldür. Hem organik hem de inorganik moleküller halinde bulunurlar. Bu bileşikler organizmada normal metabolik yolların işleyişinde olduğu gibi, çeşitli dış etkenlerin etkisiyle de oluşmaktadır. Çok kısa yaşam süreli ancak yapılarındaki dengesizlik nedeniyle çok aktif yapıları olan serbest radikaller tüm hücre bileşenleri ile etkileşime özelliği göstermektedir (Del Maestro, 1980; Kehrer ve ark, 1994).

Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu meydana gelmektedirler. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötr olabilirler. Cu^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Mo^{5+} gibi geçiş metallerinin de ortaklaşmamış elektronları olduğu halde serbest radikal olarak kabul edilmezler. Fakat bu iyonlar reaksiyonları katalizlediklerinden dolayı serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar (Akkus, 1995).

Çizelge 2.2. Serbest oksijen radikalleri (Akkus, 1995)

Tür	Adı	Tür	Adı
O_2	Singlet oksijen	NO^\cdot	Nitrikoksit
O_2^\cdot	Süperoksit	NO_2^\cdot	Nitrojendioksit
H_2O_2	Hidrojen peroksit	NO_2^+	Nitril katyonu
OH^\cdot	Hidroksil radikali	NO^-	Nitroksil
ROO^\cdot	Peroksi radikali	NO^+	Nitrozil
RO^\cdot	Alkoksi radikali	ONOO^\cdot	Peroksinitrit
ROOR^\cdot	Endoperoksit	ONOO^\cdot	Peroksinitrit radikali

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşan radikallerdir (Akkus, 1995). Oksijen radikalleri inflamasyon ve doku hasarı patogeneğinde rol aldıkları bilinen bileşiklerdir (Baki ve ark., 2000). Oksijen atomunun dış yörüngesini oluşturan p orbitalinde 2 elektron eksik olduğundan diradikal olarak kabul edilir. Oksijen radikal durumunda iken radikal olmayan yapılarla yavaş, serbest radikallerle ise kolayca reaksiyona girebilmektedirler (Cheeseman ve Slater, 1993).

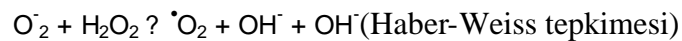
2.5.1. Süperoksit radikali (O_2^-)

Süperoksit anyonu, moleküler oksijenin bir elektron almasıyla meydana gelir (Akkus, 1995). Normal koşullarda oluşan temel oksijen radikali anyonudur. İndirgeyici özellikteki biyomoleküller oksijene tek elektron verip kendileri oksitlenirken süperoksit radikali oluşur. Hidrokinonlar, flavinler, tiyoller, katekolaminler, ferrodoksinler, indirgenmiş nükleotidler gibi yüzlerce biyolojik molekül aerobik ortamda oksitlenirken süperoksit yapımına neden olurlar. Basta çeşitli hidrojenazlar ve oksidazlar olmak üzere, yüzlerce enzimin katalitik etkisi sırasında süperoksit radikali bir ürün olarak oluşabilir. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu radikal yapımı, daha reaktif ürünlerin oluşumunu da başlatır (Kiliç ve Kiliç, 2002).

Süperoksit, bir serbest radikal olmakla birlikte kendisi direkt olarak fazla zarar vermez. Asıl önemi hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır (Akkus, 1995).

Süperoksit anyonu ortamdan uzaklaştırılmazsa;

- Ortamdan bir proton alarak perhidroksil radikali oluşturabilir.
- Perhidroksil radikali ile tepkimeye girerek oksijen ve H_2O_2 'i oluşturabilir.
- H_2O_2 ile tepkimeye girerek hidroksil radikali ve tekli oksijen oluşturabilir (Kiliç ve Kiliç, 2002).



Süperoksit radikalının ortamdaki uzaklaştırıldığı tepkimeye dismutasyon tepkimesi denir.



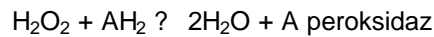
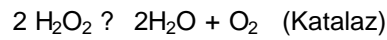
Bu tepkime, süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından süperoksit radikalından hidrojen peroksit ve oksijen molekülü oluşmasıyla sonuçlanır (Kilinç ve Kilinç, 2002).

2.5.2. Hidrojen peroksit (H₂O₂) radikali

Hidrojen peroksit, süper oksit radikalının spontan veya SOD ile katalizlenen dismutasyon reaksiyonuyla ya da moleküler oksijenin iki elektron alarak indirgenmesiyle meydana gelir. Ancak biyolojik sistemlerde hidrojen peroksitin asıl üretimi süperoksitin dismutasyonu ile olur (Akkus, 1995).

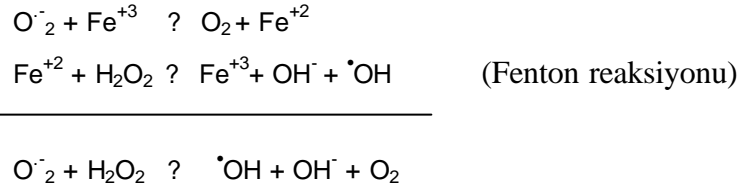
Hidrojen peroksit, ortaklanmamış elektron içermediğinden radikal özelliği taşımaz, bu yüzden gerçekte serbest radikal değildir. Oksitleyici bir tür olarak bilinmesinin bakır, demir gibi metal iyonların varlığında hidroksil radikalının öncülü olarak davranmasıdır (Kilinç ve Kilinç, 2002).

H₂O₂ membranlardan kolayca geçebilen uzun ömürlü bir oksidandır (Akkus, 1995). Biyolojik sistemlerde oluşan H₂O₂'in derhal ortamdaki uzaklaştırılması gerekir. Bu görevi hücrelerdeki önemli oksidan enzimler olan katalaz ve peroksidaz enzimleri yerine getirirler (Kilinç ve Kilinç, 2002).



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

Hidroksil radikali hem süperoksit anyonundan hem de hidrojen peroksitten meydana gelir. Her iki reaksiyon da oksijen radikallerine ihtiyaç duyar (Erden, 1992). Biyolojik ve kimyasal sistemlerde üretilebilen hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$) canlılarda iki mekanizma ile oluşabilir. Birincisi iyonlaştırıcı radyasyon etkisi ile sulu ortamda su moleküllerinin iyonlaşması gerçekleşir. İkincisi ise hidrojen peroksidin eksik indirgenmesi ile hidroksil radikali yapımı, vücutta bu radikalin en önemli kaynağıdır. H_2O_2 'nin iki elektron ile indirgenmesiyle su oluşurken, tek elektronla indirgenmesi OH yapımına neden olur. Bu tür indirgenme Fe, Cu gibi metal iyonları tarafından katalizlenir (Kilinç ve Kilinç, 2002).



Hidroksil radikali son derece reaktif bir oksidan radikaldir. Yarılanma ömrü çok kısadır. Oluştugu yerde büyük hasara sebep olur (Erden, 1992).

2.5.4. Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$) radikal

Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$) ortaklaşmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Serbest radikal reaksiyonu sonucu meydana geldiği gibi serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da neden olur. Oksijenin elektronlarından birinin enerji alarak kendi spinin ters yönünde olan başka bir orbitalle yer değiştirmesiyle oluşur (Akkus, 1995).

Serbest oksijen radikallerinin etkisi sonucu karbon merkezli radikaller ($\text{R}\cdot$), peroksil radikalleri ($\text{RO}\cdot$), tiyol radikalleri ($\text{RS}\cdot$) gibi önemli serbest radikaller de meydana gelirler. Bunlardan özellikle poliansatüre yağ asitlerinden meydana gelen peroksil radikali yarı ömrü uzun olan bir radikaldir (Akkus, 1995).

2.5.5. Radikallerin hücre üzerindeki etkileri

Serbest oksijen radikalleri, hücrenin önemli komponentleri olan lipid, karbonhidrat, protein ve DNA'yi oksitleyerek biyolojik sistemlerde ağır hücre zedelenmelerine neden olurlar (Uysal, 1998). Organizmada serbest radikallerin zararlı etkilerini ortaya koymadan etkisizleştirilmesini sağlayan güçlü savunma sistemi bulunmaktadır. Serbest radikallerin oluşum hızı ile etkisizleştirilme hızı dengede olduğu sürece organizma bu bileşiklerden etkilenmemektedir. Buna karşılık savunma azalır veya bu zararlı bileşiklerin oluşum hızı sistemin savunma gücünü asarsa, bu denge bozulmakta ve serbest radikallere bağlı zararlı etkiler ortaya çıkmaktadır (Halliwell, 1996; Nakazawa, 1996). Serbest radikallerin organizma üzerindeki etkilerini öncelikli olarak membran lipidleri üzerinde lipid peroksidasyonu meydana getirerek göstermektedirler.

Lipid peroksidasyonunda, hücre membran fosfolipidlerindeki poliansatüre yağ asidi (PAYA) ile oksijen radikali, lipid hidroperoksitlerini (LOOH) oluşturmak için reaksiyona girer. Peroksidasyonun şiddeti lipidlerin doymamışlık derecesi ile orantılı olarak artar. PAYA'ların oksitlenmesi ile yağ asidi radikali (L) ortaya çıkar, buna oksijenin eklenmesiyle lipid peroksi radikali ortaya (LOO) oluşur. Peroksi radikali zincir reaksiyonun taşıyıcısıdır. Eğer E vitamini gibi bir antioksidan tarafından önlenmezse komşu PAYA moleküllerini okside eder (Vannucci ve ark., 1997). Bu durumda yeni radikallerin ve toksik aldehytlerin oluşmasına neden olan lipid hidroperoksitleri meydana gelir.

Lipid peroksidasyonu membran yapısına ve diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Membran geçirgenliği ve membran akiskanlığı ciddi şekilde etkilenir. Lipid peroksitlerinin yıkımından oluşan ürünlerden biri malondialdehittir (MDA). Bu, protein ve fosfolipidlerle çapraz bağ ve polimerizasyon yaparak özelliklerinin kaybolmasını sağlar. MDA, deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intristik membran özelliklerini değiştirir. Hücrenin her tarafına dağılarak, özellikle sülfidril içeren enzimleri inaktive eder.

Nükleik asitlerle etkilemeye girerek genetik sifreden mutasyonlara yol açar (Freeman ve Crapo,1982).

Proteinlere etkileri; proteinlerin serbest radikallerden ne derecede etkileneceği aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, sistein gibi aminoasitler kolaylıkla etkilenirler. Çünkü doymamış bağ ve sülfür grubu içeren moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksektir. Etkileşim proteinlerin spesifik bölgeleri üzerinde yoğunlaşmış hücrenin canlılığını olumsuz etkileyebilir (Cheeseman ve Slater, 1993).

Nükleik asit ve DNA'ya etkileri; iyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA'yi etkileyerek hücrede mutasyonların oluşmasına ve hücre ölümüne yol açarak gösterirler. Oksijen radikalleri oksidatif yarılma ile DNA hasarına yol açabilirler. DNA bağlarının kopması ile DNA çift sarmalının ayrılması sonucunda hücrede mutasyonlar ya da hücre ölümü gerçekleşebilir (Cheeseman ve Slater, 1993; Halliwell, 1996). Nötrofillerin NADPH oksidaz enzimi yolu ile oluşturdukları H_2O_2 membranlardan kolayca geçip hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına neden olup, hücre disfonksiyonu veya ölümüne yol açabilir (Akkus, 1995).

Karbonhidratlara etkilerini ise monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu peroksitler ve oksoaldehitler meydana gelmesiyle gösterirler (Akkus, 1995). Okzaloaldehidler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme, aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Böylece kanser, yaşlanma, diyabet ve kronik hastalıklar gibi patolojik proseslerde önemli rol oynarlar (Akkus, 1995).

2.6. Antioksidan Savunma Sistemleri

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bunlar “antioksidan savunma sistemleri” ya da kısaca “antioksidanlar” olarak bilinirler. Hücrenin hem sivi hem de membran kısımlarında bulunabilirler.

Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya çok daha zayıf bir moleküle çevirme işlemine toplayıcı etki denir. Antioksidan enzimler, trakeobronşial mukus ve küçük moleküller bu tip bir etki gösterirler. Serbest oksijen radikalleriyle etkilesip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan ya da inaktif sekle dönüştüren olaya bastırıcı etki adı verilir. Vitaminler, flavanoidler, trimetazidin (antiiskemik bir ajan) bu tarz bir etkiye sahiptirler (Akkus, 1995).

Antioksidanlar; endojen kaynaklı ve eksojen kaynaklı antioksidanlar olmak üzere baslıca iki ana gruba ayrılırlar.

Endojen antioksidanlar: Enzimatik antioksidanlar ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Enzimatik antioksidanlar; süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz, mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi tarafından oluşmaktadır. Enzimatik olmayan antioksidanlar; lipid fazda a-tokoferol, β-karoten, sıvı fazda ise askorbik asit, glutatyon, albümin, sistein, ürat, transferin, laktoferrin, ferritin, serüloplazmin, hemoglobin, miyogloblin, billuribinden oluşmaktadır.

Enzimatik antioksidanları oluşturan süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon gibi redoks siklusunda yer alan enzimler, hücre içindeki primer korunma sistemini meydana getirirler. Bunlar serbest radikal zincir tepkimesinin başlaması için gerekli olan serbest radikal miktarını azalttiklarından, primer antioksidanlar olarak tanımlanırlar (Shlafer ve ark., 1992; Ferrari ve ark., 1991; Fridovich, 1978).

Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır. Hipoksi esnasında SOD'un aktivitesi azalır. Fizyolojik fonksiyonu, aerobik organizmaları süperoksitin zararlı etkilerine karşı korumaktır. Bu enzim süperoksit anyonunun hidrojen peroksid ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. Katalaz, iki hidrojen peroksit molekülünden birini elektron vericisi, diğeri elektron alıcısı olarak kullanarak bunları zararsız hale getirir (Shlafer ve ark., 1992; Gaetani ve ark., 1989).

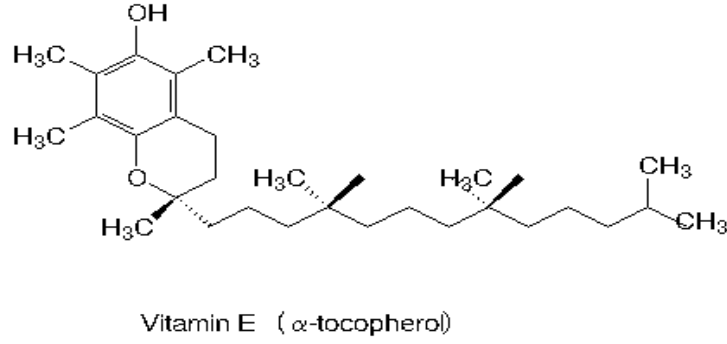
Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), a-tokoferolden sonra ikinci bir savunma hattı olarak, peroksidleri membrana zarar vermeden yok eder. H_2O_2 'yi detoksifiye eder ve lipid hidroperoksidlerini toksik olmayan bir alkole çevirir (Imlay, 1988; Ferrari, 1991; Curella ve ark., 1987). Bu işlem için elektronlarını aldığı glutatyon (GSH) ihtiyaç duyar. GSH-Px 'in devamlı oluşan hidrojen peroksidi ortadan kaldırma çabası glutatyonda azalma ile sonuçlanır ve hücrenin oksidatif hasarına yol açar. İskemik dokudan GSH sızıntısı ve artmış metabolik kullanım nedeniyle İR'da doku GSH düzeyinde azalma meydana gelir. Ayrıca GSH'in otooksidasyonu sırasında a-tokoferol ile etkileştiği gösterilmiştir (Akkus, 1995; Packer, 1991).

Eksojen antioksidanlar: Enzim inhibitörleri olarak; aldehit, allopürinol, oksipürinol, folik asit, tungsten, NADPH oksidaz inhibitörleri (non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar, adozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri) sıralanabilir. Non-enzimatik serbest radikal toplayıcıları; dimetilsülfoksit ve mannitol eksojen antioksidan grubuna girerler. Demir-redoks döngüsü inhibitörleri; desferroksamin, serüloplazmin. Nötrofil adhezyon inhibitörleri.

Gıda antioksidanları; butylated hydroxytoluene (BHT), propylgalate, butylated hydroxyanisole (BHA), sodyum benzoat, ethoxyquin.

2.6.1. Vitamin E

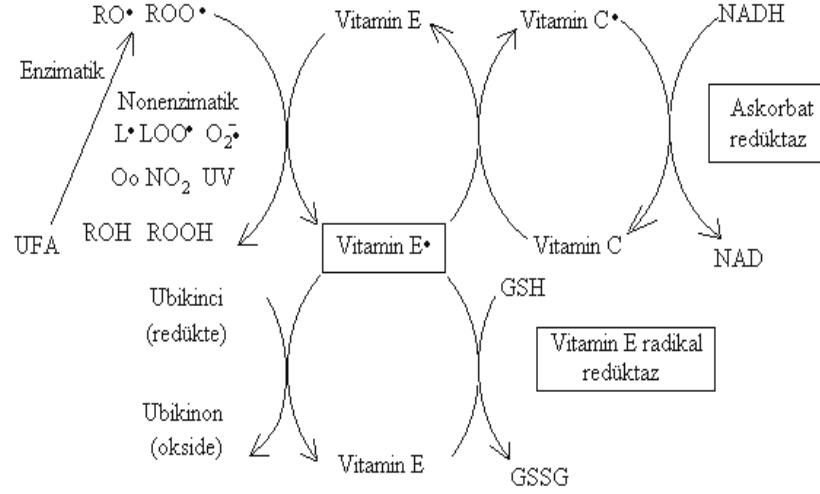
Vitamin E doğada bulunan birbiri ile bağlantılı bir grup bileşiği kapsamaktadır. Bunlar temelde 2-metil-6 kroman halkası içerirler. Vitamin E benzeri etkiye sahip bileşikler iki grupta toplanırlar. Birinci grup tokoferoller, ikinci grup tokotrienoller olarak adlandırılır. a-tokoferol doğada yaygın olarak bulunan bir vitamindir. Vızkoz, beyazimsi sarı renkte olan bu vitamin işiye dayanıklı fakat oksijen ya da ultraviyole ile degrade olur. Yapısında bulunan fenolik hidroksil grubuna sahip aromatik halka, vitaminin kimyasal olarak aktif kısmını oluşturur ve antioksidan özelliğinden sorumludur (Top, 1993). Vitamin E 'nin biyolojik olarak en aktif formu a-tokoferoldür. Şekil 2.7.'de a-tokoferol'ün yapısı görülmektedir.



Şekil 2.7. Vitamin E yapısı (5,7,8 trimetil tokol) (Anonymous, 2005)

Vitamin E yağda çözünen ve zincir-kirici bir antioksidandır. Lipofilik yapısı sebebiyle; moleküler oksijen ve serbest radikallerle çok hızlı bir şekilde reaksiyona girebildiği yerler olan lipoproteinlerde, hücre membranında ve yağ dokusunda birikir. Özellikle membranlardaki ansatüre yağ asitlerini peroksidasyon reaksiyonlarından korur (Dieber-Rotheneder ve ark., 1991). Vitamin E, sellüler ve subsellüler membran fosfolipidlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerinin peroksidasyonuna karşı ilk savunma hattını oluşturuyor gibi gözükmektedir (Packer, 1991; Gey, 1990). Mitokondri, endoplazmik retikulum ve plazma membran fosfolipidlerinin a-tokoferol'e karşı affiniteleri vardır ve vitamin burada yoğunlaşmaktadır (Cotran ve ark., 1994).

Tokoferoller, fenolik bir hidrojeni, peroksidasyona uğramış bir poliansatüre yağ asidindeki serbest peroksit radikale aktarabilmelerinin sonucu serbest radikal zincir reaksiyonlarını kırarak antioksidan bir davranış ortaya koymaktadırlar. Oluşan serbest fenoksi radikali bundan sonra yeni bir serbest peroksit radikali ile reaksiyona girer. Böylece a-tokoferol kolay kolay reversibl oksidasyona uğramaz, kroman halkası ve yan zincir, serbest olmayan radikal ürününe okside olurlar. Bu oksidasyon ürünü, ikinci konumdaki hidroksil grubu üzerinden glukuronik asid ile konjugasyona uğrayarak safra yolu ile atılır (Cotran ve ark., 1994).



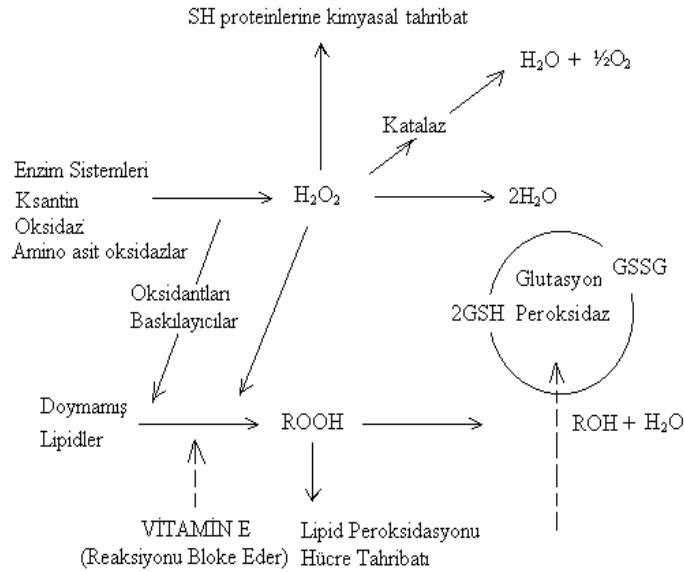
Sekil 2.8. Vitamin E'nin diğer antioksidanlarla ilişkisi (Arendt, 1988)

Vitamin E'nin baslıca fonksiyonu; hücre membran fosfolipidlerinde bulunan çoklu doymamıs yağ asitleri ve özellikle LDL kolesterolü serbest radikallerin oksidasyonundan korumaktır. Zincir kırıcı antioksidanlardan biridir (Akkus, 1995; Arendt, 1988). Sekil 2.8.'de Vitamin E'nin antioksidan yapısına bağılı olarak diğer antioksidanlarla ilişkisi sematize edilmiştir. Vitamin E'nin antioksidan yapısı radikal oluşumunu arttıran çeşitli substratların peroksidasyon reaksiyonlarının (özellikle yağ metabolizmasının) kontrolünde olmasına neden olur.

E vitamini eksikliğinde, yüksek düzeyde reaktif olan $\cdot OH$ radikali çoklu doymamıs yağ asitlerinin membranlardaki peroksidasyonunu başlatabilir. Glutasyon peroksidaz sistemi bunun ardından glutasyon redüktaz ve glukoz-6-fosfat dehidrojenaz yolu ile rejenere edilir. Selenyum, pankreasın bütünlüğü korur ve böylece normal lipid emilimine yol açar. Glutasyon enzimleri vasıtasıyla peroksitleri tahrip eder. Çoklu doymamıs yağ asitlerinin oksidatif saldırısını önler ve E vitamin

gereksinimini azaltılır. E vitamini ise, selenyum aktif formda tutar, selenyum kaybını önler ve membran lipidlerinde otooksidasyon reaksiyonları zincirini önler (Galli ve Socini, 1981).

Çeşitli substratların oksidasyon reaksiyonları vasıtasıyla serbest radikaller ve süperoksit anyonlar gibi yüksek düzeyde reaktif ara ürünler oluşur. Bu reaktif ara ürünler süperoksit dismutaz, katalaz, peroksidaz ve özellikle de glutasyon peroksidaz (selenyum bağımlı) gibi çeşitli enzimatik reaksiyonlar ile vücutta antagonize edilirler. Serbest oksijen radikalleri tarafından oluşturulan oksidatif stres hücrenin zarla çevrili tüm organellerini etkileyerek hücreye zarar verir. Zarar mekanizması tüm zarlardaki lipidlerin peroksidasyona uğraması ve bütünlüğün bozulması şeklindedir. Vitamin E ve benzer yağda eriyen bileşikler hücre zarında lipid moleküllerinin arasına yerleşerek peroksidasyona karşı zarı ve hücreyi korur (Baltacı, E., 1995). Şekil 2.9'da görüldüğü gibi Vitamin E'nin serbest radikallerin oluşturduğu reaksiyonları bloke ettiği görülmektedir.



Şekil 2.9. Vitamin E'nin antioksidan etkisi (Galli ve Socini, 1981)

Tokoferolün total iskemi uygulanan izole organlarda iskemiden koruyucu etkisi bulunmuştur. Siçanlarda miyokard ve karaciğer üzerinde çalışılmış ve miyokarddaki

koruyucu etkinin karaciğere göre daha fazla olduğu tesbit edilmiştir (Paranich ve Iukhnik, 1993).

İskemik hücrelerde hasarın nedeni serbest radikal reaksiyonlarına bağlanmış olup, a-tokoferolün antioksidan özelliği ile iskemiye azaltıcı etkisi gösterilmiştir (Esterbauer ve ark., 1991; Marubayashi ve ark., 1986; Lee ve Clemens, 1992). a-tokoferol görevini tamamladıktan sonra yeniden devreye dahil olmadığından, hücredeki biyolojik rolünü sürdürmek için tümü ile yenilenmelidir. Tokoferollerin antioksidan etkisi yüksek oksijen konsantrasyonlarında etkilidir ve bundan dolayı en yüksek oksijen basınçlarına maruz kalan lipid yapılarında örneğin; eritrosit membranları ve solunum sistemi membranlarında yoğunlaşma eğilimi artırıcı değildir (Scott, 1980).

Vitamin E'nin İskemi/Reperfüzyon zararlarına karşı koruyucu etkisi, serbest oksijen radikallerinin oluşumunu azaltarak doku hasarını azaltma şeklindedir (Uysal, 1994).

2.6.2. *Cyperus rotundus*

Cyperus rotundus L. Cyperaceae familyasına ait kozmopolit çok yıllık bir bitkidir. Dünyanın tropikal ve sıcak iliman bölgeleri boyunca, hemen hemen her çeşit toprakta özellikle nemli topraklarda yayılımını sürdürür. *Cyperus rotundus* geleneksel tıbbi bir bitki olup özellikle Hindistan, Çin ve Japonya'da doğal hapları spazm ve mide rahatsızlıklarına karşı kullanılmaktadır (Hall ve ark., 2004; Dassanayake ve Fosberg, 1985).

Yaprakları kısa, gövdesi 3 köseli, kök sapları zeytin tanesi biçiminde, esmer yumru, çok yıllık bir sazotu türüdür (Şekil 2.10.). Yumrularından infüzyon yoluyla faydalanılır. Nisasta, şeker, etken maddeleri flavanoidler, eterik yağlar ve alkoloitler içerir.

Asya ülkelerinde *Cyperus rotundus*'un rizomları yapılan kapsamlı araştırmalar sonucunda mide ve bağırsak düzensizlikleri ve antiinflamatuvar hastalıkların

tedavisinde geleneksel tıbbi ilaç olarak kullanılmaktadır (Thebtaranonth ve ark., 1995).



Sekil 2.10. *Cyperus rotundus*'un bir görüntüsü
(Anonymous, 2000)

Toprak altında rizomlar (yumru ve tüber) ile çoğalır. Toprak üstündeki kısmı 30-40 cm boylu olmasına karşılık, genelde birim alandaki yoğunluğu çok fazla olduğundan diğer bitkilerle rekabet gücü yüksektir. Mart sonu veya nisan başında toprak yüzüne çıkar, bu arada toprak altı organlarını (rizom) çoğaltarak buralardan da çıkışlar yapar (şekil 2.11.). Bu çıkışlar soguk günlere kadar devam eder.



Sekil 2.11. *Cyperus rotundus*'un rizomları
(Anonymous, 2000)

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanlari

Bu çalışma Harran üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Arastirma Laboratuvarında gerçekleştirildi. 180-200 gr ağırlığında sağlıklı erkek Wistar albino sıçanlar (Ankara Hifzisiha Serum Çiftliği) temin edildi. Arastirma süresince Ankara Yem Fabrikası'nın özel fare yemi ile beslenen deneklere musluk suyu verildi. Paslanmaz çelik kafesler, üzeri tel muhafazalı olup 40×20×15 cm boyutlarındadır. 5 gruba ayrılan sıçanlar her bir kafes içerisinde n=6 denekten oluşacak şekilde gruplandırıldı. Deneyden önce 15 gün süreyle sıçanlar gözlenmiştir.

3.2. Deney Gruplari

Bu Deneyde sağlıklı 30 adet sıçan her grupta n=6 olmak üzere 5 esit gruba ayrıldı. Deneyden 18 saat önce aç bırakılan sıçanlara su serbest bırakıldı.

Grup 1 (Sham Kontrol Grubu): Bu grup n=6 denekten oluşmuştur. Bu grupta deneklerin karınlarına periton açılarak girildi ve başka bir işlem yapılmadı. Normal değerlerin saptanması amaçlandı.

Grup 2 (Kontrol Iskemi Grubu): Bu grup n=6 denekten oluşmuştur. Hasta grup olarak da adlandırılan grupta deneklerin midelerinde Celiak, Özofagus ve Pilor'dan gelen arterler bağlanarak 60 dakikalık iskemi uygulaması gerçekleştirildi.

Grup 3 (C. rotundus + Iskemi Grubu): Bu grup n=6 denekten oluşmuştur. Bu gruba 60 dakikalık iskemi uygulamasından 10 dakika önce oral yolla (p.o.) bitki ekstresi (200mg/kg) verildi.

Grup 4 (*C. rotundus* + I/R Grubu): Bu grup n=6 denekten oluşturmıştır. Bu gruba İskemi/Reperfüzyon uygulamasından 10 dakika önce oral yolla bitki ekstresi (200 mg/kg) verilip, 60 dakikalık iskemi takiben 60 dakikalık reperfüzyon gerçekleştirildi.

Grup 5 (Vitamin E + İskemi Grubu): Bu grup n=6 denekten oluşturmıştır. Bu gruba 60 dakikalık iskemi uygulamasından 10 dakika önce oral yolla bitki ekstresi (100 mg/kg) uygulandı.

3.3. Bitki Ekstraksiyon Yöntemi

Bu çalışmada *Cyperus rotundus* (topalak) bitkisi Sanliurfa'da tıbbi bitkiler aktarından temin edildi. *C. rotundus* rizomları temizlenerek suda iyice yıkandı ve inkübatör ile kurutuldu. Daha sonra elektrikli öğütücü ile öğütülerek toz haline getirildi. %100'lük metanol içerisinde bırakılan toz halindeki bitki rizomu 24 saat bekletildi, daha sonra süzülerek tortusu atıldı. Negatif basınç altında rotary evaporator vasıtasıyla metanol uzaklaştırıldı.

“

Elde edilen *Cyperus rotundus* ekstresi deneyde kullanılmak üzere %10 'luk süspansiyonu hazırlandı. 10 ml Gum Arabica'da 200 mg/kg dozlar hazırlandı. Deneylere başlamadan 10 dakika önce deneklere oral yolla (p.o.) verildi.

3.4. Deneyin Yapılışı

Wada ve arkadaşlarının (1995) metodunu göre I/R tarafından gastrik mukozal hasar oluşturuldu. Sıçanlar; Ketamin/Xylazine anestezisi (35mg/kg-5mg/kg) altında kısa süreli aracılığıyla Celiak, Özofagus ve Pilor' dan gelen arterler bağlanarak 60 dakika boyunca sikistirilmeyle iskemi durumunda bekletildi. Oluşturulan grupların içinde sham kontrol grubu hariç diğer gruplarda iskemi gerçekleştirildi. 1. Grup olan sham kontrol grubuna herhangi bir işlem yapılmamış olup, sadece normal değerlerin saptanması amaçlandı. 2. Grup kontrol iskemi grubuna tedavi amaçlı herhangi bir işlem yapılmayıp yalnızca iskemi gerçekleştirildi. 3. ve 4. Gruplara deneye

başlamadan 10 dakika önce orogastrik olarak oral yolla (200 mg/kg) bitki ekstresi verildi. 5. Gruba ise Iskemi uygulamasından 10 dakika önce oral yolla (100 mg/kg) Vitamin E verildi. Yalnızca 4. Grupta sıçanlar iskemiden sonra 60 dakika boyunca kiskacin kaldırılması ile reperfüze edilerek I/R uygulaması gerçekleştirildi.

Uygulama bitiminde vertikal orta hat insizyonu ile karınları açıldı. Kaldiya bölgesinin hemen üstünden, pilor bölgesinin altından kesilerek mide çıkartıldıktan sonra deneklerin kalplerine hava verilerek öldürüldü. Çıkartılan mide, Pilor'dan Kaldiya'ya kadar büyük ve küçük kurvaturundan uzunlamasına iki esit parçaya kesildi, serum fizyolojik solüsyonunda yıkandı. Daha sonra çıkartılan midelerin yarisi biyokimyasal analizler için derhal dondurularak saklandı, diğer yarisi ise %10'luk formaldehit fiksatifinde histopatolojik incelemeye hazırlandı.

Mukozal lezyonlar 1-3 dakika içinde ortaya çıkmakta ve 60 dakika içinde maksimum düzeye ulaşmaktadır (Frydman ve ark., 1991; Oates ve Hakkinken., 1998).

3.5. Histopatolojik Çalışmalar

Histopatolojik inceleme için hazırlanan preparatlarda Hematoksilen-Eozin (H.E.) boyası kullanıldı. Histopatolojik yönden mide yüzey epiteli mikrovilluslarındaki lezyonlar ve kriptlerin tutulum derinliği değerlendirildi. Oluşan mukozal hasar gruplarında , Parks ve Granger'in (1986) çalışmalarında belirttikleri şekilde skorlandı. Skorumama işleminde mikrovilluslarda ve kriptlerde oluşan lezyon derinliği +4 derece üzerinden skorlandı. Ayrıca her grupta oluşan mukozal konjesyonun şiddeti 3 derece üzerinden (Hafif-Orta-Siddetli) değerlendirildi.

Çizelge 3.1. Villus ve kript epitelyal inflamasyon ve nekrozis hücreleri skora sistemi (Parks ve Granger, 1986)

	Villus Hücreleri	Kript Hücreleri
0	hasar oluşumu yok	hasar oluşumu yok
+1	villus uçları nadiren etkilenmiş	kriptler nadiren etkilenmiş
+2	villus uçları yaygın olarak etkilenmiş	kriptler yaygın olarak etkilenmiş
+3	birkaç villus hücresi etkilenmiş	birkaç kript hücresi etkilenmiş
+4	villus uçları çoğunlukla etkilenmiş	kript hücreleri çoğunlukla etkilenmiş

Çizelge 3.2. Grupların morfolojik inceleme skor tablosu

GRUP I			GRUP II			GRUP III		
SHAM KONTROL			KONTROL ISKEMI			<i>C. rotundus</i> + ISKEMI		
Mikro villus	Kript	Mukozal Konjesyon	Mikro villus	Kript	Mukozal Konjesyon	Mikro villus	Kript	Mukozal Konjesyon
0	0	YOK	+2	+1	ORTA	+2	0	HAFIF
0	0	YOK	+2	+1	ORTA	+1	0	HAFIF
0	0	YOK	+2	+1	ORTA	+1	0	HAFIF
0	0	YOK	+2	+1	HAFIF	+1	0	HAFIF
0	0	YOK	+3	+3	ORTA	+1	0	YOK
0	0	YOK	+3	+3	ORTA	0	0	YOK
GRUP IV			GRUP V					
<i>C. rotundus</i> + I/R			Vitamin E + ISKEMI					
Mikro villus	Kript	Mukozal Konjesyon	Mikro villus	Kript	Mukozal Konjesyon			
+4	+4	SIDDETLİ	+2	0	HAFIF			
+2	+1	ORTA	+2	+1	ORTA			
+2	+2	ORTA	+2	0	HAFIF			
+2	+1	ORTA	+2	+1	ORTA			
+3	+2	SIDDETLİ	+2	0	HAFIF			
+2	+2	ORTA	+2	+1	ORTA			

Yukarıdaki çizelgelerde mide doku örneklerinden alınan kesitlerin incelenmesi sonucunda mukozal yüzede oluşan mikrovillus ve kript hasarlarının ve mukozal konjesyonun siddeti skora sistemiyle ifade edilmiştir.

3.6. Biyokimyasal Analizler

Doku örnekleri 1/9 oranında %6'lık perklorik asit içerisinde ultrasonikatör yardımıyla buzlu ortamda homojenize edildi. Homojenize edilen mide örnekleri vorteksle karıştırılıp, 6000 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüj edildi. Süpernatantlar yeni tüplere aktarılarak GSH ve MDA analizleri yapılincaya kadar -25 C° 'de bekletildi.

3.6.1. GSH analizi (Obrosova and Stevens, 1998)

Glutasyon, dokularda yüksek düzeylerde bulunan ve glutamat, sistein, ve glisinden oluşan, düşük molekül ağırlıklı önemli bir tripeptittir. Glutasyon serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur (Frei, 1994; Yalçın, 1998). Antioksidan olarak hücre savunmasında rol oynaması dışında DNA ve protein sentezleri, enzim aktivitelerinin düzenlenmesi, hücre içi ve dışı transportlar gibi hücresel fonksiyonlarda da önemli rolü vardır (Meister, 1983).

Glutasyonun peroksitlerle ve disülfidlerle reaksiyonu sonucu okside glutasyon (GSSG) oluşur. GSSG konsantrasyonundaki artış oksidatif stresin bir göstergesidir. GSSG tiyol içeren proteinlerin konformasyon ve aktivitesi üzerinde etkili olan maddedir. Canlıların yaşayabilmesi için yüksek miktarda glutatyon ve düşük miktarda okside glutatyon ihtiyacı vardır. Reaksiyonlar sonucu oluşan GSSG, NADPH'nin de kullanıldığı bir reaksiyonla tekrar GSH'a çevilir (Seven ve Candan, 1996). Mide örneklerinde glutasyon miktarının tespiti için aşağıda belirtildiği üzere 100 mM konsantrasyonlu bir çalışma çözümü hazırlanmıştır.

Çizelge 3.3. GSH standart egrisinin hazirlanmasi

Standart No	nH ₂ O (µM)	Çalışma solüsyonu (µl)	Konsantrasyon (nmol)	Diger solüsyonlar (µl)
0	100	0	0	900
1	99	1	0.1	900
2	98	2	0.2	900
3	96	4	0.4	900
4	92	8	0.8	900
5	84	16	1.6	900
6	68	32	3.2	900

1. Stok solüsyonu: 3.073 mg indirgenmiş GSH (Sigma) 10 ml saf suda çözüldü. Böylelikle 1 mM'lik stok solüsyon hazırlanmış oldu.

2. Çalışma solüsyonu: Stok solüsyonundan 100 µl alındı. Buna 900 µl saf su ilave edilerek 100 mM konsantrasyonlu çalışma solüsyonu hazırlanmış oldu

3. Örnek ve standartların her birinden 100 µl alındı. Bunlara 890 µl GSH solüsyonu (20mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH: 8.1) ve 10 µl optaldialdehit (10 mg Optaldialdehit/1 ml metanol) ilave edilerek vortekslenmiştir.

4. Örnekler oda sıcaklığında ısıktan korunabilecek bir yerde reaksiyonun oluşması için 6-7 dakika bekletildi. Daha sonra absorbans değerleri spektrofloreometre yardımıyla eksitasyon 345 nm ve emisyon 425 nm'de okunarak, standartlardan elde edilen egrideki formüle uygulanarak nmol cinsinden hesaplandı ve elde edilen sonuçlar 100 mg doku yas ağırlığına göre değerlendirilmiştir.

3.6.2. MDA analizi

Tiyobarbitirik asit reaktif maddeleri (TBARS) genellikle doymamış yağ asit peroksidasyonunun son ürünü olan MDA ile reaksiyona girip floresans özellik kazandırarak MDA'nin tespit edilmesini sağlar. Lipit moleküllerinin oksidasyon ürünü olan MDA miktarı lipit peroksidasyonunun bir göstergesidir. Buna ilave olarak DNA, protein ve karbonhidratların oksidatif hasarları sırasında da MDA oluşmaktadır (Jo ve Ahn, 1998).

Stok standardin hazırlanması: Birinci çalışma solüsyonu (W1); 4.05 M konsantrasyonlu orijinal stok tetraetoksipropan (TET, Sigma) solüsyonundan 24.7 µl alınarak 10 ml suda seyreltilerek hazırlandı. Böylece konsantrasyonu 10 mM olan birinci çalışma solüsyonu hazırlanmış oldu. İkinci çalışma solüsyonu (W2) ise; birinci çalışma solüsyonundan 10 µl alınıp üzerine 990 µl saf su ilave edilerek 100 µM konsantrasyonlu TET hazırlanmış oldu. Üçüncü çalışma solüsyonu (W3); ikinci çalışma solüsyonundan 100 µl alınıp üzerine 900 µl saf su ilave edilerek (10 nmol konsantrasyonlu TET) hazırlandı.

Çizelge 3.4. MDA standart egrisinin hazırlanması

Standart No	Saf Su (µl)	3. Çalışma Solüsyonu (µl)	Konsantrasyon (nmol)
0	100	0	0
1	90	10	1
2	80	20	2
3	60	40	4
4	20	80	8
5	--	100	10

Örnek ve standartların her birinden 100'er µl alınarak üzerlerine sırasıyla aşağıdaki solüsyonlar ilave edilmiştir.

- Örnek ve standartların her birinden 100 µl
- %10 Sodium dodecyl sulfate (SDS) 162 µl
- Asetik asit (pH: 3.5) 200 µl
- %0.8 TBA (12 mg TBA 1.5 ml metanolde çözüldü) 200 µl
- nH₂O 338 µl

1. Karışımlar iyice vortekslandı. Örnekleri içeren ependorf tüpler 95 °C' ye ayarlanmış sıcak su banyosunda 45 dakika bekletildikten sonra musluk suyu altında soğutuldu.

2. Örneklerin olduğu tüpler 3 000 rpm' de 15 dakika santrifüj edildi.

3. Üst fazdan 800 µl alinip spektrofloreometre yardimiyla (Jasco FP- 6300) eksitasyon 520 nm ve emisyon 555 nm' de absorbans degerleri okundu.

4. Konsantrasyonlari bilinen standartlardan okunan absorbans degerlerinden bir standart egri olusturuldu. Excel programi yardimiyla yapilan standart egri sonucunda bir formül elde edildi. Okunan örnek absorbanslari, Standart egri formülünde örnek olarak ifade edilen X yerine konularak gerçek degerleri nmol cinsinden tespit edildi.

3.7. Istatistiksel Analizler

Deneyisel çalışma için olusturulan sham kontrol (Grup1), Kontrol Iskemi (Grup 2), *C. rotundus* + Iskemi (Grup 3), *C. rotundus* + I/R (Grup 4), Vitamin E + Iskemi (Grup 5) gruplarindan alinan örneklerden elde edilen GSH ve MDA degerleri SPSS programinda Mann-Whitney testi, gruplar arasi farklıliklar ise bagimsiz t testi kullanilarak degerlendirilmistir. Ayrica histopatolojik çalışma sonuçlarına göre gruplar arasi karsilastirmalar için Kruskal-Wallis Testi ve Chi-Square testi kullanildi. Elde edilen 'P' degerleri "0.05, 0.01, 0.001" düzeylerine göre degerlendirilerek istatistiksel anlamliliklari saptandi. $p > 0.05$ ise "karsilastirilan gruplar arasinda anlamli bir fark yoktur", $p < 0.05$ ise "karsilastirilan gruplar arasinda anlamli bir fark vardir", $p < 0.01$ ise "karsilastirilan gruplar arasinda çok önemli farklıliklar vardir", $p < 0.001$ ise "karsilastirilan gruplar arasinda ileri düzeyde önemli farklıliklar vardir" seklinde ifade edilmektedir.

4. ARASTIRMA BULGULARI ve TARTISMA

Mide örneklerinde bulunan GSH ve MDA konsantrasyonlari spektroflore metre yardimiyla ölçüldü. Bulunan degerlerin istatistiksel analiz sonuçlari incelenerek gruplar arasi karsilasatirmalar yapildi.

4.1. Mide GSH Ölçüm Sonuçlari

Çalismamizda mide dokusundan alinan örneklerde bulunan GSH konsantrasyonlari spektroflore metre yardimiyla ölçüldü. Ölçümler yapilmadan önce konsantrasyonlari bilinen standartlar spektroflore metre ile ölçülerek standart egri ve formülü elde edildi. GSH miktarini saptamak için GSH ophthaldialdehitin olusturdugu renkli kompleksin spektroflore metre ile absorbansinin ölçülmesi prensibi kullanildi. Örneklerden okunan absorbans degerleri formüldeki yerine konularak GSH miktarlari belirlendi. Sonra ortalama degerler hesaplanarak gruplar arasi karsilastirmalar yapildi.

Çizelge 4.1. Sham kontrol grubunda (Grup 1) GSH degerleri

Grup 2	Konsantrasyon (nmol GSH/100 mg mide yas ağırligi)	Ortalama deger ± SD
1	130	125 ± 13
2	122	
3	117	
4	140	
5	104	
6	138	

Çizelge 4.2. Kontrol Iskemi grubunda (Grup 2) GSH degerleri

Grup 1	Konsantrasyon (nmol GSH/100 mg mide yas ağırlığı)	Ortalama deger ± SD
1	54	118 ± 33
2	125	
3	142	
4	150	
5	118	
6	118	

Çizelge 4.3. *C.rotundus* + Iskemi grubunda (Grup 3) GSH degerleri

Grup 3	Konsantrasyon (nmol GSH/100 mg mide yas ağırlığı)	Ortalama deger ± SD
1	122	112 ± 22
2	77	
3	143	
4	111	
5	120	
6	103	

Çizelge 4.4. *C.rotundus* + I/R grubunda (Grup 4) GSH degerleri

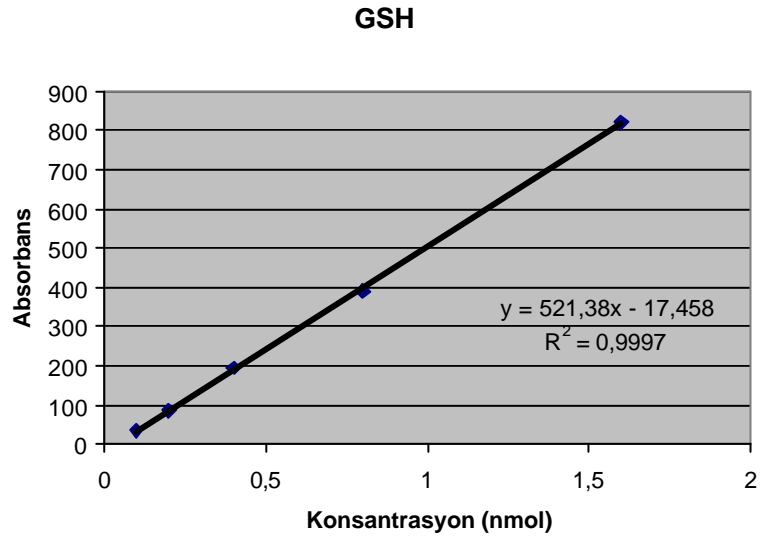
Grup 4	Konsantrasyon (nmol GSH/100 mg mide yas ağırlığı)	Ortalama deger ± SD
1	77	100 ± 31
2	140	
3	122	
4	100	
5	106	
6	53	

Çizelge 4.5. Vitamin E + Iskemi grubunda (Grup 5) GSH degerleri

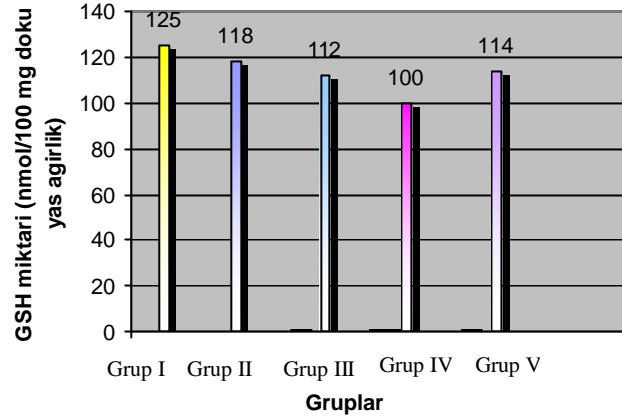
Grup 5	Konsantrasyon (nmol GSH/100 mg mide yas ağırlığı)	Ortalama deger ± SD
1	113	114 ± 0.5
2	114	
3	113	
4	114	
5	114	
6	114	

Çizelge 4.6. Tüm gruplardaki GSH ortalama degerleri

GRUPLAR	Ortalama konsantrasyon degeri (nmol GSH/100 mg mide yas ağırlığı)
Sham kontrol grubu (Grup 1)	118 ± 33
Kontrol Iskemi grubu (Grup 2)	125 ± 13
<i>C. rotundus</i> + Iskemi grubu (Grup 3)	112 ± 22
<i>C. rotundus</i> + I/R grubu (Grup 4)	100 ± 31
Vitamin E + Iskemi grubu (Grup 5)	114 ± 05



Sekil 4.1. GSH standartlarından elde edilen degerler ve kalibrasyon egrisi



Şekil 4.2. Siçan mide örneklerinde GSH miktarı

Çalışmamızdaki grupların GSH düzeylerinin istatistiksel analizleri Mann-Whitney testine göre değerlendirildi. Buna göre;

- Sham kontrol (Grup 1) ile kontrol iskemi (Grup 2), *C. rotundus* + Iskemi (Grup 3), *C. rotundus* + I/R (Grup 4) grupları arasında anlamlı fark görülmemiştir ($p>0.05$).
- Sham kontrol (Grup 1) ile Vitamin E + Iskemi grupları arasında anlamlı fark görülmüştür ($p<0.05$).
- Kontrol Iskemi (Grup 2) ile Vitamin E + Iskemi grupları arasında anlamlı fark görülmüştür ($p<0.05$).
- Diğer gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarda anlamlı fark gözlenmemiştir

4.2. Mide MDA Ölçüm Sonuçları

Mide örneklerinde MDA konsantrasyonları spektrofotometre yardımıyla ölçüldü. MDA miktarının saptanması için, MDA ile Tiyobarbitirik asit reaksiyonu sonucu oluşan renkli kompleksin spektrofotometre ile absorbansının ölçülmesi prensibi kullanıldı. Ölçümler yapılmadan önce konsantrasyonları bilinen standartlar spektrofotometre ile ölçülerek standart eğri ve formül elde edildi. Örneklerden okunan absorbans değerleri formüldeki yerine konularak MDA miktarları belirlendi. Sonra ortalama değerler hesaplanarak gruplar arası karşılaştırmalar yapıldı.

Çizelge 4.7. Sham kontrol grubunda (Grup 1) MDA degerleri

Grup 1	Konsantrasyon (nmol MDA/100 mg mide yas ağırlığı)	Ortalama deger ± SD
1	2.5	3.1 ± 0.5
2	2.8	
3	2.8	
4	3	
5	3.3	
6	4.1	

Çizelge 4.8. Kontrol Iskemi grubunda (Grup 2) MDA degerleri

Grup 1	Konsantrasyon (nmol MDA/100 mg mide yas ağırlığı)	Ortalama deger ± SD
1	2.6	3.5 ± 0.7
2	3.4	
3	3.5	
4	4.8	
5	3.5	
6	3.5	

Çizelge 4.9. *C.rotundus* + Iskemi (Grup 3) MDA degerleri

Grup 3	Konsantrasyon (nmol MDA/100 mg mide yas ağırlığı)	Ortalama deger ± SD
1	3.6	3.5 ± 0.6
2	4.6	
3	3.3	
4	2.8	
5	3.7	
6	2.9	

Çizelge 4.10. *C. rotundus* + I/R grubunda (Grup 4) MDA degerleri

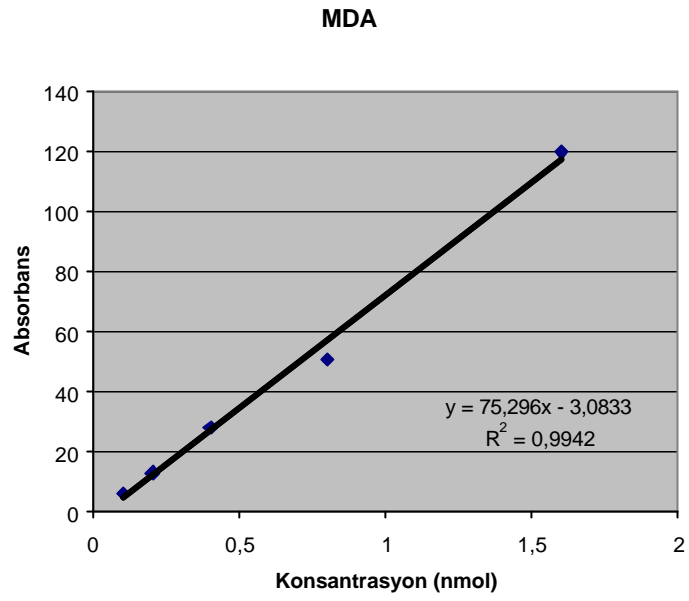
Grup 4	Konsantrasyon (nmol MDA/100 mg mide yas ağırligi)	Ortalama deger ± SD
1	3.4	3.1 ± 0.2
2	2.9	
3	3	
4	2.9	
5	3.3	
6	3.3	

Çizelge 4.11. Vitamin E + Iskemi grubunda (Grup 5) MDA degerleri

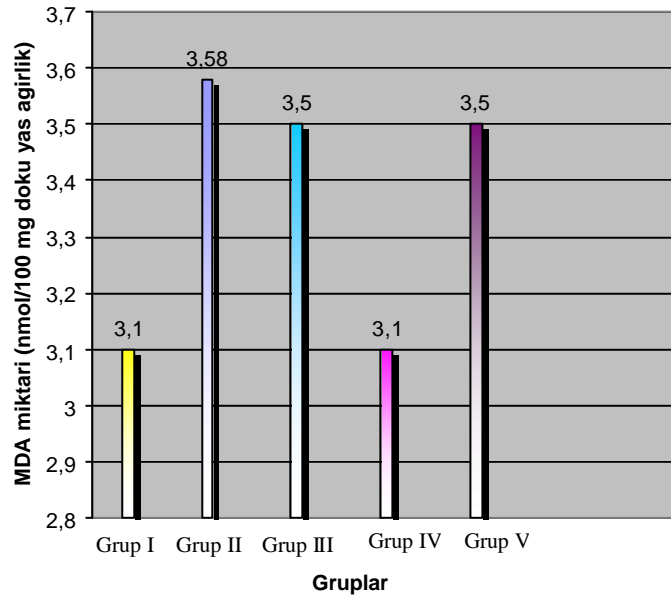
Grup 5	Konsantrasyon (nmol MDA/100 mg mide yas ağırligi)	Ortalama deger ± SD
1	3.6	3.5 ± 0.06
2	3.4	
3	3.5	
4	3.5	
5	3.5	
6	3.5	

Çizelge 4.12. Tüm gruptardaki MDA ortalama degerleri

GRUPLAR	Ortalama konsantrasyon degeri (nmol MDA/100 mg mide yas ağırligi)
Sham Kontrol grubu (Grup 1)	3.1 ± 0.5
Kontrol Iskemi grubu (Grup 2)	3.5 ± 0.7
<i>C. rotundus</i> + Iskemi grubu (Grup 3)	3.5 ± 0.6
<i>C. rotundus</i> + I/R grubu (Grup 4)	3.1 ± 0.2
Vitamin E + Iskemi grubu (Grup 5)	3.5 ± 0.06



Sekil 4.3. MDA standartlarından elde edilen degerler ve kalibrasyon egrisi



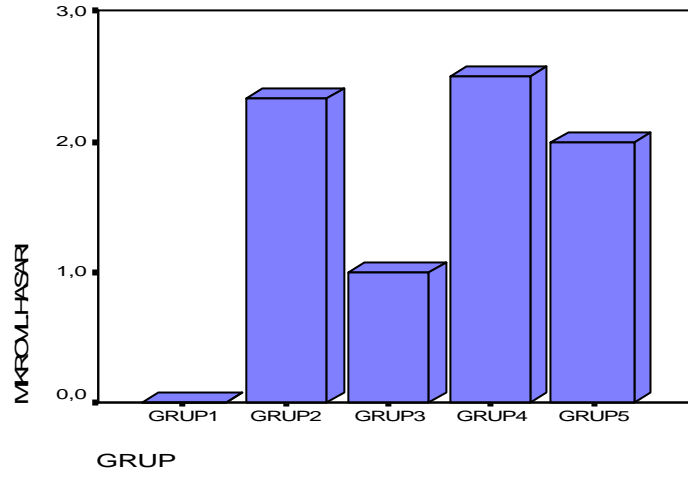
Sekil 4.4. Siçan mide örneklerinde MDA miktar

Çalismamizdaki gruplarin MDA düzeylerinin istatistiksel analizleri Mann-Whitney testine göre degerlendirildi. Buna göre;

- Sham kontrol (Grup 1) ile kontrol iskemi (Grup 2), *C. rotundus* + Iskemi (Grup 3), *C. rotundus* + I/R (Grup 4) gruplari arasinda anlamlı fark görülmemistir ($p>0.05$).
- Sham kontrol (Grup 1) ile Vitamin E + Iskemi (Grup 5) gruplari arasinda anlamlı fark görülmüştür ($p<0.05$).
- Kontrol iskemi (Grup 2) ile *C. rotundus* + Iskemi +Reperfüzyon (Grup 4) gruplari arasinda anlamlı fark görülmüştür ($p<0.05$).
- *C. rotundus* + I/R (Grup 4) ile Vitamin E + Iskemi gruplari arasinda çok önemli farklılık görülmüştür ($p<0.01$).
- Diğer gruplar arasinda yapılan karsilastirmalarda anlamlı fark gözlenmemistir.

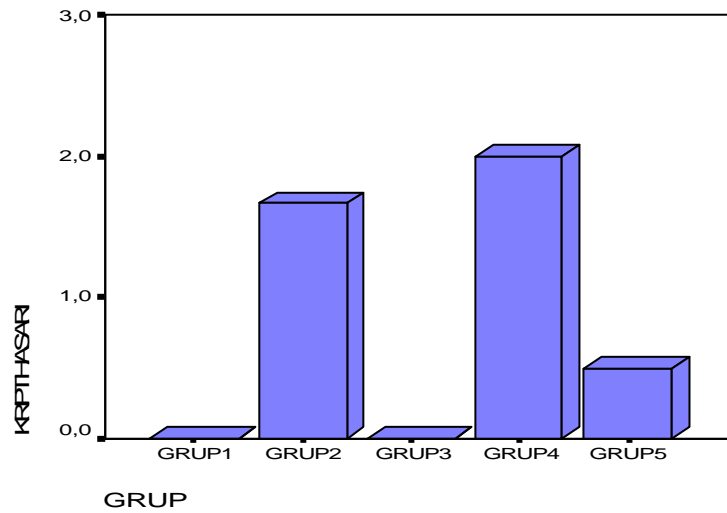
4.3. Histopatolojik Çalışma Sonuçları

Histopatolojik inceleme yapılan mide epitel yüzeyinde mikrovillus ve kript epitelyal inflamasyon ve nekrozis hücreleri skorlama yöntemi (Parks ve Granger, 1986) kullanılarak elde edilen sonuçların istatistiksel analizi yapıldı. Chi-Square testi ve Kruskal-Wallis testi kullanılarak gruplar karsilastirildiginda $P< 0.001$ anlamlı sonuç alınmıştır. Mikrovilluslerde oluşan hasarın 0 ile +4 derecelendirilerek yapılan skorlama yöntemi sonuçları şekil 4.3.'de görülmektedir. Kontrol iskemi (Grup 2) ile diğer gruplar arasinda ($P<0.001$) ileri düzeyde anlamlı farklılık olduğunu göstermektedir.



Sekil 4.5. Mide epitel dokusunda mikrovilluslerde hasar olusumunun skorlama yöntemine bagli grafigi

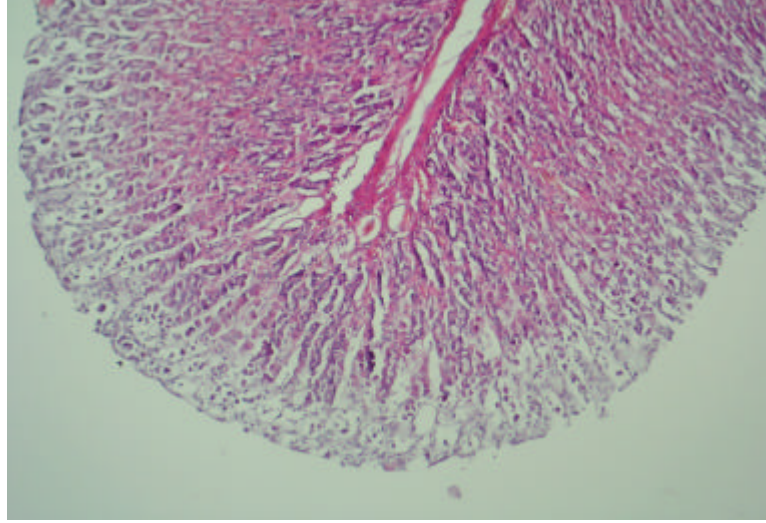
Sham kontrol gurubu (Grup 1) ile *C. rotundus* + Iskemi grubunda (Grup 3) kript hücrelerinde hasar görülmemistir (Sekil 4.4.). *C. rotundus* + I/R grubunda (Grup 4) ise kriptlerde yaygin hasar görülmüştür ve kriptlerdeki hasar olusumu reperfüzyon olgusuna bagli olup, reperfüzyon sonucu kan akimi tekrar saglandiginda ortama oksijenin ulasmasiyla hasar daha da artar (Haglund ve Lundgren, 1978).



Sekil 4.6. Mide epitel dokusundaki kript hücrelerinin hasar grafigi

Grup 1: Sham Kontrol Grubunda; deneklere herhangi bir islem yapilmamis olup, sadece normal degerlerin saptanmasi amaçlandi. Mikrovillus ve kript hücrelerinde lezyon ya da hasar görülmedi. Mukozal konjesyon ise yoktur.

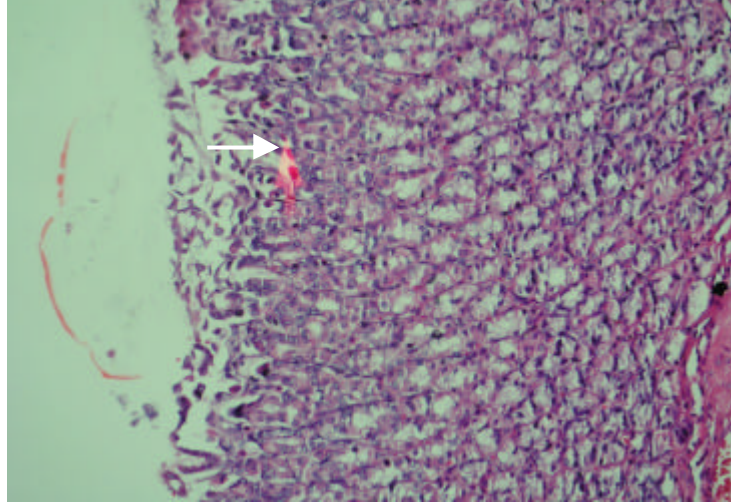
Grup 2: Kontrol Iskemi Uygulaması; Kontrol Iskemi grubundan alınan kesitlerin histopatolojik olarak incelenmesi sonucunda mikrovillusların yüzeylerinde mukozal epitelde nekroz, apoptozis ve dökülme , villuslardan kriptlerin derinliklerine ilerleyen yaygın hasar görülmektedir (Sekil 4.7.). Mukozal konjesyon orta siddettedir.



Sekil 4.7. Kontrol iskemi grubunda mikrovillusları ileri derecede etkileyen ve kriptlere uzanmış mukozal hasar (H.Ex100)

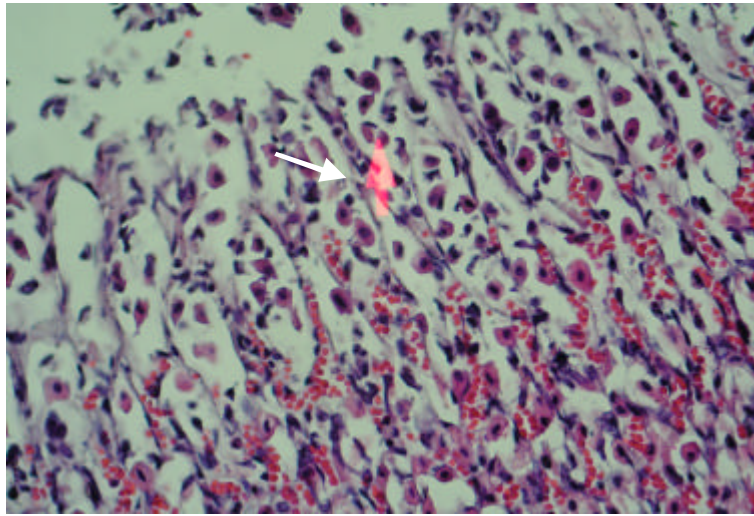
Grup 3: *C. rotundus* + Iskemi Uygulaması; Mikrovilluslarda hafif derecede hasar mevcut olup az sayıda epitel hücrelerinde disorganizasyon ve dökülme mevcuttur. (Sekil 4.8.). Kriptlerde ise hücresel dökülme ve disorganizasyon görülmemektedir.

Sekil 4.9.'da da görüldüğü gibi hücrelerde yüzeysel hasar mevcut, sağlam mikrovillusların yanında okla işaretli alanda az sayıda mikrovilluslerde disorganizasyon ve dökülme mevcuttur. Mukozal konjesyon ise oldukça hafif düzeydedir.



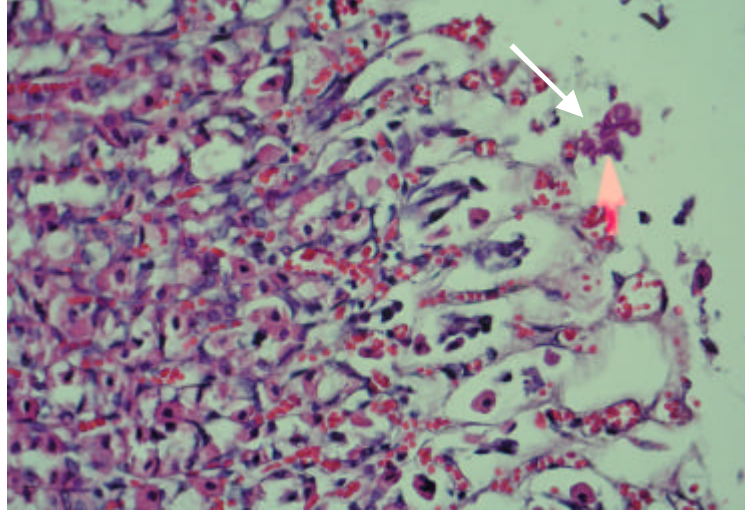
Sekil 4.8. Mikrovillus epitelinde disorganizasyon ve dökülme (H.E. x200)

Grup 4: *C. rotundus* + I/R Uygulaması; Mikrovillusları döseyen mukozal epitelde yaygın disorganizasyon, dökülme, apoptozis, ve nekroz mevcuttur (Sekil 4.9.). Bu hasar kript derinliklerine doğru ilerlemektedir. Ayrıca orta siddette mukozal konjesyon izlenmektedir.



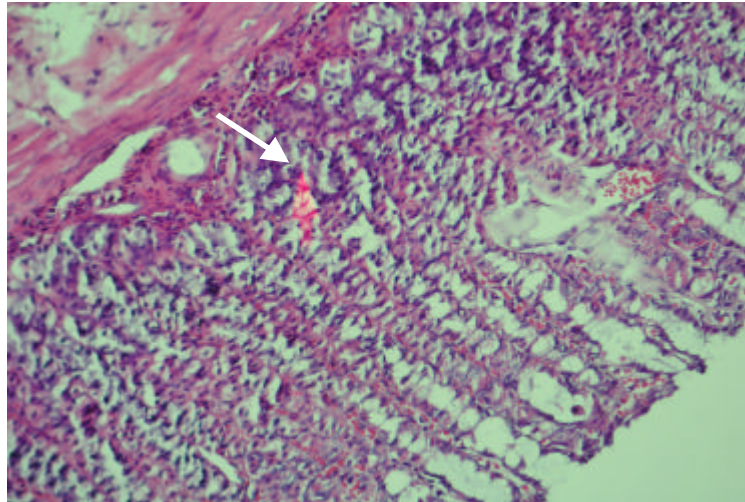
Sekil 4.9. Apoptotik ve nekrotik hücreler ile mukozal konjesyon (H.E. x400)

Okla isaretli alanlarda (Sekil 4.10.) nekrotik hücreler mevcuttur. Nekrotik hücre kümesi okla gösterilmektedir. Bazi hücrelerde nükleus tamamen kaybolmuştur.



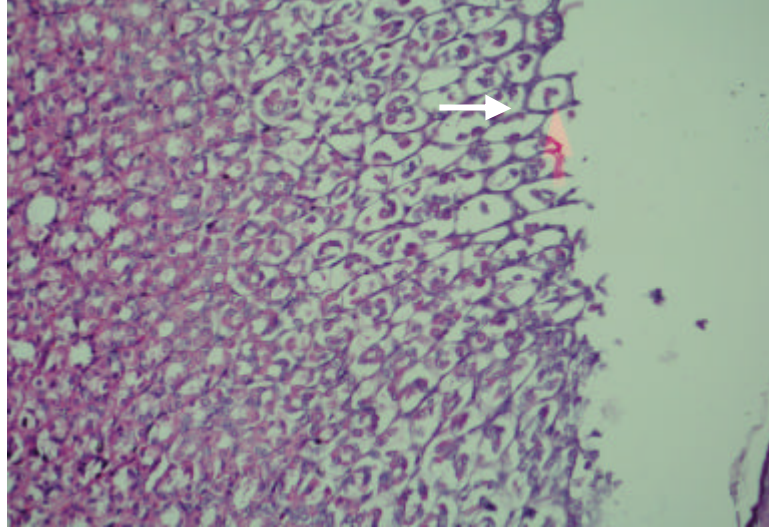
Sekil 4.10. Nekrotik hücre kümesini gösteren bir kesit (H.E. x400)

Grup 5: Vitamin-E + Iskemi Uygulaması; Bu grupta mikrovilluslari döseyen epitelde +2 hasarlanma izlenirken, +1 siddetinde kript hasari izlendi. Sekil 4.11.'de görüldüğü gibi kriptlerde hafif hasar olusumu okla isaretlenmistir. Mukozal konjesyon ise hafiften orta siddete degisen derecelerde izlendi.



Sekil 4.11. Kriptlerde hafif hasar olusumundan bir kesit (H.E. x200)

Mikrovilluslari döseyen mukozal epitel hücrelerinin bir kısmında hafif disorganizasyon ve dökülme Sekil 4.10.'da izlenmektedir.



Sekil 4.12. Mikrovillus epitelinde hafif siddette disorganizasyon ve dökülme (H.E. x200)

4.3. Tartisma

Dokular oksijensiz kaldiginda hasara ugrar ve belli bir periyoddan sonra hasar geri dönüşümsüz hale gelir. Hipoksi sonucu geri dönüşümsüz degisikliklerin gelismesi için geçen süre degiskendir. Iskelet kaslarinin saatlerce hipoksiyi tolere edebilmesine karsin beyin için bu süre çok kisadir; kalp ve mide için ise yaklasik 60 dakika kadardir (Çavdar ve ark., 1997).

Reaktif oksijen türevlerinin (süperoksit radikali, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali) bir çok organ sisteminde iskemik periyotta olusan hasardan daha fazla bir hasarin reperfüzyonda olustuguna dair deliller vardır (Yia-Herttuala, 1991; Zimmerman ve Granger, 1994; Bulkley, 1987). Kan akimi tekrar saglandiginda ortama oksijenin ulasmasiyla hasar daha da artar. Ksantin oksidaz inhibitörleri ve rekombinant teknolojiyle üretilen süperoksit dismutaz (SOD) enziminin, glukoz

kullaniminin, trimetazidinin kullanımı gibi Iskemi/Reperfüzyon modellerinde yararlı etkilerini araştırarak çalışmalar mevcuttur.

Literatürde celiak arter veya sol gastrik arterin bağlanmasıyla oluşturulan ülser modelleri bulunmaktadır. Wada ve arkadaşları mide iskemisi ve IR'un lokal kan akımını azaltarak mukoza hasarına neden olduğunu, NO düzeyinin ise kan akımındaki değişiklikler ile uyumlu olduğunu ifade etmektedirler (Wada ve ark., 1998).

Iskemi nedeniyle ortamın asitleşmesi, hasarlı hücrelerden demir iyonlarının salınımı, mitokondriyal solunum zincirlerindeki aksamalar, ksantin oksidaz enziminin açığa çıkması ile dokularda reaktif oksijen türleri sentezi uyarılır (Çavdar ve ark., 1997). Son yıllarda yapılan çalışmalarda çeşitli stres modellerinin reaktif oksijen türlerinin oluşumunu hızlandırdığı ve lipid peroksidasyonuna yol açtığı gösterilmiştir (Das ve ark., 1993; Goldin ve ark., 1997). Reaktif oksijen türlerinin oluşturduğu oksidatif hasar oksidan stres olarak tanımlanmaktadır. Oksidan stres ile GSH düzeylerinin azaldığı bilinmektedir. In vivo ve in vitro yapılan deneylerde endojen GSH'in çeşitli hasarlarda mide mukozası bütünlüğünün korunmasında önemli bir mediyatör olabileceği görüşü ileri sürülmektedir. Diğer yandan stres ülserine bağlı iskeminin, hasara karşı savunmada önemli bir faktör olan mukozal enerji metabolizmasını azalttığı da gösterilmiştir (Menguy, R., 1981; Mozsik ve ark., 1992).

TBARS (Tiyobarbütirik asit reaktifleri) değerinin azalmasıyla dokularda lipid peroksidasyonunun inhibisyonu iskemiden sonra görülmüştür. Birçok çalışmanın da gösterdiği gibi dokularda lipid peroksidasyonu gastrik mukozal hasar üzerinde büyük rol oynamaktadır ve bu hasar reperfüzyon ile oluşmaktadır. Bu bulgular gösteriyor ki antioksidan etkiye sahip bitki ekstraktları Iskemi ve I/R modelleri ile mukozal hasar oluşumuna karşı koruyucu özellik göstermektedir.

Tokoferolun total iskemi uygulanan izole organlarda iskemiden koruyucu etkisi bulunmuştur. Sıçanlarda miyokard ve karaciger üzerinde çalışılmış ve miyokarddaki koruyucu etkinin karacigere göre daha fazla olduğu tesbit edilmiştir (Paranich ve Iukhnik, 1993). Vitamin E'nin I/R zararlarına karşı koruyucu etkisi, serbest oksijen radikallerinin oluşumunu azaltarak doku hasarını azaltma şeklindedir (Uysal, 1994). Aydemir ve Çelebi yaptıkları çalışmada Vitamin E'nin lipit peroksidasyonunu belirgin olarak azalttığını ve GSH düzeyinde koruma sağladığını bulmuşlardır (Aydemir ve Çelebi, 2002).

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, lipid peroksidasyon ürünü olan ve lipid peroksidasyonun iyi bir göstergesi olarak kabul edilen MDA analizi yapılip lipid peroksidasyonu indirekt olarak gösterilmiştir. Çalışmamızda mide dokusunun MDA ve GSH düzeyleri değerlendirildiğinde; kontrol iskemi grubunun MDA değerinin arttığı, GSH değerinin ise düştüğü görülmektedir. Histopatolojik inceleme yapılan mide epitel yüzeyinde mikrovillus ve kript epitelyal inflamasyon ve nekrozis hücreleri skorlama yöntemi (Parks ve Granger, 1986) kullanılarak elde edilen sonuçların istatistiksel analizi yapılip Chi-Square testi ve Kruskal-Wallis testi kullanılarak gruplar karşılaştırıldığında $P < 0.001$ anlamlı sonuç alınmıştır.

Kontrol iskemi grubunun (Grup 2) MDA değeri (3.58 nmol MDA/100 mg mide yas ağırlığı), sham kontrol grubunun (Grup 1) MDA değerinden (3.1 nmol MDA/100 mg mide yas ağırlığı) yüksek bulunmuştur. Sham kontrol grubu (Grup1) ile karşılaştırılan kontrol iskemi (Grup 2), *C. rotundus* + Iskemi (Grup 3), *C. rotundus* + I/R (Grup 4) grupları arasında anlamlı fark görülmemiştir ($p > 0.05$). Sham kontrol (Grup 1) ile Vitamin E + Iskemi (Grup 5) grupları arasında anlamlı fark görülmüştür ($p < 0.05$). Kontrol iskemi (Grup 2) ile *C. rotundus* + I/R (Grup 4) grupları arasında anlamlı fark görülmüştür ($p < 0.05$). Diğer bir karşılaştırma da ise *C. rotundus* + I/R (Grup 4) ile Vitamin E + Iskemi grupları arasında çok önemli farklılık görülmüştür ($p < 0.01$). Diğer gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarda anlamlı fark gözlenmemiştir.

GSH ölçümü yapılan kontrol iskemi grubunun (Grup 2) GSH değeri (125 nmol GSH/100 mg mide yas ağırlığı), sham kontrol grubunun (Grup 1) GSH değerinden (118 nmol GSH/100 mg mide yas ağırlığı) düşük olduğu görülmüştür. Sham kontrol

grubu (Grup 1) ile karşılaştırılan kontrol is kemi (Grup 2), *C. rotundus* + Iskemi (Grup 3), *C. rotundus* + I/R (Grup 4) grupları arasında anlamlı fark görülmemiştir ($p>0.05$). Sham kontrol (Grup 1) ile Vitamin E + Iskemi (Grup 5) grupları arasında anlamlı fark görülmüştür ($p<0.05$). Kontrol Iskemi (Grup 2) ile Vitamin E + Iskemi (Grup 5) grupları arasında anlamlı fark görülmüştür ($p<0.05$). Diğer gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarda anlamlı fark gözlenmemiştir.

Iskemi uygulaması ile mide mukoza lezyonları (ülser) oluşturulması sıkça başvurulan deneysel modellerden biridir. Ülser oluşumunun başlıca nedeni, mukoza tabakasının koruyucu özelliğinin ortadan kalkması ve yüzey epitel bütünlüğünün bozulması sonucunda mukozanın bariyer özelliğinin kaybolmasıdır. Literatürlerde yapılan çalışmalarda mideyi kan ile besleyen atar damarların kısıtlanması sonucu oluşturulan ülser modelleri bulunmaktadır. Mide Iskemi'si ve Iskemi/Reperfüzyon'un lokal kan akımını kapatarak mukoza hasarına neden olduğu bildirilmiştir (Wada ve ark., 1998).

Çalışmamızda güçlü bir antioksidan olduğu bilinen Vitamin E'nin gastrik mukozal hasara karşı etkili olduğu gösterilmiştir. GSH değerlerine bakılacak olursa yine bir antioksidan olarak kullandığımız *C. rotundus* ekstresine göre Vitamin E'nin daha etkili olduğunu görmekteyiz. Ancak MDA değerlerini karşılaştıracak olursak antioksidan etkilerinin farklı olmadığını söyleyebiliriz.

Sonuç olarak alternatif tıp bilimlerinde kullanılan *Cyperus rotundus*'un özellikle mide yaralarına karşı gastroprotektif etkisinin varlığı tespit edilmiştir. Literatür araştırmamızda oksidatif stresin neden olduğu mide mukozal hasar oluşumuna bağlı GSH ve MDA düzeyleriyle ilgili mekanizmaların yeterli izah edilmediğini görmekteyiz. Bu konuda *Cyperus rotundus*'un antioksidan etkisine ilişkin moleküler düzeyde ek çalışmaların gerektiği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- AKKUS, I., 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayinlari, 1. Baski, s.1-84, Konya.
- ANONYMOUS, 2000. www.ancientway.com/catalog/images/chineseherbs
- ANONYMOUS, 2001. www.populerbilgi.com/genel/insan05php
- ANONYMOUS, 2005. www.med.mun.ca/anatomyts
- ANONYMOUS, 2005. www.uic.edu/classes/phar/Vit-E.gif
- ARENDT, J., 1988. Melatonin. Clin Endocrinology, 29: 205-229.
- ARICIOGLU, A., AYDIN, S., TURKOZAN, N., and DURMUS, O., 1994. The Effect of Allopurinol on Na⁺K⁺ ATPase Related Lipid Peroksidation in Ischemic and Reperfused Rabbit Kidney. Gen Pharmac., 25(2): 341-344.
- AYDEMİR, O. ve ÇELEBİ, S., 2002. Deneysel Retinal Iskemi ve Reperfüzyon Olusturulan Kobaylarda Vitamin E Türevlerinin Glutasyon Düzeyine Etkisi. Firat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 16(3-4): 257-261.
- BAKI, A., ARSLAN, M., REIS, A., UZUN, Y., SARI, M. ve KAPICIOGLU, S., 2000. Effect of Vitamin E on Stress Induced Gastric Mucosal Injury in Rats. T. Klin. Gastroenterohepatol., 11: 1-4.
- BRADY, H. R., BRENNER, B. M. and LIEBARTHUS, W., 1996. Acute Renal Failure. In: Brenner BM (eds). The Kidney. WB Saunders Company, p.1200-1252, Philadelphia.
- BULKLEY, G. B., 1987. Free Radical-Mediated Reperfusion Injury: A Selective Review. Br J Cancer, 8: 66.
- CHEESMAN, K. H., and SLATER, T. F., 1993. An Introduction to Free Radical Biochemistry. Br Med Bull., 49: 479-493.
- CLERK, A., FULLER, J. S., ASHOUR, M. and PETER, H. S., 1998. Stimulation of "Stress Regulated" Mitogen-Activated Protein Kinases (Stress Activated Protein Kinases/C-Jun N-Terminal Kinases and p38-Mitogen-Activated Kinases) in Perfused Rat Hearts by Oxidative and Other Stresses. The Journal of Biological Chemistry, 273(13): 7228-7234.
- COCHRANE, C. G., 1991. Cellular Injury by Oxidants. Am. J. Med., 3: 23-30.
- COTRAN, R. S., KUMAR, V. and ROBBINS, S. L., 1994. Cellular Injury and Cellular Death. In: Cotran RS (eds). Robbins Pathologic Basis of Diseases. WB Saunders Company, p.1-35, Philadelphia.
- CURELLA, S., CECONI, C., CARGNONI, A., CORNACCHIARI, A., FERRARI, R. and ALBERTINI, A., 1987. Improved Procedure for Determining Glutathione in Plasma as an Index of Myocardial Oxidative Stress. Clin Chem., 33: 1448-1450.
- CZYRKO, C., STEIGMAN, C., TURLEY, D. L., DROTT, H. R. and ZEIGLER, M., 1989. The Role of Reperfusion Injury in Occlusive Intestinal Ischemia of the None: Malondialdehyd Derived Fluorescent Products and Correlation of Histology. Journal of Surgical Research, 51: 1-4.
- ÇAVDAR, C., SIFİL, A. ve ÇAMSARI, T., 1997. Hastalıkların Patogenezi ve Tedavisinde Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidanlar. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi/Office Journal of the Turkish Nephrology, Association, 3-4: 96-101.

- DAS, D., and BANERJEE, R. K., 1993. Effect of Stress on Antioxidant Enzymes and Gastric Ulceration. *Mol Cell Biochem.*, 125: 115-125.
- DASSANAYAKE, M., and FOSBERG, F. R., 1985. A Revised Handbook of the Flora of Ceylon, Part V, Balkema, p.181, Rotterdam.
- DIEBER-ROTHENEDER, M., PULH, H., WAEG, G., STRIEGL, G. and ESTERBAUER, H., 1991. Effect of Oral Supplementation with D-alpha-tocopherol on the Vitamin E Content of Human Low Density Lipoproteins and Resistance to Oxidation. *J Lipid Res.*, 32: 1325-1326.
- ESTERBAUER, H., DIEBER-ROTHENEDER, M., STRIEGL, G., and WAEG, G., 1991. Role of Vitamin E in Preventing the Oxidation of Low Density Lipoprotein. *Am J Clin Nutr.*, 53(1): 314-318.
- FERRARI, R., CECONI, C., CURELLA, S., CARGNONI, A., ALFIERI, O., and PARDINI, A., 1991. Oxygen Free Radicals and Myocardial Damage: Protective Role of Thiol-Containing Agents. *The Am J Med.*, 91: 95-105.
- FERRARI, R., CECONI, C., CURELLA, S., GUARNIERI, C., CALDERERA, C. M. and ALBERTINI, A., 1985. Oxygen-Mediated Myocardial Damage During Ischemia-Reperfusion: Role of the Cellular Defences Againsts Oxygen Toxicity. *J Mol Cell Cardiol.*, 17: 937-945.
- FREEMAN, B. A., and CRAPO, J. D., 1982. Free Radicals and Tissue Injury. *Lab Invest.*, 47: 412-426.
- FREI, B., 1994. Naturel Antioxidants in Human Health and Disease. Harvard School of Public Health, Boston, Academic Press., p.588, Massachusetts, USA.
- FRIDOVICH, I., 1978. Superoxide Dismutase: Defence Againsts Endogenous Superoxide Radical. *Ciba Found Symp.*, 65: p.77.
- FRYDMAN, G. M., PENNEY, A.G., MALCONTENTI, C. and O'BRIEN, P.E., 1991. Time as a Factor in the Expression of Ethanol Injury to the Gastric Mucosa. *J Gastroenterol Hepatol.*, 6(5): 461-465.
- GAETANI, G. F., GALINA, S., CAPANA, L., FERRARIS, A. M. and KIRKMAN, H. N., 1989. Catalase and Glutathione Peroxidase are Equally Active in Detoxification of Hydrogen Peroxide in Human Erythrocytes. *Blood*, 73: 334-339.
- GALLI, C., and SOCINI, A., 1981. Biological Effect of Vitamin E. *Milano University Pharmacology Enst.*, p.142, Milano, Italy.
- GANONG, W., 1995. *Tibbi Fizyoloji*. Baris Kitabevi, s.524-558, Istanbul.
- GEDDA, K., SCOTT, D, BESANCON, M., LORENTZONI, P. and SACHS, G., 1995. Turnover of the Gastric H⁺-K⁺ Adenozine Triphosphate α Subunit and its Effect on Inhibition of Rat Gastric Secretion. *Gastroenterology*, 109:1134-1141.
- GEY, K. F., 1990. Lipids, Lipoproteins and Antioxidants in Cardiovascular Dysfunction. *Biochem. Society Transactions*, 18: 1041-1045.
- GOLDIN, E., ARDITE, E. and ELIZALDE, J. I., 1997. Gastric Mucosal Damage in Experimental Diabetes in Rats: Role of Endogenous Glutathione. *Gasroenterology*, 112: 855-863.
- GRACE, P. A., 1994. Ischemia-Reperfusion Injury. *British Journal of Surgery*, 81: 637-647.

- GUYTON, A. C., and HALL, J. E., 1996. Secretory Functions of the Alimentary Tract, In : Text of Medical Physiology., WB Saunders Company, Ninth Edition, 64: 815-832, Pennsylvania.
- GUYTON, A., 1986. Physiology of Gastrointestinal Disorders. In: Dreifelbis D (ed), Textbook of Medical Physiology. WB Saunders Company, p.795-805, Philadelphia.
- HAGLUND, U., and LUNDGREN, O., 1978. Intestinal Ischemia and Shock Factors. Federation Proc. 37: 2729-2733.
- HALL, D. W., VANDIVER, V., and FERRELL, J. A., 2004. Purple Nutsedge, *Cyperus rotundus L.*, University of Florida. p.37, USA.
- HALLIWELL, B., 1996. Oxidative Stress, Nutrition and Health. Experimental Strategies for Optimization of Nutritional Antioxidant Intake in Humans. Free Radicals Res., 25: 57-74.
- HANSEN, P. R., 1995. MD PhD. Role of Neutrophils in Myocardial Ischemia and Reperfusion. Circulation, 91: 1872-1885.
- HOSHINO, T., MALEY, W. R., BULKLEY, G. B. and WILLIAMS, G. M., 1988. Ablation of Free Radical-Mediated Reperfusion Injury for the Salvage of Kidneys Taken from Non-Heart-Beating Donors. Transplantation, 45: 284-289.
- IMLAY, J. A., and LINN, S., 1988. DNA Damage and Oxygen Radical Toxicity. Science, 240: 1302-1309.
- JO, C., and AHN, D. U., 1998. Fluorometric Analysis of 2-Thiobarbituric Acid Reactive Substances in Turkey. Poultry, 77: 475-480.
- JUNQUEIRA, L. C., CARNEIRO, J. and KELLEY, R. O., 1998. A Lange Medical Book. Temel Histoloji. Baris Kitabevi, 8. Baski, s. 283-288, Istanbul.
- KAYAALP, S. O., 1998. Peptik Ülser Tedavisinde Kullanılan İlaçlar. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Hacettepe Tas Kitabevi, s.1592-1608, Ankara.
- KAYAALP, S. O., ve TÜRKER, R., 1998. Siklooksijenaz Ürünleri: Prostaglandin, Prostatiklinler, Tromboksanlar. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Hacettepe Tas Kitabevi, s.1502-1518, Ankara.
- KILINÇ, K., ve KILINÇ, A., 2002. Oksijenin Toksikitesinin Aracı Molekülleri Olarak Oksijen Radikalleri. Hacettepe Tıp Dergisi, 33: 100-118.
- LEE, S. M., and CLEMENS, M. G., 1992. Effect of α -tocopherol on Hepatic Mixed Function Oxidases in Hepatic Ischemia Reperfusion. Hepatology, 15: 276-281.
- MARUBAYASHI, S., DOHI, K. and KAWASAKI, T., 1986. Role of Free Radicals in Ischemic Rat Liver Cell Injury: Prevention of Damage by α -Tocopherol Administration. Surgery, 184-192.
- MEISTER, A., 1983. Selective Modifications of Glutathione Metabolism, 220: 472-477.
- MENGUY, R., 1981. Role of Gastric Mucosal Energy Metabolism in the Etiology of Stress Ulceration. World J. Surg., 5: 175-180.
- MORALES, R. E., JOHNSON, B. R., and SZABO, S., 1992. Endothelial Induces Vascular and Mucosal Lesions Enhances Injury by HCL/Ethanol and the Antibody Exerts. Gastroprotection, FASEB J., 6: 2354-2360.

- MOZSIK, G. Y., KRALY, A. and SUTO, G., 1992. ATP Breakdown and Resynthesis in the Development of Gastrointestinal Mucosal Damage and its Prevention in animals and human. *Acta. Physiol. Hung.*,80: 39-80.
- NAKAZAWA, H., GENKA, C., and FUJISHIMA, M., 1996. Pathological Aspects of Active Oxygens/Free Radicals. *Japan J Physiol*, 46: 15-32.
- OATES, P J., and HAKKINEN, J. P., 1998. Studies on the Mechanism of Ethanol-Induced Gastric Damage in Rats. *Gastroenterology*, 94: 10-21.
- OBROSOVA, I. G., and STEVENS, M., 1998. Effect of Dietary Taurine Supplementation on GSH and NAD(P)- Redoks Status Lipid Peroxidation, and Energy Metabolism in Diabetic Precataractous Lens. *Invest. Opht. Vis. Sci.*, 40: 680-688.
- OGLE, C. W., and CHO, C. H., 1989. The Protective Mechanism FPL55712 Aganist Stres-Induced Gastric Ulceration in Rats. *Agents and Actions*, 26: 350-354.
- ÖZER, Ç., AKBULUT, K. G., GÖNÜL, B., YETKIN, G., ve ÇELEBI, N., 2004. Iskemili ve Iskemisiz Peptik Ülser Modellerinde Dönüştürücü Büyüme Faktörü-a Mikroemülsiyon Formunun Yara İyilesmesine Etkisi ve Malondialdehit, Glutasyon, Nitrik Oksit Düzeyleri ile İlişkinin Arastirilmesi. *J. Med. Science*, 24(5): 461-468.
- PACKER, L., 1991. Protective Role of Vitamin E in Biological Systems. *Am J Clin Nutr.*, 53: 1050-1055.
- PARANICH, A. V., and IUKHNIK, O. S., 1993. Protective Effect of Vitamin in Total Ischemia of Isolated Organs in Rats. *Phsiol Zh.*, 39: 97-99.
- PARKS, D. A., and GRANGER, D. N., 1986. Contributions of Ischemia and Reperfusion to Mucosal Lesion Formation *Am. J. Physiol.*, 250: 749-753.
- RANGAN, U., and BULKLEY, G. B., 1993. Prospects for Treatment of Free Radical-Mediated Tissue Injury. *Br Med Bull.*, 49: 700-718.
- ROBERT, A., NEZAMIS, J. E. and LANCASTER, C., 1979. Cytoprotection by Prostaglandin in Rats: Prevention of Gastric Necrosis Produced by Alcohol, HCL, NaOH, Hypertonic NaCl and Thermal Injury. *Gastroenterology*, 77: 433-443.
- SANDERS, K. M., 1992. Ionic Mechanisms of Electrical Rhythmicity in Gastrointestinal Smooth Muscles. *Annu Rev Physiol.*, 54: 439-453.
- SCHUBERT, M. L., 1994. Regulation of Gastric Secretion. *Curr Opin Gastroenterol.*, 10: 575-588.
- SCOTT, M. L., 1980. Advances in Our Understanding of Vitamin E. *Fed Proc.*, 39: 2736-2739.
- SEVEN, A., ve CANDAN, G., 1996. Antioksidan Savunma Sistemleri. *Cerrahpasa Med.* 27: 41-50.
- SHLAFER, M., KANE, P. F. and KIRSHM, M., 1992. Superoxide Dismutase Plus Catalase Enhances the Efficacy of Hypothermic Cardioplegio to Protect the Globally Ischemic Reperfused Heart. *J Thorac Cardiovasc Surg.*, 83: 830-839.
- SZABO, S., 1991. Gastroduodenal Mucosal Injury-Acute and Chronic: Pathways, Mediators and Mechanisms. *J Clin Gastroenterol.*, 13(1): 1-8.
- TANAKA, T., MORIOKA, Y. and GEBERT, U., 1993. Effect of Novel Xanthine Derivative on Experimental Ulcers in Rats. *Arzneim-Forsch/Drug Res.*, 43: 558-562.

- THEBTARANONTH, C., THEBTARANONTH, Y., WANAUPPATHAMKUL, S. and YUTHAVONG, Y., 1995. Antimalarial Sesquiterpenes from Tubers of *C. rotundus*: Structure of 10,12-peroxy Calamenene a Sesquiterpene Endoperoxide. *Phytochemistry*, 40: 125-128.
- TOP, S., ve TOP, S., 1993. E Vitamini, Kanser ve Kardiovasküler Hastalıklarla İlişkisi. *T. Klin. Tip Bilimleri Dergisi*, 13: 280-289.
- UYVAL, F., GIRGIN, F. K., TUZUN, S., ALDEMİR, S. and SOZMEN, E. Y., 1998. Effect of Vitamin E on Antioxidant Enzymes and Nitric Oxide in Ischemia-Reperfused Kidney Injury. *Biochem Mol Biol Int.*, 44: 1255-1257.
- VANNUCCHI, H., JORDAO, J. A. A., IGLESIAS, A. C., MORANDI, M. V. and CHIARELLO, P. G., 1997. Effect of Different Dietary Levels of Vitamin E on Lipid Peroxidation in Rats. *Arc Latinoam Nutr.*, 47: 34-38.
- WADA, K., KAMISAKI, Y., KITANO, M., NAKAMATO, K. and ITOH, T., 1995. Protective Effect of Cystathionine on Acute Gastric Mucosal Injury Induced by Ischemia-Reperfusion in Rats. *European Journal of Pharmacology*, 294: 377-382.
- WADA, K., KAMISAKI, Y. and OHKURA, T., 1998. Direct Measurement of Nitric Oxide Release in Gastric Mucosa During Ischemia-Reperfusion in rats. *APJ-Gastrointestinal and Liver Physiol.*, 274(3): 465-471.
- WALLACE, J. L., and BELL, C. J., 1994. Gastroduodenal Mucosal Defence. *Curr Opin Gastroenterology*, 10: 589-594.
- WALLACE, J. L., and GRANGER, N., 1994. The Cellular and Molecular Basis of Gastric Mucosal Defence, *FASEB J.*, 10: 731-740.
- WANGOVAN, C., and COVER, T., 1996. *H. pylori* and Gastric acid: Biological and the Rapeutic Implications. *Gastroenterology*, 110: 926-938.
- WHITTLE, B. J. R. and LOPEZ-BELMONTE, J., 1993. Actions and Interactions of Endothelins, Prostacyclin and Nitric Oxide in the Gastric Mucosa. *J. Physiol. Pharmacol.*, 44: 91-107.
- WHITTLE, B. J. R., LOPEZ-BELMONTE, J. and MONCADA, S., 1990. Regulation of Gastric Mucosal Integrity by Endogenous Nitric Oxide: Interactions with Prostanoids and Sensory Neuropeptides in Rat. *Br J Pharmacol.*, 99: 607-611.
- YALÇIN, A. S., 1998. Antioksidanlar. *Klinik Gelisim*, 11: 409-411.
- YIA-HERTTUALA, S., 1991. Macrophages and Oxidized Low Density Lipoproteins in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Ann Med.*, 23: 561-567.
- YOSHIKAWA, T., UEDA, S., NATIO, Y., TAKAHASHI, S., OYAMADA, H., MORITA, Y., YONETA, T., and KONDO M., 1989. Role of Oxygen-Derived Free Radicals in Gastric Mucosal Injury Induced by Ischemia-Reperfuion in Rats. *Free Radical Research Commun.*, 7: 285-291.
- YU, B. P., 1994. Cellular Defences Against Damage from Reactive Oxygen Species. *Physiol Rev.*, 74(1): 139-162.
- ZIMMERMAN, B. J., and GRANGER, D. M., 1994. Mechanism of Reperfusion Injury. *Am J Med Sci.*, 307: 284-292.

ÖZGEÇMİS

19.03.1980 tarihinde Sanliurfa’da dogdu. 1991 yilinda Cengiz Topel İlköğretim Okulunu bitirdikten sonra Sanliurfa Anadolu Lisesinden 1998’de mezun oldu. 1999-2003 yillari arasinda Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünü bitirdikten sonra 2004 yilinda Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim dalinda yüksek lisansa basladi.

ÖZET

Bu çalışma için denekler (Wistar-albino) Ankara Hifzisihha Serum Çiftliği'nden temin edildi. 30 adet denek her grupta n=6 olacak şekilde 5 eşit gruba ayrıldı. Deneyden 18 saat önce aç bırakılan siçanlara su serbest bırakıldı. Bütün siçanlara Ketamin (35 mg/kg) ve Xylazine (5 mg/kg) anestezi (i.m.) uygulandı. Grup 1; sham kontrol grubu, Grup 2; kontrol iskemi-hasta grup, Grup 3; *C. rotundus* + Iskemi grubu olup (200 mg/kg) bitki ekstresi (Gum Arabica'da %10'luk süspansiyon içerisinde) orogastrik yolla verildi. Grup 4; *C. rotundus* + Iskemi/Reperfüzyon grubu ve Grup 5; Vitamin E + Iskemi grubu olarak adlandırıldı. Oluşturulan grupların içinde sham kontrol grubu hariç diğer gruplarda iskemi gerçekleştirildi. Sham kontrol grubuna herhangi bir işlem yapılmamış olup, sadece normal değerlerin saptanması amaçlandı. 2. grup olan kontrol iskemi grubu hasta grup olup yalnızca iskemi gerçekleştirildi. 3. ve 4. gruplara deneye başlamadan 10 dakika önce orogastrik olarak oral yolla (200 mg/kg) bitki ekstresi verildi. 5. gruba ise Iskemi uygulamasından 10 dakika önce oral yolla (100 mg/kg) Vitamin E verildi. Yalnızca 4. grupta siçanlar iskemiden sonra 60 dakika boyunca kiskacın kaldırılması ile reperfüze edilerek I/R uygulaması gerçekleştirildi.

Deney sonunda öldürülen bütün siçanların izole edilen midelerinin yarisi biyokimyasal analizler (MDA ve GSH) için, diğer yarisi da histopatolojik inceleme için kullanıldı.

Biyokimyasal analiz sonucunda GSH ölçümü yapılan kontrol iskemi grubunun (Grup 2) GSH değeri (125 nmol GSH/100 mg mide yas ağırlığı), sham kontrol grubunun (Grup 1) GSH değerinden (118 nmol GSH/100 mg mide yas ağırlığı) düşük olduğu görülmüştür (Şekil 4.1.). Vitamin E grubunda GSH değeri (114 nmol GSH/100 mg mide yas ağırlığı) ile kontrol Iskemi grubu (125 nmol GSH/100 mg mide yas ağırlığı) karıştırdığında anlamlı farklılık $P < 0.05$ görülmüştür.

Biyokimyasal analiz sonucunda MDA ölçümü yapılan Sham kontrol (Grup 1) ile Vitamin E + Iskemi (Grup 5) gruplari arasında anlamlı fark görülmüştür ($p<0.05$). Kontrol Iskemi (Grup 2) ile *C. rotundus* + I/R (Grup 4) gruplari arasında anlamlı fark görülmüştür ($p<0.05$). Diğer gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarda anlamlı fark gözlenmemiştir (Şekil4.2.).

Nicel olarak histopatolojik değerlendirme skorlama metodu kullanılarak yapıldı. Mide dokularının histopatolojik incelenmesi, dorsal ve ventral yüzeylerin boyuna kesilerek glandular bölgeden çıkarılmasıyla yapıldı. Midelerin yarısında preparat hazırlamak için parafin yöntemi kullanıldı. Değerlendirilme, zarar gören ve apse olusan bölgelerde skorlama metodu kullanılarak *Cyperus rotundus* ve Vitamin E kriterleri tespitiyle yapıldı.

Sonuç olarak midede Iskemi ve Iskemi/Reperfüzyon modelleri uygulanmasına bağlı olarak mukozal bütünlüğün bozulduğu görülmüştür. Mide dokusunda iskemi, hücreleri hasara uğrattı, hücre ölümüne yol açabilir. Bu nedenle iskemi durumunda dokularda oksijenizasyonun tekrar sağlanması hasarlı bölgede reaktif oksijen türlerinin artmasına ve geçici olarak hasarın ağırlaşmasına sebep olmaktadır. Serbest radikallerin birikimi ile lipid peroksidasyon ürünü olan MDA konsantrasyonu artmakta olduğu ve buna bağlı olarak bir antioksidan olan GSH konsantrasyonunun azaldığı görülmüştür. Kullanılan antioksidanların ise peroksidasyon ürünü olan MDA oluşumunu engellediği ve antioksidan olan GSH miktarını koruduğu tespit edilmiştir.

SUMMARY

In this study albino Wistar rats (weight 200 ± 20 gr) were used. The animals obtained from (Ankara Hifzisihha Serum Çiftligi) Ankara. 30 rats were divided into equal 5 groups each containing 6 animals. All animal were fasted for 18 hours before the experiment, water free add libitum. All rats were anesthetizing (i.m.) using Ketamin (35mg/kg) and Xylazine (5mg/kg). Group 1 was Sham group (control not treated with vehicle), group 2 was Ischemia group for 60 minutes and served as control group. Group 3 (Ischemia group) was treated with 200 mg/kg body weight *C. rotundus* before 10 minutes of Ischemia (suspended into %10 Gum Arabica). Group 4 Ischemia /Reperfusion treated with 200 mg/kg body weight *C. rotundus* before 10 minutes of Ischemia for 60 minutes followed reperfusion for 60 minutes. Group 5 was treated with Vitamin E 100 mg/kg body weight before 10 minutes of Ischemia for 60 minutes.

At the end of the experiment all rats were killed by dislocation, the stomach removed and divided into 2 parts, one part for biochemical analysis (for MDA and GSH), other for histopathological examination.

The biochemical analysis of GSH showed when we compared GSH value of Vitamin E (114 nmol GSH/100 mg wet weight) and control group (125 nmol GSH/100 mg wet weight) there are significant $P<0.05$ had been see $p>0.05$ between all group in experiment (Fig. 4.1.)

The biochemical analysis of MDA shows, group 2 MDA value is (3.58 nmol MDA/100 mg) of stomach wet weight. In this group when compared with group 3 and group 4 shows no significant $p>0.05$ value but significant $p<0.05$ when compared with group 4 (Fig. 4.2.).

Quantitative histopathological assessment was performed using techniques of the score method. Briefly the stomach was divided along a line running across the upper part of the glandular mucosa and the cut edge derived from the ventral surface

of the stomach was embedded in paraffin using standard technique. The criteria of damage were absence of cells or gross disruption of cells in groups treated with *Cyperus rotundus* and Vitamin E.

As a result the stomach Ischemia and Ischemia/Reperfusion models the mucosal disrupter was shown in the experimental groups. This is the cause of increase of peroxidations substrates MDA and decreased the level of GSH which is an antioxidant. Both Ischemia and Reperfusion appear to contribute to the extent of farther expression of Ischemia or Reperfusion injury not prevented by the treatments designed to block reactive oxygen metabolites.