



T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

BAĞCILAR SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ

GENEL CERRAHİ KLİNİĞİ

RUSKOGENİNİN ASETİK ASİT İLE OLUŞTURULMUŞ MİDE ÜLSERİNE TEDAVİ EDİCİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Rümeysa İlbar Tartar

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL/2018

T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

BAĞCILAR SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ

GENEL CERRAHİ KLİNİĞİ

RUSKOGENİNİN ASETİK ASİT İLE OLUŞTURULMUŞ MİDE ÜLSERİNE TEDAVİ EDİCİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Rümeysa İlbar Tartar

Tez Danışmanı ve Klinik Eğitim Sorumlusu

Doç. Dr. Atilla Çelik

Tez Danışmanı Yardımcısı: Dr. Gülçin Ercan

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL/2018

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi, beceri ve deneyimlerinden faydalandığım, anlayış ve birikimi ile örnek aldığım değerli hocam Doç. Dr. Atilla Çelik'e, engin tecrübe ve bilgisi ile cerrahi eğitimime katkı sağlayan Doç. Dr. Rıza KUTANİŞ'e, asistanlık eğitimim süresince mesleki gelişmemizde bizlere yol gösteren Op. Dr. Fatih ÇELEBİ'ye saygı ve minnetlerimi sunarım.

Tez çalışmama sağladığı katkı ve desteğinden dolayı Doç. Dr. Ali SOLMAZ'a ve yaşadığım aksaklıkların çözümü konusunda benden yardımını esirgemeyen Op. Dr. Gülçin ERCAN'a,

Cerrahi bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım başasistanlarım Doç. Dr. Osman Bilgin GÜLÇİÇEK, Op. Dr. Erkan YAVUZ, Op Dr. Hakan YİĞİTBAŞ, Op. Dr. Candaş ERÇETİN'e; değerli uzmanlarım Op. Dr. Önder ÖNEN, Op. Dr. Veli MAVİ, Op. Dr. Aydın ZİLAN, Op. Dr. Eyüp SEVİM, Op. Dr. Selami KARACA, Op. Dr. Mehmet Ali GÜRSOY, Op. Dr. Nuri OKKABAZ, Op. Dr. Serhat MERİÇ'e,

İhtisasım boyunca birlikte çalıştığım, yoğun geçen nöbet ve mesai saatlerinde güzel anılar biriktirdiğim tüm asistan arkadaşlarıma,

Ameliyathane, yoğun bakım, servis ve poliklinikte birlikte çalıştığım tüm hemşire, sağlık memuru, personel ve sekreterlere içtenlikle teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olup, hiçbir fedakârlıktan kaçınmadan beni bugünlere getiren, hakkını asla ödeyemeyeceğim kıymetli anne ve babama, her zaman yanımda olup bana destek olan kız kardeşlerime,

Hayatımın her anında bana ışık tutan, desteğini ve hoşgörüsünü hep hissettiğim değerli eşim Muhammed Seyda TARTAR'a ve hayata bakışımı değiştiren, yaşanabilecek en büyük sevgiyi bana yaşatan biricik oğlum Selim TARTAR'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Rümeysa İlbar Tartar

İstanbul, 2018

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR i
İÇİNDEKİLER ii
KISALTMALAR v
TABLOLAR LİSTESİ viii
ŞEKİLLER LİSTESİ ix
ÖZET xi
ABSTRACT xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. MİDE ANATOMİSİ 3
2.2. MİDE EMBRİYOLOJİSİ 9
2.3. MİDE HİSTOLOJİSİ VE ULTRASTRÜKTÜRÜ 10
2.4. MİDE ÜLSERİ 13
2.5. IN VİVO MİDE ÜLSERİ MODELLERİ 16
2.5.1. Su İmersiyonlu Stres ile İndüklenen Ülser Modeli 17
2.5.2. NSAİİ'ler ile İndüklenen Mukozal Hasar 17
2.5.3. Asetik Asit ile İndüklenen Gastrik Ülserler 18
2.5.4. Etanol ile İndüklenen Peptik Ülser Modeli 19
2.5.5. Histamin ile İndüklenen Gastrik Ülser 19
2.5.6. Reserpin ile İndüklenen Peptik Ülser 20
2.5.7. Serotonin ile İndüklenen Gastrik Ülser 20
2.5.8. Pilor Bağlanarak İndüklenen Peptik Ülser (Shay Metotu) 20
2.5.9. Metilen Mavisi ile İndüklenen Ülser 21
2.5.10. Dietilditiokarbamat (DDC) ile İndüklenen Gastrik Ülser 21

2.5.11. İskemik Reperfüzyon (I-R) Gastrik Ülser Modeli 21
2.5.12. Sisteamin ile İndüklenen Duodenal Ülserler 22
2.5.13. İndometasin + Histamin ile İndüklenen Duodenal Ülserler 22
2.5.14. Ferröz Demir + Askorbik Asit ile İndüklenen Gastrik Ülser Modeli 22
2.5.15. Asetik Asit + *H. Pylori* ile İndüklenen Ülser Modeli 23
2.6. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ 23
2.6.1. GASTRİK ÜLSERDE ROS 27
2.7. İNFLAMASYON MARKERLARI 29
2.8. BÜYÜME FAKTÖRLERİ 31
2.9. PROSTAGLANDİNLER 33
2.10. RUSKOGENİN 33
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER 35
3.1. ÇALIŞMA PLANI 35
3.2. CERRAHİ TEKNİK 37
3.3. MAKROSKOPİK İNCELEME 39
3.4. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME 39
3.5. İMMUNOHİSTOKİMYASAL İNCELEME 40
3.6. BİYOKİMYASAL İNCELEME 40
3.7. ULTRASTRÜKTÜREL İNCELEME 42
3.8. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM 42
4. BULGULAR 43
4.1. MAKROSKOPİK BULGULAR 43
4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR 43
4.3. İMMUNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR 46
4.3.1. Kollajen I Bulguları 46

4.3.2. Kollajen III Bulguları 48
4.3.3. Kollajen IV Bulguları 50
4.4. BİYOKİMYASAL BULGULAR 52
4.4.1. Epidermal büyüme faktörü (EGF) Bulguları 53
4.4.2. Prostaglandin E2 (PGE2) Bulguları 54
4.4.3. Tümör nekroz faktörü α (TNF-α) Bulguları 55
4.4.4. İnterlökin 6 (IL-6) Bulguları 56
4.4.5. İnterlökin 8 (IL-8) Bulguları 57
4.4.6. Lipid Peroksidaz (LPO) Bulguları 58
4.4.7. Miyeloperoksidaz (MPO) Bulguları 59
4.4.8. Glutatyon (GSH) Bulguları 60
4.4.9. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) Bulguları 61
4.1. ULTRASTRÜKTÜREL BULGULAR 61
5. TARTIŞMA 63
6. SONUÇLAR 69
KAYNAKLAR 70
ÖZGEÇMİŞ 80
EKLER 82
EK 1. ETİK KURUL ONAY FORMU 82
EK 2. TIPTA UZMANLIK EĞİTİM KOMİSYONU PROJE BÜTÇE ONAY FORMU 84

KISALTMALAR

AP-1: Aktivatör protein 1

APUD: Amin öncül alımı ve dekarboksilasyonu

CAT: Katalaz

COX: Siklooksigenaz

CSFler: Koloni stimüle edici faktörler

DDC: Dietilditiokarbamat

EGF: Epidermal büyüme faktörü

FGF: Fibroblast büyüme faktörü

G-CSF: Granulosit koloni stimule edici faktör

GGT: γ-Glutamil transpeptidaz

GM-CSF: Granulosit/Makrofaj koloni stimule edici faktör

GPx: Glutatyon peroksidaz

GSH: İndirgenmiş glutatyon

***H.pylori**: Helicobacter pylori*

H_2O_2: Hidrojen peroksit

HETE: Hidroksieikozatetraenoik asit

HNO_2: Nitröz asit

HO-1: Hem oksijenaz 1

HPETE: Hidroperoksieikozatetraenoik asit

ICAM-1: İnterselüler adhezyon molekülü-1

I-R: İskemik reperfüzyon

IFN-γ: İnterferon gamma

IL-6: İnterlökin 6

IL-8: İnterlökin 8

iNOS: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz

JRSGC: Japon Mide Kanseri Araştırma Derneği

MPO: Miyeloperoksidaz

NF-κB: Nuklear faktör kappa B

NO: Nitrik oksit

NOS: Nitrik oksit sentaz

NSAİİ: Non-steroidal anti-inflamatuar ilaç

OS: Oksidatif stres

PGD2: Prostaglandin D2

PGE2: Prostaglandin E2

PGF2α: Prostaglandin F2α

PGI2: Prostasiklin

PGler: Prostaglandinler

RNT: Reaktif nitrojen türleri

ROS: Reaktif oksijen türleri

SOD: Süperoksit dismutaz

TAF: Trombosit aktive edici faktör

TGF: Transforme edici büyüme faktörü

TKBF: Trombosit kökenli büyüme faktörü

TNF-α: Tümör nekroz faktörü

TXA2: Trombaksan A2

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 3.1. Deney sıçanları dağılım tablosu..... 36
Tablo 4. 1. Histopatolojik bulguların skorları..... 46
Tablo 4. 2. Kollajen I, III ve IV için immunohistokimyasal bulguların skorları..... 48
Tablo 4. 3. Biyokimyasal parametrelerin gruplara göre karşılaştırılması..... 52

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2. 1. Midenin Bölümleri; Kardia, Fundus, Korpus ve Pilor dur (pars pylorica) (23). 4
Şekil 2. 2. Mide lenf nodu istasyonlarından perigastrik lenf nodları (23) 7
Şekil 2. 3. Mide lenf nodu istasyonlarından perigastrik lenf nodları (23) 8
Şekil 2. 4. Mide ülser tipleri (23) 15
Şekil 2. 5. Oksidatif hasarın ortaya çıkış mekanizmaları (100) 24

Şekil 3.1. Ülser oluşturma için mideye uygulanan cerrahi işlemler 38
Şekil 3.2. Ülser oluşturma işlemi için kullanılan enjeksiyon düzeneği 38
Şekil 3.3. Midenin makroskopik ülser skorlaması 39

Şekil 4. 1. Makroskopik ülser skorlaması grafiği 43
Şekil 4. 2. A: Sham grubu, düzgün yüzey epiteli (ok) ve düzgün mide bez yapıları (okbaşı), x20, B: Kontrol (Hasar) grubu, mide epitelinde konjesyon (ok) ve mide bez yapılarında ileri derecede açılma (okbaşları), x20, küçük resim-bez hücrelerine dökülme, x40, C: Tedavi grubu, mide yüzey epitelinde gerilemiş konjesyon (ok), x20 ve küçük resim-bez epitelinde düzelme (okbaşları), x40. 44
Şekil 4. 3. A: Sham grubu, gastrik bezler ve endotelde hafif-orta derece boyanma (oklar), B: Kontrol grubu, bezlerde ve endotelde orta-kuvvetli boyanma (oklar), C: Tedavi grubu, orta derecede boyanma (oklar), x40. 47
Şekil 4. 4. A: Sham grubu gastrik bezlerde hafif dereceli boyanma (okbaşları), B: Kontrol grubunun özellikle gastrik bezlerde gözlenen orta dereceli boyanma (okbaşları), C: Tedavi grubu, bezlerde düzgün dağılımlı orta dereceli boyanma (okbaşları), x40. 49
Şekil 4. 5. A: Sham grubunun gastrik bezlerinde ve endotelde (ok başı) kuvvetli boyanma, B: Kontrol grubunun özellikle boyun hücrelerinde azalan boyanma (ok başları), C: Tedavi grubunun hem endotel hem de bezlerde kuvvetli boyanma (ok başları), x40. 51
Şekil 4. 6. Mide dokusunda Epidermal Büyüme Faktörünün (EGF) gruplara göre dağılımı 53

Şekil 4. 7. Mide dokusunda Prostaglandin E2 (PGE2) miktarının gruplara göre dağılımı 54
Şekil 4. 8. Mide dokusunda Tümör Nekroz Faktörü α (TNF-α) miktarının gruplara göre dağılımı 55
Şekil 4. 9. Mide dokusunda İnterlökin 6 (IL-6) miktarının gruplara göre dağılımı... 56
Şekil 4. 10. Mide dokusunda İnterlökin 8 (IL-8) miktarının gruplara göre dağılımı. 57
Şekil 4. 11. Mide dokusunda Lipid Peroksidaz (LPO) miktarının gruplara göre dağılımı 58
Şekil 4. 12. Mide dokusunda Miyeloperoksidaz (MPO) miktarının gruplara göre dağılımı 59
Şekil 4. 13. Mide dokusunda Glutatyon (GSH) miktarının gruplara göre dağılımı... 60
Şekil 4. 14. Mide dokusunda Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) miktarının gruplara göre dağılımı 61
Şekil 4. 15. A: Sham grubunda düzgün boyun hücreleri ve gastrik bezler (oklar), B: Kontrol grubunda ileri derecede genişlemiş (*) ve epiteli dökülmüş (ok başları) gastrik bezler, C: Tedavi grubunda gastrik bezlerde azalmış genişleme (*) ve rejenere boyun epitel hücreleri (oklar), x100. 62

ÖZET

Amaç: Bu tez çalışmamızda, asetik asit ile kronik mide ülseri modeli oluşturulmuş sıçanlarda ruskogeninin olası terapötik etkilerini ve mekanizmasını mikroskobik, histopatolojik, immunohistokimyasal, biyokimyasal ve ultrastrüktürel yöntemlerle incelemeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: 24 sıçan rastgele olarak sham, kontrol ve tedavi olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Sham grubundaki sıçanlara ameliyat edilip ülser oluşturulmadan 4 hafta süreyle günlük tek doz 2ml/kg/gün hacimde serum fizyolojik oral gavaj tüpü kullanılarak oral gavaj yöntemi ile verildi. Kontrol ve tedavi gruplarındaki sıçanlar mide ülseri oluşturma amacıyla ameliyat edildi ve akabinde günlük tek doz olmak üzere oral gavaj yöntemi ile 4 hafta süreyle kontrol grubuna 2ml/kg/gün dozunda serum fizyolojik ve tedavi grubuna ise 3 mg/kg/gün dozunda ruskogenin uygulandı. Deney sonunda tüm sıçanlar genel anestezi altında intrakardiyak ponksiyon yöntemi uygulanarak sakrifiye edildi. Mideleri büyük kurvatur hizasından açılıp makroskopik ülser skorlama yapıldı. Mide dokuları çıkarıldı ve ışık mikroskobik, ultrastrüktürel ve biyokimyasal incelemeler için işlemlerden geçirildi. Kesitler histopatoloji için H&E ve Kollajen I, III ve IV için immunohistokimyasal boyamalarla incelendi ve skorlandı. Biyokimyasal inceleme için epidermal büyüme faktörü (EGF), prostaglandin E2 (PGE2), tümör nekroz faktörü α (TNF-α), interlökin-6 ve 8 (IL-6 ve IL-8), lipid peroksidaz (LPO), miyeloperoksidaz (MPO), glutatyon (GSH) ve glutatyon peroksidaz (GSH-x) ELISA tekniği ile incelendi ve miktarları belirlendi. Ultrastrüktürel inceleme için yarı ince kesitler analiz edildi.

Bulgular: Makroskopik skorlamalara göre kontrol grubunda ülser alanlarının ortalaması 0,62 ± 0,06 iken ruskogenin tedavisi uygulanan grupta ortalama 0,22 ± 0,06'a düşmüş ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0,05$). Histopatolojik skorlama verilerine göre kontrol grubunda yüzey epitelinde dökülme, kanama, fokal nekroz ve mukozal konjesyon, glandular hücre dejenerasyonu ve inflamatuar hücre infiltrasyonu sham grubuna kıyasla anlamlı derecede artmış ($P<0,001$) ancak tedavi grubunda anlamlı derecede azalmıştır. Biyokimyasal parametrelerden EGF ve PGE2 miktarları tedavi grubunda sham grubuna kıyasla anlamlı derecede artmış (sırasıyla $P<0,001$ ve $P<0,01$) ve kontrol grubundaki

artışlara kıyasla önemli derecede daha yüksek bulunmuştur. İnflamasyon markerlarından TNF-α, IL-6 ve IL-8 kontrol grubunda sham ve tedavi gruplarına kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu kaydedilmiştir (sırasıyla P<0,001, P<0,01 ve P<0,001). Lipid metabolizması göstergesi olan LPO kontrol grubunda yine diğer gruplara kıyasla anlamlı derecede yüksek iken (P<0,001) tedavi grubunda düşmüştür. Oksidatif stres göstergesi MPO kontrol grubunda sham grubuna kıyasla yükselirken (P<0,001) tedavi grubunda kontrol grubuna kıyasla düşmüştür (P<0,05). Buna karşı antioksidan metabolizması göstergelerinden GSH ve GSH-Px miktarları sham grubuna kıyasla tedavi grubunda önemli derecede yükselirken (P<0,001) kontrol grubunda artışlar düşük düzeyde kalmıştır (P<0,05).

Sonuç: Çalışmamızda, ruskogeninin mide ülseri üzerine makroskopik, histopatolojik, biyokimyasal ve ultrastrüktürel olarak olumlu ve hatta iyileştirici etkileri olduğu sonucuna varılmıştır. Anti-inflamatuar ve anti-trombotik etkileri uluslararası literatür ile ortaya konan ruskogenin peptik ülser tedavisinde de terapötik bir ajan olarak başarılı şekilde kullanılabilir ve umut verici bir tedavi yöntemi olabilir.

Anahtar kelimeler: İnflamasyon; Kollajen; Mide ülseri; Ruskogenin; Ultrastrüktür.

ABSTRACT

Aim: The present study is aimed to investigate the potent therapeutic effects and action mechanism of ruscogenin on a chronic ulcer model established with acetic acid on rats by using microscopic, histopathological, immunohistochemical, biochemical and ultrastructural methods.

Material and Methods: Overall 24 rats were randomly attenuated to the sham, control and treatment groups. The sham group received one daily dose of 2 ml/kg/day serum physiologic through oral gavage tube, without ulcer induction. The control and treatment groups were operated to induce gastric ulcer and thereafter control group received the same dose of serum physiologic used in sham group while treatment group received a daily dose of 3 ml/kg/day ruscogenin for 4 weeks. At the end of the experiment, all rats were sacrified under general anesthesia by intracardiac puncture. Stomachs of rats were opened through greater curvature to score the ulcer formation macroscopically. Gastric tissues were sectioned and prepared for light microscopic, ultrastructural and biochemical analysis. Sections were stained by H&E for histopathology and others incubated by Collagen I, III and IV antibodies for immunohistochemistry and then all were scored. For biochemical methods, epidermal growth factor (EGF), prostaglandin E2 (PGE2), tumor necrosis factor α (TNF-α), interleukin-6 and 8 (IL-6 ve IL-8), lipid peroxidase (LPO), myeloperoxidase (MPO), glutathione (GSH) and glutathione peroxidase (GSH-x) were analyzed by ELISA method and their amounts were determined. Ultrastructural analysis was performed on semi-thin sections.

Results: Based on macroscopic scoring, the ulceration area of the control group was 0.62 ± 0.06 while of ruscogenin treated group decreased to 0.22 ± 0.06 with a statistical significance ($P<0.05$). Histopathological images showed exfoliation on surface epithelium, hemorrage, focal necrosis and mucosal congestion, degeneration of glandular cells and inflammatory cell infiltration in the control group and the levels of degenerations increased significantly compared to the sham group ($P<0.001$); however, decreased significantly in treatment group. Two of the biochemical parameters, EGF and PGE2 levels in the treatment group declined significantly compared to sham group ($P<0.002$ and $P<0.01$, respectively) and the

control group showed significant increased levels. Tissue levels of TNF-α, IL-6 and IL-8, inflammatory markers, were recorded as signficantly increased in control, in comparison with sham and treatment groups ($P<0.001$, $P<0.01$ and $P<0.001$, respectively). The indicator of lipid metabolism, LPO level, elevated in control group whereas diminished in treated group, compared to sham group ($P<0.001$). One of the oxidative stress indicators, MPO levels, were increased in control group ($P<0.001$) when compared to sham group and decreased in treated group compared to control group ($P<0.05$). However, levels of antioxidant mechanisms reactors, GSH and GSH-Px, were shown to increase significantly in treatment group ($P<0.001$) while they maintained their decreased levels in control group compared to the sham group ($P<0.05$).

Conclusion: In this study, it is concluded that there are potent and even therapeutical effects of ruscogenin on gastric ulcer, confirmed by macroscopic, histopathological, biochemical and ultrastructural findings. With various anti-inflammatory and anti-thrombotic effects well demonstrated in the literature, ruscogenin may also be successfully used as a safe and therapeutical agent and be promising as an alternative treatment method in the treatment of peptic ulcer.

Key words: Inflammation; Collagen; Gastric Ulcer; Ruscogenin; Ultrastructure

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Gastrik mukoza sürekli olarak zararlı faktörlere maruz kalsa da mukozal bariyer, gastrik asit ve pepsin salınımı, mukozal kan akımı ve gastroduodenal motilitenin de dahil olduğu multifaktöriyel ve kompleks etkileşimlerle ve savunma mekanizmalarıyla yapısal bütünlüğünü ve fonksiyonunu koruyabilmektedir (1). Mide ülseri, peptik ülserlerin bir çeşidi olan gastrointestinal bir hastalıktır (2) ve ülkemizdeki sıklığı net olarak bilinmemekle birlikte, dünya popülasyonunun en az %10'unu etkilediği bilindiği için modern epidemik olarak görülmektedir (3). Patofizyolojisi tam olarak açıklanamasa da, mukozal savunma mekanizmaları (mukus ve bikarbonat salgısı, epitelyal bariyerler, sürekli kan akımı, peristaltik hareket) ile hasar yapıcı mekanizmalar [asit salgısı, pepsinin kostik etkisi, *Helicobacter pylori* (*H.pylori*) enfeksiyonu, non-steroidal anti-inflamatuar ilaç (NSAİİ) kullanımı, sigara] arasındaki denge bozukluğundan kaynaklandığı kabul edilmektedir (4). Savunma sisteminin sekonder bileşenleri arasında prostaglandinler (PGler) ve nitrik oksit (NO) yer alır (5). PGler ve NO, mukus ve bikarbonat sentezini stimüle ederek gastrik mikrosirkülasyonu korur (6). Oksidatif stresin (OS) adherent mukus tabakasını azaltarak bu doğal savunma sistemine hasar verdiği gösterilmiştir. Bu da hidroksil radikallerin üretimiyle mekanik güçlere olan hassasiyeti doğrudan arttırmakla kalmaz, aynı zamanda redoks-duyarlı transkripsiyon faktörlerini de aktifleştirerek inflamatuar cevabı dolaylı yoldan şiddetlendirir (7). Ayrıca ülser bölgesinde meydana gelen gastrik inflamasyon makrofajların ve polimorfonuklear hücrelerin migrasyonunu arttırarak proinflamatuar sitokinlerin ve mediatörlerin bu hücrelerden salınımını da arttırır (8). Bu mediatörler arasında tümör nekroz faktörü (TNF-α) ve interlökin 6 ve 8 (IL-6 ve IL-8) yer alır. Özellikle H. Pylori pozitif ülser hastalarında TNF-α ve IL-8'in üretiminin arttığı bilinmektedir (8).

Gastrik mukozal hasarda reaktif oksijen türlerinin (ROS) kaynaklarından biri de aktifleşen nötrofillerdir. Biriken aktif nötrofiller dokuda miyeloperoksidaz enzimini (MPO) serbestleyerek hidrojen peroksit (H_2O_2) ve klor iyonlarından hipoklorik asit oluşmasına sebep olurlar. Hipoklorik asit de sülfitlerin oksidasyonuna, sitokrom ve proteinlerin parçalanmasına sebep olur. MPO

aktivitesinin artması, dokuda nötrofil birikiminin arttığının yani gastrik mukozal inflamasyonun bir göstergesidir (8).

Gastrik ülserler tedavi edilmediğinde kanama, perforasyon ve tıkanma gibi hayatı tehdit edici komplikasyonlara yol açabilir (9). Gastrik ülser tedavisinde cerrahinin rolü, medikal ve endoskopik tedavilerin etkin olarak kullanılmasıyla azalmıştır. Medikal tedavi, temelde hasar yapıcı etkenlerin ortadan kaldırılması ve mukozal savunma mekanizmalarının güçlendirilmesi üzerine kurulmuştur. Medikal tedavide antiasitler, sukralfat ve bizmut gibi kısa süreli mukoza koruyucularının yanında antikolinerjikler, H_2 reseptör antagonistleri ve proton pompa inhibitörleri gibi daha uzun etkili ilaçlar da kullanılmaktadır. Ayrıca *H.Pylori* enfeksiyonunda eradikasyon tedavisi uygulanmaktadır (10,11).

Ülser iyileşmesi, mukozal hasarın epitelyal ve bağ doku hücreleri tarafından giderilmesinin dinamik bir sürecidir ve çeşitli büyüme faktörleriyle kontrol edilen hücre proliferasyonu, migrasyonu, rejenerasyonu, aktif anjiyogenez ve ekstrasellüler matriks birikimi gibi kompleks biyolojik cevapları içerir (12). Ülserasyon, ülser sınırındaki mukozal hücrelerin epidermal büyüme faktörü (EGF) gibi faktörleri ekpsrese etmesini tetikler. Bu büyüme faktörleri de lokal olarak epitelyal hücre migrasyonu ve proliferasyonunu otokrin ve/veya parakrin etkilerle aktifleştirir ve gastrik ülser tamiri ve iyileşmesine yardımcı olur (13).

İlk olarak ‘Ruscus aculeatus’tan izole edilmiş olan ve geleneksel Çin bitkisi ‘Ophiopogon japonicas’ın ana steroid sapojenini olan ruskogeninin [(1β, 3β, 25R)-Spirost-5-ene-1,3-diol] belirgin anti-inflamatuar ve anti-trombotik aktivitelere sahip olduğu bulunmuştur (14). Yapılan çalışmalar ruskogeninin olası anti-inflamatuar mekanizmasının esas olarak nuklear faktör kappa B (NF-κB) sinyal yolağının inhibisyonu yoluyla interselüler adhezyon molekülü-1 (ICAM-1) ekspresyonunun baskılanmasıyla ilişkili olabileceğini göstermiştir (14, 15). Fakat ruskogeninin kronik mide ülseri üzerine terapötik etkisini gösteren çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada ruskogeninin asetik asit ile indüklenen kronik mide ülseri üzerine olası terapötik etkilerini ve mekanizmasını makroskopik, histopatolojik, immunohistokimyasal, biyokimyasal ve ultrastrüktürel yöntemlerle incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. MİDE ANATOMİSİ

Özofagus ile duodenum arasında yer alan, karın boşluğunun üst kısmında, diyafragmanın altında, transvers kolonun üstünde; sol hipokondriak, epigastrik ve umblikal bölgelerde bulunan, anterior ve posterior çapı 8 cm, horizontal çapı 12 cm, vertikal çapı 25 cm olan mide 'J' şeklinde bir organdır ve gastrointestinal kanalın en geniş bölümüdür. Yaklaşık 1-1,5 litrelik kapasiteye sahiptir. Bu değer yenidoğanda 30 cc, pubertede 1 litre kadardır (16-19). Mide özsuyu günlük 1000-1500 ml kadar olup gastrik bezlerden salınan salgılar genellikle mukus, pepsin, gastrin, intrensek faktör, hidroklorik asit, kan grubu antijenleri ve çeşitli elektrolitleri içerir (20,21).

Özofagustan geçerek midede toplanan besinler, kimyasal (mide duvarında var olan, 24 saatte 2-3 litre kadar salgılanan; içinde su, HCl, intrinsik faktör, pepsin ve mukus bulunan salgı bezlerinin salgıları ile) ve fiziksel (mide duvar kaslarının kasılması ile) olarak parçalanır ve yarı katı, yarı sıvı şeklindeki 'kimus'a dönüştürülür. Boş iken içinde kişiden kişiye değişen miktarda hava ve sıvı bulunun midenin, maksimum 4 litre sıvı tutma kapasitesi vardır (16-19).

Alınan sıvı maddeler, küçük kurvaturün iç yüzüne denk gelen mukozadaki pilikalar silinip düzleşerek, Waldeyer tarafından "Mide caddesi" şeklinde isimlendirilen şerit gibi bir alandan geçerek duodenuma ulaşır.

Mide anterosuperior yüzü ile diyafragma ve karaciğer sol lobu, lateralde dalak, posteriorda pankreas, inferosuperior yüzü ile batın ön duvarı ve transvers kolon yakın komşuluk içindedir (22,23).

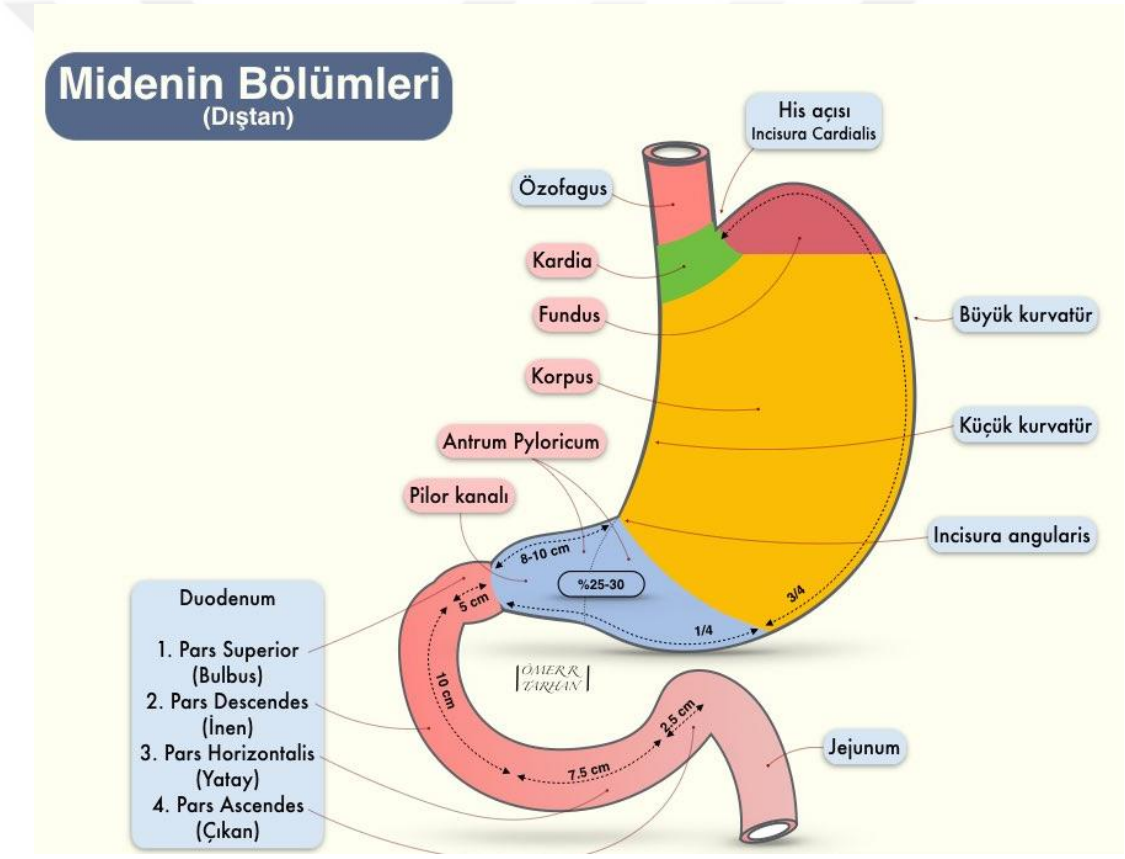
Midenin kardia, fundus, korpus, antrum ve pilorik bölge olmak üzere beş bölümü bulunmaktadır (Şekil 2.1).

1. Kardia: Özofagusa yakın olan, 2-3 cm genişliğinde, en proksimalde bulunan, huniye benzeyen bölümdür.

2. Fundus: Kardiak bölgeden enine çekilen bir çizginin üzerinde kalan geçici olarak yiyecekleri depolayan, bazen hava ile dolabilen, diafragmanın alt yüzüyle komşu, kubbe şeklindeki bölümdür.

3. Korpus: Kardiak bölgeden ve insisura angülarisden çekilen enine çizgiler arasında kalan en geniş ve en büyük bölümdür.

4. Antrum ve pilorik bölge: Korpusa göre daha kalın duvarlı ince bağırsaklara yakın olan son bölümdür. Duodenumu mideden ayıran, kısa boru şeklinde ve kalın duvarlı, mide içeriğinin duodenuma geçişini kontrol eden ve kas tabakasından zengin sfinkteri bulunan pilor kanalına dönüşür.



Şekil 2. 1. Midenin Bölümleri; Kardia, Fundus, Korpus ve Pilor dur (pars pylorica) (23).

Midenin peritonla örtülü, düzgün yüzeyli ön yüzü ve ön yüze göre daha dar, yine peritonla örtülü arka yüzü vardır. Ön ve arka duvarlar uzun eksen boyunca sağ ve solda birer eğrilikle birleşir (19,24). Bunlardan soldaki konveks eğrilik, ostium

kardiakumun sol tarafında insisura kardiakadan (fundus ile özofagusun son kısmı arasındaki derin bir çentik) sonra başlayan, ligamentum gastrofrenikumla diafragmaya bağlanan, alt kısımda mideyi transvers kolona bağlayan omentum majus, üst kısımda ligamentum gastrolienale (mideyi dalağa bağlar) ile bağlantılı olan, 40 cm uzunluğundaki kurvatura major ve sağdaki konkav eğrilik ise ligamentum hepatogastrikumun tutunduğu, iki yaprağı arasında sağ ve sol gastrik damarların seyrettiği, omentum minusa yapışan, ostium kardiakumun sağındaki hafif bir girintiden sonra başlayan 8-15 cm uzunluğundaki kurvatura minordur (16,17,19,24).

Diyafragmanın hemen altında, karın arka duvarına yakın olan, torakal vertebra korpusları (T10-11) hizasındaki ostium kardiakum ve ostium pilorikum adı verilen iki deliği bulunur (16-19).

Mideyi yerinde tutan en güçlü yapı özofagus olup bunlara ek olarak peritoneal ligamentleri vardır:

Omentum Minus:

Karaciğer ile küçük kurvatür ve proksimal duodenum arasındaki ince periton parçasıdır. İki bölümü vardır, hepatoduodenal ligament ve hepatogastrik (gastrohepatik) ligament (24).

Hepatoduodenal Ligament (Ligamentum Hepatoduodenale):

Küçük omentumun distal parçası olan bu ligaman içinde önde sağda koledok, solunda hepatik arter ve bu ikisinin arkasında portal venden oluşan hepatik triad, hepatik pleksus ve lenf nodları bulunur. Arkasındaki açıklıktan bursa omentalise geçiş vardır (Foramen Winslow / epiploicum) (24).

Hepatogastrik (Gastrohepatik/Küçük Omentum) Ligament:

İki kat peritondan oluşur. Sol gastrik arter ve ven, vagus sinirinin ön ve arka mide bölümü (laterjet siniri) ile vagus sinirinin hepatik bölümü, ve lenf nodüllerini içerir. Bu damarlar küçük kurvatüre yakın ve paralel seyrettikleri için, sorunsuzca ortasından kesilebilir. Kesilince de bursa omentalise ulaşılmış olur. Hepatogastrik

ligamanın serbest ve gevşek olan alt ve orta kısmına pars flaccida, kardiaya yakın ve gergin üst kısmına pars condensa denir (24).

Gastrosplenik ligament:

Mide büyük kurvatüründen dalak hilusuna uzanan ligamenttir (24).

Gastrofrenik ligament:

Alt kısmında kısa gastrik arterler ve venleri ve lenf düğümleri bulunan, hepatogastrik ligamentin devamı olan ligamenttir.

Omentum Majus (Büyük Omentum, Gastrokolik Omentum, Epiploon):

Mide büyük kurvatürdan aşağı sarkan ve mutfak önlüğüne benzeyen, karın açılınca ilk görülen, bağırsakların üzerini örtecek kadar büyük olan, gastrokolik ligament içindeki sağ-sol gastroepiploik damarlar ile beslenen, yağlı ve damarlı periton yapısıdır (24).

Gastrokolik Ligament:

Transvers kolonu, midenin büyük kurvatürü ve duodenumu birbirine bağlayan, büyük omentumun bir parçasıdır. Bursa omentalisin alt ön (anterior) kısmını oluşturur. Bu yüzden, gastrokolik ligament kesilince bursa omentalise (lesser sac), pankreasa ve mide arka yüzüne ulaşılır (24).

Mide Arterleri

Son derece iyi kanlanan bir organ olan midenin arterleri trunkus çölyakustan dallanırlar. 4 adet olup sol ve sağ gastrik arter, sağ ve sol gastroepiploik arterdir (25-27).

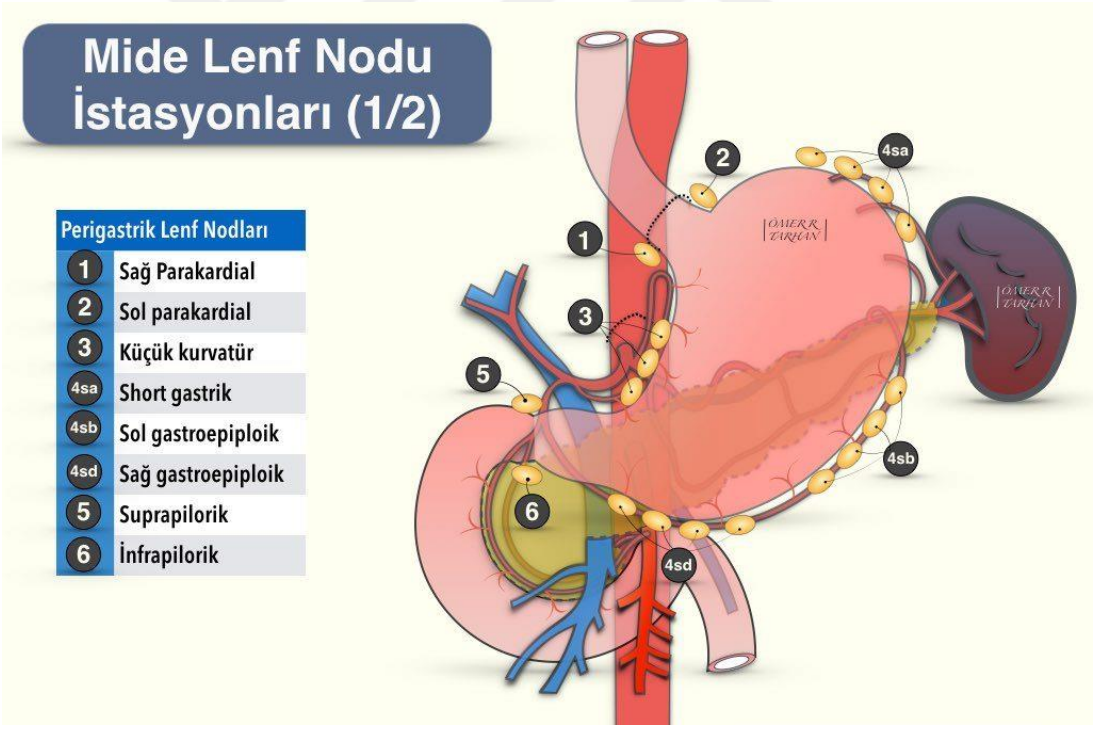
Mide Venleri

Arterleri takip ederler ve aynı ismi alırlar. Sol gastrik (koroner) ve sağ gastrik venler portal vene dökülür. Sağ gastroepiplokik ven süperior mezenterik vene, sol gastroepiploik ven splenik vene dökülür (25-28).

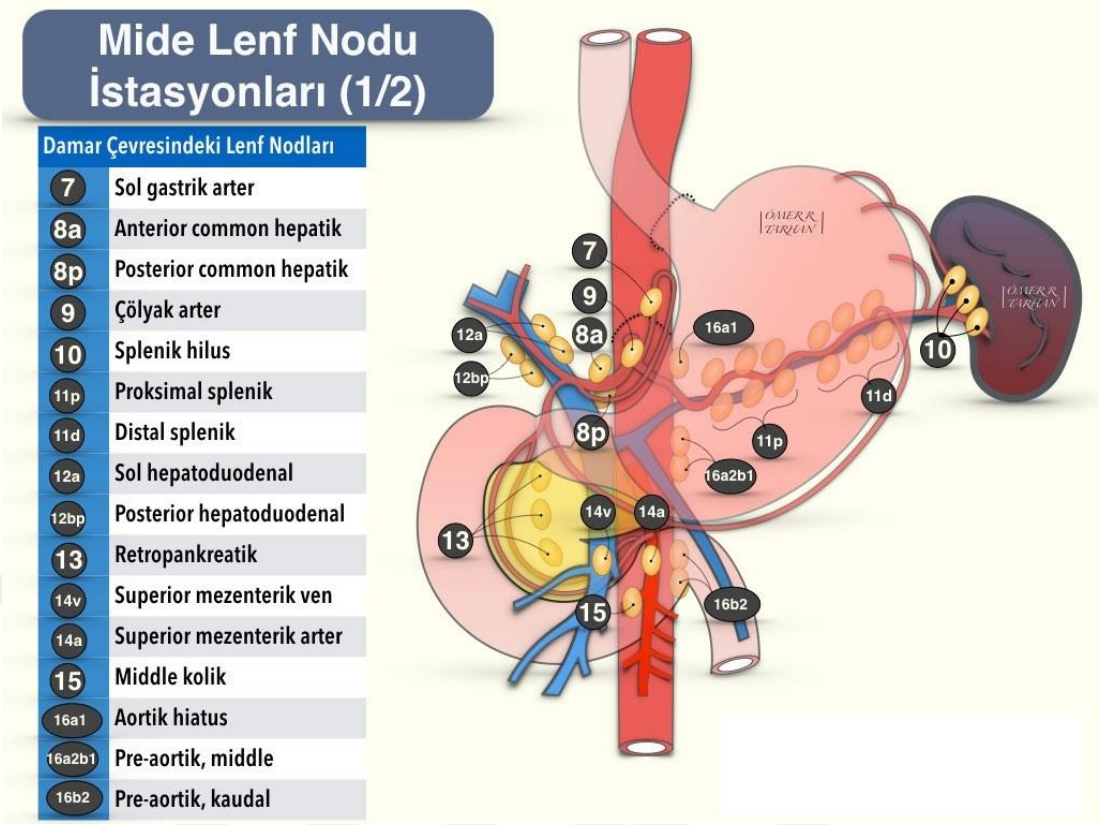
Midenin Lenf Sistemi

Genellikle venleri takip edip yakın çevredeki lenf ganglionlarına (Çölyak, gastroepiploik, pankreatikolienal, kardiak) dökülürler (22,24-27).

Japon Mide Kanseri Araştırma Derneği (JRSGC) öncülüğünde 1995'te lenf bezleri; Perigastrik Lenf bezleri (N1) (Sağ ve sol parakardiyak, büyük ve küçük kurvatur, supra ve infrapilorik), Perivasküler Lenf bezleri (N2) (Sol gastrik arter, hepatik arter, çölyak trunkus, splenik hilus ve arter), İleri Düzey Lenf bezleri (N3-4) (Hepatoduodenal ligament, retropankreatik, mezenterik kök, orta kolik arter, paraaortik, anterior ve inferior pankreatik, infradiyafragmatik, özofageal hiatus, alt özofagus, supradiyafragmatik) şeklinde sınıflandırılmıştır (23,29) (Şekil 2.2 ve Şekil 2.3).



Şekil 2. 2. Mide lenf nodu istasyonlarından perigastrik lenf nodları (23)



Şekil 2. 3. Mide lenf nodu istasyonlarından perigastrik lenf nodları (23)

Midenin Sinirleri

Parasempatik innervasyon n. vagus ile; sempatik innervasyon çölyak pleksus (n. splanknikus majör ve minör) ile sağlanır. Sinirler damarların etrafında seyreder ve minör kurvaturda "superior gastrik pleksus"u ve major kurvaturda "inferior gastrik pleksus"u oluştururlar. Bu pleksuslar midenin otonom sinir sisteminden ayrı bir ağ olan, enterik sinir sistemi olarak da adlandırılan **intrinsik sinir sistemi**ni oluştururlar. Mide duvarı katlarından muskülaris propriada kas lifleri arasında "Myentericus Auerbachi" pleksusunu ve buradan çıkan liflerse submukozadaki "Submukosus-Meissneri" pleksusunu oluştururlar (23,24,26,27,29-31).

2.2. MİDE EMBRİYOLOJİSİ

Gastrointestinal sisteme ait organlar embriyonun ventral tarafında, korda dorsalisin önünde üç yapraklı bir disk biçiminde bulunan germ plağından biri olan endodermin kıvrılması ile primitif barsak taslağından gelişirler (32). Bu primitif kanal ağızdan anüse kadar foregut (ön barsak) (buradan özofagus, mide, duodenumun birinci kısmı, karaciğer, safra yolları, pankreas gelişir), midgut (orta barsak) ve hindgut (son barsak) olmak üzere üç bölüme ayrılır (33).

Barsak epiteli ve sindirim kanalı bezleri endodermden, sindirim sistemindeki organların duvarındaki kas ve bağ dokusu ise endodermi saran splanknik mezenkimden gelişmektedir (16,34,35). Gebeliğin 4. haftasında özofagus taslağının hemen altında, primitif barsak kanalının ön bağırsak kısmından tubuler bir yapı olarak gelişen mide taslağı oluşur (36,37). Kalp taslağından transvers septum ile ayrılır ve böylece kardia parçasının öne doğru gitmesi önlenir. Taslağın arka kısmının öne göre daha fazla ve çabuk büyümesiyle midenin pilor parçası öne doğru gelir ve karın arka duvarından uzaklaşır. Bu yüzden midenin ön kenarı arkaya göre daha kısa kalır. Böylece midenin arka tarafı şişkin asimetrik bir torba şeklini alır. Bu aşamada sagittal durumda olan mide sağ ve sol olmak üzere iki yüz gösterir.

Gelişim biraz daha ilerleyince mide orta çizgi üzerindeki durumunda daha fazla duramaz. Küçük kurvatur sağa, büyük kurvatur sola dönmeye başlar (32,36). Mide iki kere durum değiştirir:

İlk rotasyon, midenin uzunlamasına ekseni etrafında, saat yönünde sağa doğru 90º lik dönüşüyle sonuçlanır. Bu dönüş sonunda sol yüzü öne (ventral), sağ yüzü arkaya (dorsal) yerleşir. Önceleri solda bulunan sol n. vagus öne, sağ yüzde bulunan sağ n. vagus arkaya geçer (36,37). Mezogastrium dorsale de bu dönme hareketinden etkilenerek sola doğru çekilir ve mide arkasında peritoneal bir cep şeklinde bursa omentalisi oluşturur. Major kurvatur, dorsal mezogastriumla karın arka duvarına, minör kurvatur ventral mezogastriumla karın ön duvarına bağlıdır (16,35,38). Uzun eksen etrafındaki bu dönüş, dorsal mezogastriumu sola doğru çekip bursa epiploika'nın (mide arkasındaki peritoneal boşluk) gelişmesine yardım eder ve

gastrolienal, gastrokolik ve gastrofrenik bağları oluşturur. Ventral mezogastrium ise küçük omentumu oluşturur.

İkinci rotasyon, sagittal (ön-arka/dorso-ventral) eksen etrafındadır. Başlangıçta midenin kranyal ve kaudal uçları orta çizgi üzerinde bulunmaktadır. Bu dönüş ile midenin pilorik kısmı yukarı ve sağa; kardia bölgesi ise sola ve aşağıya yerleşir ve sonunda embriyonal hayatın yedinci haftasında mide hemen hemen son şeklini alır ve oblik duruma gelir (16,30,35,36,39,40).

2.3. MİDE HİSTOLOJİSİ VE ULTRASTRÜKTÜRÜ

Ekzokrin ve endokrin bir organ olan mide anatomik olarak beş kısımda, histolojik olarak dört kısımda (kardia, fundus, korpus ve pilor) incelenir. Ancak korpus ve fundus mikroskopik düzeyde aynı olduğundan histolojide sadece üç bölge ayırt edilebilir (31).

Mide histolojik olarak dıştan içe doğru tunika seroza, tunika muskularis, tunika submukoza, tunika mukoza olmak üzere 4 tabakadan meydana gelir:

1) Tunika Seroza

Dıştan mezotel ile örtülü, kurvaturlarda mezenter ile devam eden, peritonun viseral yaprağından oluşan, gevşek ince bağ dokusu yapısındadır (18,41).

2) Tunika Muskularis

Üç yönde düzenlenmiş (dıştan içe longitudinal, sirküler, oblik) kas liflerinden oluşmuştur. Sirküler tabaka pilor bölgesinde kalınlaşıp midenin boşalmasına yardımcı olan pilor sfinkterini oluşur (18,31,41-44).

3) Tunika Submukoza

Meissner pleksusu, lenfoid doku elemanları, kan ve lenf damarları, kollajen ve az miktarda elastik lif bulunduran gevşek bir bağ dokusudur (18,31,43,44).

4) Tunika Mukoza

Plika gastrika (ruga) denilen uzun eksene paralel uzanan çok sayıda kalın kıvrımlar (plika) içerir (31,45). Özellikle fundus bölgesinde mukozanın yarısına kadar derinleşebilen, 1-5 mm çapında çukurcuklar (foveola) bulunur (26,42). Her biri karakteristik yapı gösteren; HCl, sindirim enzimi, mukus ve intrinsik faktörü salgılayan gastrik tubuler bezler bu foveolalara açılır (18,19,31,45).

Mide mukozası; lamina epitelyalis, propria ve muskularis mukoza olmak üzere üç bölüme ayrılır.

1) Lamina epitelyalis

A. Yüzey epiteli: Midenin kuvvetli asidik etkisinden mideyi koruyan mukusu salgılayan tek katlı prizmatik epiteldir (31). Bazal kısımlarında oval çekirdekleri vardır. Apikal kısımlarında sitoplazmaları mukoid salgı ile doludur (46).

B. Mukoid Bezler: Anatomik lokalizasyona göre isimlendirilirler:

Kardia Bezleri

Üst kısmında farklılaşmamış hücreler, seyrek olarak "amine precursor uptake and decarboxilation" (APUD) hücreleri bulunur. Midede 5-10 mm genişliğinde sirküler bir alanda yerleşim göstermektedirler (42,45). Salgı yapan hücrelerin çoğu lizozim ve mukus üretir, HCl salgılayan birkaç parietal hücre olabilir (31,41,47).

Fundus ve Korpus Bezleri

Fundus ve korpusun lamina propriası, 3 bölümden (yüzey mukus hücrelerinin oluşturduğu isthmus; parietal, esas (zimojen) ve endokrin hücrelerin bulunduğu taban ve kök; parietal ve müköz boyun hücrelerinden oluşan boyun) oluşur (31,42,43,48). Dallanmış tubuler gastrik bezler (fundus bezleri) ile doludur. 3-7 tanesi birlikte bir foveolanın dibine açılır (31,41). 5 hücre tipi içerir: müköz boyun hücreleri, kök hücreleri, esas hücreler, parietal hücreler ve endokrin hücreler (43).

- Müköz Boyun Hücreleri: Bezlerin boyun bölgelerinde, parietal hücreler arasında gruplar halinde veya tek başına bulunur (31,41,48). Nötral mukus salgılayan yüzey müköz epitel hücrelerinin aksine asit mukus sentezler (31,42). Glikozaminoglikan bakımından zengindir (42).

- Parietal (okzintik) Hücreler: Sıklıkla bezlerin üst yarısında bulunur, tabanda nadir görülür (42). 0,16 mol/l hidroklorik asit, 0,07 mol/l potasyum klorür, eser miktarda diğer elektrolitler ve B12 vitamininin ileum tarafından emilimini sağlayan bir glikoprotein olan intrinsik faktörü salgılar (31,42,43,47). Salgıları kolinerjik sinir sonlanmaları ile düzenlenir (31). Yüksek miktarda karbonik anhidraz enzimi ve mitokondri bulundurur (31,43,47).
- Esas (zimojen) Hücreler: Bezlerin alt bölümünde daha fazladır (12, 19, 20). Bez hücrelerinin çoğunu oluşturduklarından esas (chief) hücre ismini alırlar. (11-15). Sitoplazmalarındaki granüllerde asitle karşılaştığında pepsine dönüşen inaktif durumda pepsinojen ve lipaz enzimi bulunur (31,42).
- Kök Hücreler (Farklılaşmamış Hücreler): Bezlerin boyun kısmında az sayıda bulunurlar (31,43). Müköz granülleri az sayıda bulunduran kısa boylu prizmatik hücrelerdir (42,49).
- Enteroendokrin Hücreler: Esas hücrelerle bazal membran arasına yerleşmiş az miktarda bulunan hücrelerdir (41,49). Sindirim kanalının peristaltik hareketlerini arttıran serotonin ve gastrin salgılarlar (42,50).

Pilor Bezleri

İçine dallanmış, tubuler pilor bezleri açılan derin foveolaya sahip olan pilor (31), kardia bezlerine benzeyen; müköz, parietal ve farklılaşmamış hücreleri barındıran (42), lizozim ve mukus salgılayan bezler içerir (31,42). Pilor bezinin müköz hücrelerinin arasında, gastrik bezlerin parietal hücrelerinden hidroklorik asit salınımını güçlü şekilde uyaran ve polipeptid yapısındaki gastrini salgılayan gastrin (G) hücreleri bulunur (31,47). Diğer enteroendokrin hücreler (D hücreleri) diğer hormonların salınımını inhibe eden somatostatin salgılar (31,42).

2) Lamina propria

Mukozanın en kalın ve en karakteristik kısmını oluşturan, gastrik bezler ve lamina muskularis mukoza arasında; lenfosit, eozinofiller, mast hücreleri ve birkaç adet plazma hücresi; kollajen, retiküler, elastik liflerin ve çok sayıda damarın bulunduğu bağ dokusu yapısıdır (42,43,49).

3) Lamina Muskularis Mukoza

Bazı yerlerde bezler arasına uzanarak müköz membrana baskı yapıp bezlerin boşalmasını kolaylaştıran, tunika mukozayı tunika submukozadan tam olarak ayıran, dış kısımda longitudinal, iç kısımda sirküler düz kas tabakasıdır (42,43).

2.4. MİDE ÜLSERİ

Peptik ülser asit ve pepsinin hasar verici etkisi ile mide ve duodenum mukozasında oluşan, muskularis mukozayı geçen, sınırları belirli doku kaybıdır. *H.pylori*'nin kültüre edildiği 1983 yılından beri peptik ülser ile ilgili bilgilerde ve tedavisinde büyük değişiklikler olmuştur. Peptik ülser sebepleri arasında *H.pylori* enfeksiyonu, aspirin ve NSAİİ kullanımı yer almaktadır. Zollinger Ellison sendromu, yanık, ağır ameliyatlar gibi büyük travmalar (stres ülserleri), mastositozis, antral G hücre hiperplazisi diğer nedenleridir (51,52).

Peptik ülser en sık duodenumda gözlenir. İkinci sıklıkta ise mide ülserleri görülür. Mide ülserleri proksimal veya distal yerleşimli olabilirler. Peptik ülser pilor kanalında, kardiyada veya hiatal herni poşu içinde, özofagusta (Barrett ülseri) da oluşabilir (51).

Belirli morbidite ve mortalite oranlarına sahip bir hastalık olan mide ülseri, dünya çapında çok sayıda insanı etkileyen multifaktöriyel gastrointestinal bir hastalıktır (51). Normal midede asit ve pepsinin (agresif faktörler) zararlı etkisi ile, koruyucu faktörler (defansif faktörler: mukus, bikarbonat sekresyonu, mide epitel hücrelerinin bütünlüğü, yenilenmesi ve kanlanması) arasında bir denge vardır. Bu denge agresif faktörler lehine bozulduğunda ülser meydana gelir (51,52). Son yıllarda kaydedilen gelişmelere rağmen bugün hala ülser patogenezinde açıklanamamış sorular bulunmaktadır (53).

Hastalık etiyolojisinin gastrik ve duodenal mukozaya endojen veya ekzojen, *H.Pylori* enfeksiyonuna sekonder, NSAİİ kullanımı gibi stimülasyonlara bağlı olduğuna inanılmaktadır (54-56). Fizyolojik ve psikolojik stres de ülser gelişimini kolaylaştırır. Fizyolojik stresin en iyi bilinenleri Curling ve Cushing'in tanımladığı ülserlerdir. Curling ülserleri yanıklı hastalarda, Cushing ülserleri ise kafa travmalı hastalarda ortaya çıkan ülserlerdir.

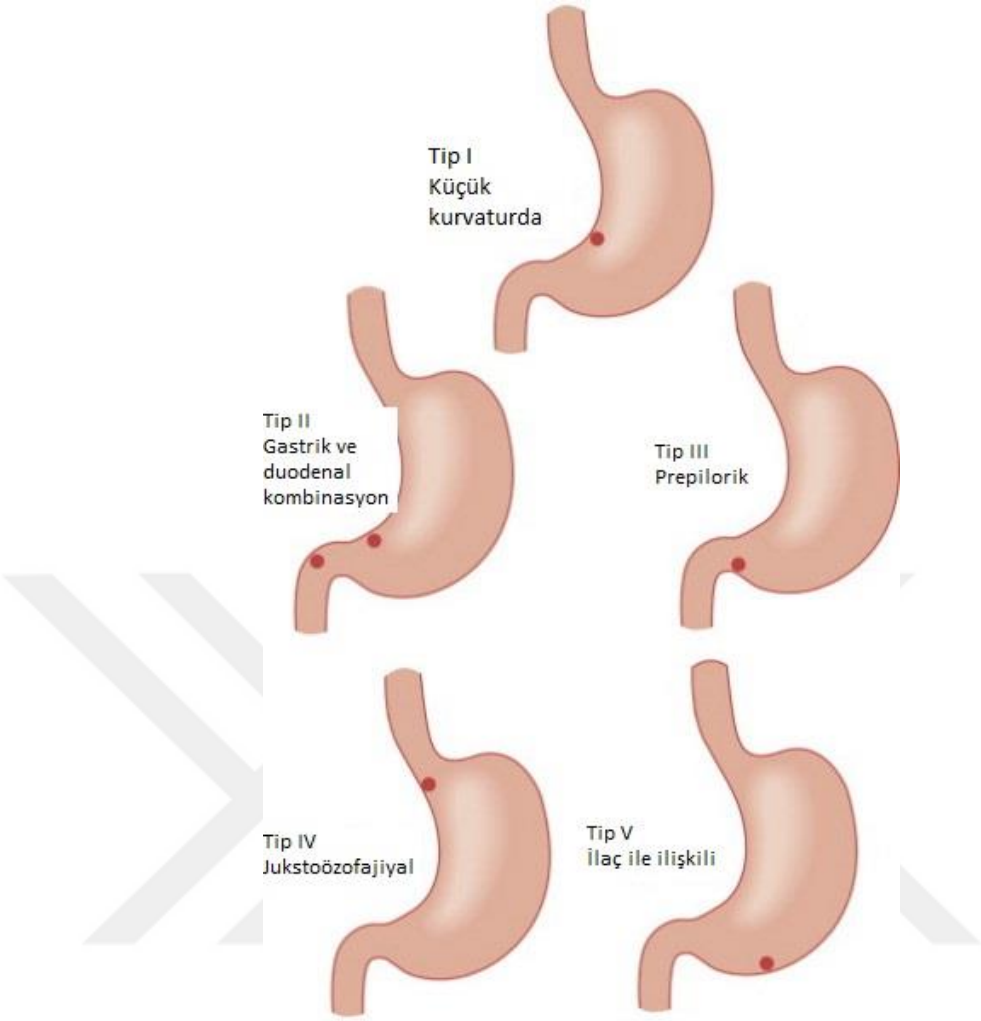
Peptik ülserler daha çok duodenum ve midenin son kısmı olan antrum bölgesinde ortaya çıkar. TNF-α, IL-6, IL-1β ve diğer birçok pro-inflamatuar mediyatör ülser hasarının gelişimine katkıda bulunurlar.

Epigastrik bölgede ağrı ve yemek sonrası midede şişkinlik tipik peptik ülser semptomlarıdır. Karın ağrısı yanıcı tarzdadır, yayılmaz, genelde gece veya yemekten 2-3 saat sonra olur. Duodenal ülserdeki gibi gece uykudan uyandırmaz. Akut (hızlı gelişir) ya da kronik (uzun sürede) olabilir. Kadın ve erkeklerde eşit görülür (57).

Peptik ülserin komplikasyonları ise anemi, hematemez, melena hatta bazen hematokezyaya neden olan ülser kanaması; mide obstrüksiyonu (pilora yakın olan ülserler deformasyona yol açıp darlık oluşturabilir); ani başlayan ve tüm karna yayılan karın ağrısı şeklinde belirti gösteren ülser perforasyonu ve gastrik malignitelere dönüşümdür. Yapılan çalışmalarda mide selim ülserlerinde kanser gelişme riski %1'dir (58).

5 tip ülser çeşidi vardır:

- Tip I: İnsisura angulariste oluşur, en sık görülen tiptir, mide asidi normal veya azalmıştır (Mukoza defansı azalmıştır).
- Tip II: Küçük kurvatürde oluşur, duodenal ülserde vardır, asit normal veya artmıştır.
- Tip III: Prepilorik bölgede oluşur, asit normal veya artmıştır.
- Tip IV: Gastroözefageal bileşkede oluşur, asit normal veya azalmıştır (Mukoza savunması azalmıştır).
- Tip V: Mide korpusunun herhangi bir yerinde oluşur, non-steroid anti-inflamatuar ilaç kullanımına bağlı meydana gelir.



Şekil 2. 4. Mide ülser tipleri (23)

Tanıda fizik muayenede epigastrik bölgede hassasiyet, bazı hastalarda hemogram ile anemi tayini ve gaitada gizli kan bakılması dışında endoskopi ile biyopsi alınması altın standarttır.

Gastrik ülser tedavisine gastrik asit sekresyonunun inhibisyonu, hücresel apoptoz modülasyonu ve antasit ilaçlarla (*H.pylori* pozitif ise antibiyotikler, Histamin (H2) blokerleri, proton pompa inhibitörleri, sukralfat) medikal tedavi uygulanmaktadır. Komplikasyonlar ortaya çıktığında ise cerrahi tedavi göz önünde bulundurulur (59, 60).

2.5. IN VİVO MİDE ÜLSERİ MODELLERİ

Peptik ülserler fizyolojik, farmakolojik veya cerrahi manipülasyonlarla çeşitli hayvan türlerinde indüklenebilirler. Ancak peptik ülser çalışmalarında çoğu deney kemirgenlerde yapılmaktadır. İlaçların peptik ülser aktivitesini test etmek veya değerlendirmek için deneysel olarak birçok model kullanılmaktadır. Bunlar arasında:

- Su imersiyonlu stres veya soğuk-su-kısıtlamalı veya soğuk kısıtlamalı stres modeli (60),
- NSAİİler (indometasin, aspirin ve ibuprofen) ile indüklenen gastrik ülserler (61),
- Asetik asit ile indüklenen gastrik ülserler (62),
- Etanol ile indüklenen gastrik ülserler (63),
- Histamin indüklenen gastrik ülserler (64),
- Reserpin ile indüklenen gastrik ülserler (65),
- Serotonin ile indüklenen gastrik ülserler (66),
- Pilor bağlanarak indüklenen peptik ülserler (67),
- Metilen mavisi ile indüklenen ülserler (68),
- Dietilditiokarbamat (DDC) ile indüklenen peptik ülserler (69),
- İskemik reperfüzyon ile indüklenen gastrik ülserler (70),
- Sisteamin ile indüklenen duodenal ülserler (71),
- İndometasin-histamin ile indüklenen duodenal ülserler (72),
- Ferröz demir- askorbik asit ile indüklenen gastrik ülserler (73),
- Asetik asit-*H. pylori* ile indüklenen ülserler (74).

Tüm in vivo hayvan modelleri, peptik ülserin indüklenme zamanına bağlı olarak ilaçların veya ajanların koruyucu veya iyileştirici etkilerini araştırmak için kullanılmaktadır. Koruyucu çalışmalar için peptik ülseri indüklemek üzere verilen ülserojenden en az iki hafta önce hayvanlara uygulama yapılması önerilmektedir. İyileştirici veya tedavi edici ülser modellerinin kullanılması için, iyileşme derecesini belirlemek üzere uygun deneysel bir tasarıma karar verilmesi önerilmektedir (75).

Koruyucu modeller için potansiyel ilacı veya test edilen materyali, peptik ülseri önlediği bilinen mizoprostol ve sukralfat gibi sitoprotektan referans bir ilaçla

karşılaştırmak önerilmektedir (76). İyileştirme veya tedavi edici çalışmalarda simetidin veya ranitidin gibi histamin reseptör antagonistleri ve omeprazol gibi proton pompa inhibitörlerinin referans ilaç olarak kullanımı da tavsiye edilmektedir. Proton pompa inhibitörlerinin klaritromisin gibi antibiyotiklerle kombinasyonu, ülserojen olarak *H.pylori* görev aldığında kullanılmalıdır (77).

2.5.1. Su İmersiyonlu Stres ile İndüklenen Ülser Modeli

Soğuk su veya rutin soğuk imersiyon metodu ile birlikte kombine edilen bu modelin, sıçanlarda akut stres lezyonunu indüklemek üzere sinerjistik olduğu ve esasen fizyolojik rahatsızlıktan kaynaklandığı rapor edilmiştir (60). Sıçanlarda veya farelerde soğuk su kısıtlamalı stres veya soğuk kısıtlamalı stres veya soğuk suda imersiyon ile stres ile indüklenen gastrik ülserlerin makroskopik ve histopatolojik olarak insan peptik ülserlerine benzediği bilinmektedir (74).

Stres ile indüklenen ülserlerin patofizyolojisi ise komplekstir. Stres ülserler asit salınımını arttıran ve mukus üretimini, pankreatik sıvı reflüsünü ve gastrik kan akışını azaltan histamin salınımına bağlı olarak gelişir. Stres, asitle teması sırasında hasar görmeye en yatkın olan mide kıvrımlarında gastrointestinal motilitede artışa da yol açar (78). Ek olarak stres, gastrik mukozanın mukusunun kalitesi ve miktarını da azaltır. Dolayısıyla bu modelin özellikle mukozal ve sitoprotektif ajanların değerlendirilmesinde kullanımı tavsiye edilmektedir. Ülser modeli 24-36 saat aç bırakılan hayvanların dikey olarak soğuk su (15-20°C) tankına 17 saat süreyle batırılması veya 2-4 saat süreyle daha soğuk suya batırılması veya 2-4 saat süreyle 2-3°C'de soğuk havalandırmalı buzdolabında bekletilmesi ile uygulanmaktadır (60,61,77).

2.5.2. NSAİİ'ler ile İndüklenen Mukozal Hasar

İndometasin, aspirin ve ibuprofen gibi non-steroidal anti-inflamatuar ilaçların (NSAİİ) aşırı kullanımında gastrik ülserlere yol açtığı bilinmektedir. Bu özellik antisekretuar ve sitoprotektif ajanların potansiyel kullanımını araştırmak için önemli bir model oluşumu sağlamıştır. Antiülser çalışmalarda en çok kullanılan bu modellerde NSAİİ'lerin siklooksigenaz (COX) yolağında prostaglandin sentetazı inhibe ederek ülseri tetiklediği bilinmektedir (79). NSAİİ ile indüklenen gastrik

ülserasyonun patogenezi, NSAİİ'nin COX enzimlerinin aktivitelerini engellemesi sonucunda mukus ve bikarbonat salgısının ve mukozal kan akışının azalması, trombosit agregasyonun hasarlanması, epitelyal hasara yol açan mikrovasküler yapıların değişmesi, anjiyogenezin azalması ve lökosit adheransının artmasıdır (5). NSAİİler gastrik peroksidazların inhibisyonuna ve mukozal hidrojen peroksit ve hidroksil iyon düzeylerinin artışına sebep olarak oksidatif mukozal hasara yol açar. NSAİİ'ler mukus ve bikarbonat salgısını azaltarak da epiteli koruyan jukstamukozal pH gradientinin verimini düşürebilir. Gastrik ülserasyon sağlamak için etkili dozun bulunması adına genellikle ön çalışma gerekmektedir (77).

2.5.3. Asetik Asit ile İndüklenen Gastrik Ülserler

Peptik ülserin en az anlaşılan yönlerinden biri, hastalar ve uzmanlar için sorun teşkil eden bir olay olan iyileşme ve alevlenme dönemlerinin tekrar etmesiyle karakterize hastalığın kronisitesidir. Çoğu deneysel ülseratif lezyon skar oluşturmadan birkaç gün içinde hızlıca iyileşir ve kendiliğinden tekrar ülser meydana getirmez. Takagi ve ark. submukozal olarak asetik asit enjeksiyonuyla sıçanlarda kronik gastrik ülseri indükledikleri bir model geliştirmiş ve ülser oluşumundan sonra uzun aralıklarla lezyonların iyileştiğini rapor etmişlerdir (80). Deneysel gastrik ülser, uzun süreli varlığıyla kronik olarak görülür ve makroskopik ve histolojik olarak insan kronik ülserine benzer. 1969 yılında geliştirildiğinden beri ülser tabanının karaciğer gibi yakın organlara kalıcı yapışması gibi belirli zorluklardan kurtulmak amacıyla asetik asitle indüklenen ülser modellerinde değişiklikler yapılmıştır. Okabe ve Pfeiffer'in geliştirdiği yeni bir metotta asetik asit solüsyonu intraluminal olarak uygulanmıştır (81). Bu model iyi tanımlanmış ve temel ve klinik bilimci araştırmacılar tarafından dünya genelinde hala kullanılmaktadır (77).

Asetik asit modeli kronik peptik ülserler için uygundur ve potansiyel ilaçların etkisini değerlendirmek veya maddeleri iyileşme sürecinde test etmek için ve ayrıca antisekretuar ve sitoprotektif etkileri görüntülemek için kullanılmaktadır (80-83). Bu model kolayla ve güvenilir şekilde fare, sıçan, guineapig, kedi, köpek, minyatür domuzlar ve maymunlarda yuvarlak, derin ülserler üretebilmektedir (62, 80-84). İnsan ülserlerine benzeyen bu modelde 24-36 saatlik açlıktan sonra sıçanlara eter anestezisi altında 2mm çapta esnek plastik bir kateter anüsten 8 cm ilerletilerek

yerleştirilir ve 2 ml %4'lük asetik asit uygulanır. Asetik asidin sızmaması için sıçanlar 2 dk baş aşağı pozisyonda tutulur. 24 saatlik asetik asit uygulamasından sonra sıçanlar sakrifiye edilir (84). Ülser indüksiyonu için optimum dozu belirlemek adına ön deney yapılabilir.

2.5.4. Etanol ile İndüklenen Peptik Ülser Modeli

Etanol gastrik ülser oluşturmada bir risk faktörüdür. Koruyucu müköz tabakayı çözebilme ve mukozayı HCl'nin ve pepsinin proteolitik ve hidrolitik etkilerine maruz bırakabilme özelliğinden ötürü gastrik mukozayı delebilir ve membrana zarar verebilir (85). Etanol asit üretimini stimüle eder, kan akışını azaltır, ksantin oksidaz aktivitesini arttırır, hücresel antioksidan süreçlerdeki dengeyi bozar, süperoksit anyon ve radikallerin salınımına yol açar. Böylelikle dokularda OS'i arttırır, bikarbonat üretimini ve gastrik mukus üretimini azaltarak gastrik mukozada nekrotik lezyonlar üretir (86, 87). Etanolün bu zararlı etkileri peptik ülser modellerinin geliştirilmesinde kullanılmasına sebep olmuştur. Etanol ile indüklenen ülser modelleri gastrik asit salgılanmasından bağımsızdır ve insanlardaki akut peptik ülserlere benzer (88). Dolayısıyla antisekretuar ilaçların kullanımının değerlendirilmesinde ve maddelerin test edilmesinde bu modelin kullanımı uygun değildir. Ancak potansiyel ilaçların etkililiğinin çalışılmasında veya ajanların sitoprotektif ve/veya antioksidan aktivitelerinin test edilmesinde kullanılması uygundur. Ülseri indüklemek için 24-36 saatlik aç hayvanlara absolüt etanol 1ml/200 g vücut ağırlığı dozunda uygulanır ve 1 saat sonra hayvanlar sakrifiye edilir. Yine etkili doz çalışması yapılması tavsiye edilir (89).

2.5.5. Histamin ile İndüklenen Gastrik Ülser

Histamin gastrik asit üretimini desteklemez fakat gastrik mukozada ve mikrosirkülasyonda hasarlara, anormal motiliteye ve mukus üretiminde azalmaya sebep olur. Asit stimüle edici ve vazodilatasyon kapasitesi sayesinde vasküler permeabiliteyi arttırarak gastrik ülseri indükler (90). Potansiyel ilaçların ülsere karşı ve H2-reseptör antagonisti olarak fonksiyon gösteren ajanların antisekretuar etkilerini değerlendirmek için bu model kullanışlıdır (64). 18 saat aç bırakılan

hayvanlara histamin fosfat 40-100 mg/kg vücut ağırlığı dozlarında subkütan olarak uygulandıktan 2 saat sonra hayvanlar sakrifiye edilerek model oluşturulur (77).

2.5.6. Reserpin ile İndüklenen Peptik Ülser

Reserpin ile gastrik ülserasyonun indüklenmesi, kolinerjik sistem ile kontrol edilen histamin salınımının sonucunda gastrik mast hücrelerinin degranülasyonu ile gerçekleşir (91). 36 saat aç bırakılan sıçanlara %10 Tween'de çözülmüş 5-8 mg/kg dozda reserpin intraperitonal olarak uygulanır. Model asit bağımlı olmasına rağmen gastrik mukozal lezyonun indüklenmesi için hipersekresyondan çok hipermotilite önemli görülmektedir (92). En az 30 dk önce reserpin uygulanan hayvanlar 24 saat sonra sakrifiye edilerek incelenebilir (77).

2.5.7. Serotonin ile İndüklenen Gastrik Ülser

Ülserleri indüklemek için kullanılan serotonin vazokonstriksiyona sebep olarak gastrik mukozal kan akışının azalmasına ve akut mukozal hasara yol açar (66). Bu modelde 24-36 saat aç bırakılan sıçanlara tek doz serotonin kreatinin sülfat (0,5 ml 50 mg/kg) subkutan olarak enjekte edilir. Orogastrik kanül yardımıyla intragastrik entübasyonla da verilebilir. Hayvanlar 6 saat sonra sakrifiye edilerek incelenebilir (77).

2.5.8. Pilor Bağlanarak İndüklenen Peptik Ülser (Shay Metotu)

Pilorun bağlanması ilaçların gastrik salgılara etkililiğini araştırmak için kullanışlı bir model olarak görev alan bir ülser modeli sağlar. Midenin pilor ucunun bağlanması gastrik asitin birikmesine ve ülserin oluşmasına yol açar. Pilor tıkanmasına bağlı olarak asit-pepsin birikimindeki artış mukozal sindirime yol açabilir. Bu model asit ve pepsin gibi gastrik agresif faktörlerin salınımını azaltan anti-sekreatuar ilaçların etkilerini değerlendirmek için kullanışlıdır. 36-72 saat aç bırakılan hayvanların pilorları Shay tekniği ile eter anestezisi altında bağlanmadan 1 saat önce ilaç veya test materyali oral yolla uygulanır. 18-20 saat sonra hayvanlar sakrifiye edilir ve ülserleri değerlendirilir (77).

2.5.9. Metilen Mavisi ile İndüklenen Ülser

ATPazları ayırdığı ve süperoksit radikal iyonlarını ürettiği bilinen sentetik bir ilaç olan metilen mavisi, antiülser ajanları ve etki mekanizmalarını çalışmak üzere ülserogenik ajan olarak kullanılmaktadır (68). Hayvanlara uygulandığında metilen mavisi gastrik ve duodenal lezyonları indüklemekte ve nitrik oksit sentaz (NOS) ve kolinesteraz aktivitelerini inhibe etmektedir (93,94). Bu da modelin antikolinerjik etkileri ve proton pompası inhibitör aktivitesi olan antiülser ajanların değerlendirilmesinde kullanılabileceği anlamına gelir. Metilen mavisi gastrik mukozaya kan akışını azaltarak OS'e sebep olur ve devamında gastrik mukozada erozyon ve ülserasyona yol açar. Ülseri indüklemek için 24 saat aç bırakılan hayvanlara 125 mg/kg vücut ağırlığı dozunda metilen mavisi uygulaması yapılır ve devamında araştırılacak ilaç veya maddeler uygulandıktan 4 saat sonra hayvanlar sakrifiye edilir ve ülser indeksi belirlenir (77).

2.5.10. Dietilditiokarbamat (DDC) ile İndüklenen Gastrik Ülser

DDC modeli gastrik hasarın önlenmesinde ilaçların antioksidan aktivitelerini ve potansiyel ilaçların sitoprotektif etkilerini değerlendirmek için kullanılmaktadır (69). Bu modelin süperoksit ve hidroksil radikallerinin mobilizasyonu aracılığıyla antral lezyonları indüklediği rapor edilmiştir (95). 24 saat aç bırakılan hayvanlara 1ml salinde çözülen DDC'nin 800 mg/kg vücut ağırlığında dozunun subkutan uygulanması ve akabinde 1 ml 0,1 N HCl'nin oral dozu akut glandular lezyonları indükler (77).

2.5.11. İskemik Reperfüzyon (I-R) Gastrik Ülser Modeli

Gastrointestinal mukoza iskemiye çok duyarlıdır ve iskemi sonrası reperfüzyonu, serbest radikallerin oluşumuna bağlı olarak gastrik mukozada erozyona ve ülserasyona sebep olur (96). 24 saat aç bırakılan sıçanlara anesteziden sonra laparotomi uygulanır ve özofagus ile midenin pilor sonu bulldog klipleri kullanılarak klemplenir. Çölyak arter aortadan dallandığı yerin 0,5 cm distalinde bir noktadan 30 dakika boyunca klemplenir. Gastrointestin 20 dakika boyunca reperfüze edilir (97). Sıçanlar sakrifiye edildikten sonra ülser indeksi hesaplanır. Bu model preklinik çalışmalarda antiülser ilaçları değerlendirmek için kullanılabilir (70).

2.5.12. Sisteamin ile İndüklenen Duodenal Ülserler

Sıçanlarda sisteamin ile indüklenen duodenal ülserler peptik ülser hastalığı modeli olarak genellikle kullanılmaktadır. Bu kimyasal olarak indüklenen ülser lokasyon, histopatolojik ve patofizyolojik olarak insanlardaki duodenal ülserlere benzemektedir. Mekanizması tam olarak henüz aydınlatılamadıysa da genel olarak sisteaminin gastrik asit salgı sıklığını stimüle ettiği, gastrik mukozada gastrik asit ve pepsin salgısını arttırdığı ve proksimal duodenumda Brünner bezlerinden alkalin mukus salınımı inhibe ettiği ve böylelikle duodenal ülser oluşumuna yol açtığı bilinmektedir (71). Duodenal ülserlerin iki tipinden biri olan akut duodenal ülserler, deneysel olarak sıçanlarda tek dozda 400 mg/kg sisteamin- HCl uygulanarak elde edilir (98). Kronik duodenal ülser oluşturmak için sisteamin 4 saat aralıklarla iki doz şeklinde, 400 mg/kg dozda ve içecek suya sisteamin-HCl karıştırılarak uygulanır (71). 24 saat sonrasında hayvanlar sakrifiye edilir ve duodenumlarında ülser alanları ölçülebilir.

2.5.13. İndometasin + Histamin ile İndüklenen Duodenal Ülserler

Duodenal ülserleri indüklemek için kullanılan başka bir metot ise sıçanlara indometasin ve histamin uygulanmasıdır. Duodenal lezyonların gelişimi sıçanlarda gastrik asit salgısında artış ve duodenal HCO3- salgısında azalmaya bağlıdır. Bu yöntemde %100 oranında proksimal duodenumda bir ya da daha fazla lezyonların indüklendiği ve midenin korpus ve antrumunda da birkaç lezyona yol açtığı bildirilmiştir. Bu model duodenal ülserlerin patogenezini çalışmak ve antiduodenal ülser ilaçları ve ajanların görüntülenmesi için kullanışlıdır. 5 mg/kg indometasin subkutan olarak sıçanlara verildikten 30 dk sonra histamin dihidroklorid subkutan olarak 40 mg/kg dozda üç kez 2,5 saatlik aralıklarla uygulanarak model oluşturulur. İşlemlerden sonra çıkarılan duodenumlarda ülser alanı ölçülür (72).

2.5.14. Ferröz Demir + Askorbik Asit ile İndüklenen Gastrik Ülser Modeli

Gastrik ülser modelinin bu çeşidi, askorbik asidi solüsyonuyla birlikte ferröz demirin gastrik duvara lokal enjeksiyonuyla indüklenir ve insandaki gastrik ülserlere benzer. Oksijen radikalleriyle kontrol edilen lipid peroksidasyonu, demir + askorbik

asit solüsyonuyla indüklenen gastrik ülserasyonun patogenezinde önemli bir rol oynar (73).

2.5.15. Asetik Asit + *H. Pylori* ile İndüklenen Ülser Modeli

Anestezi altında laparotomi uygulanan sıçanlarda orta hat epigastrik insizyonu ile mide açığa alınır ve %20 asetik asit enjektörle glandüler kısmın subserozal tabakasına enjekte edilerek ülser oluşturulur. Abdominal insizyon kapatıldıktan sonra hayvanlara yeterli diyet verilir ve *H. pylori* ilaçları veya ajanları uygulanarak hayvanlar incelenebilir. Asetik asit ile ülser indüksiyonundan 24 saat sonra orogastrik gavaj için uygun bir kanül kullanılarak *H.pylori*'nin belirli bir patojenik suşu intragastrik olarak verilebilir. Uygulama 7 gün boyunca günde iki kere yapılabilir ve sonraki 14 gün boyunca asetik asit ile ülser indüksiyonundan sonra üçüncü günden başlanarak günde iki kere test ilaçları/ajanları, kontrol ve standart ilaçlar verilebilir. Tedaviden sonra hayvanlar sakrifiye edilip mideler çıkartılarak ülser incelenebilir (99).

2.6. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ

Oksidatif stres (OS) temel bilimlerde ve klinik araştırmalarda giderek artan derecede ilgi çeken bir alan olmaya devam etmektedir. OS kavramsal olarak oksidanların üretimi ve temizlenmesi arasındaki dengesizlik olarak tanımlanmaktadır. Aerobik metabolizmanın kaçınılmaz bir sonucu, ROS üretimidir (100). Metabolik bir durum olan OS'de ROS fizyolojik seviyelerin üzerine çıkmakta ve bu artış fizyolojik mekanizmalarla dengelenememektedir (Şekil 2.X).



Şekil 2. 5. Oksidatif hasarın ortaya çıkış mekanizmaları (100)

Serbest radikal, bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron içeren ve bağımsız var olabilen (dolayısıyla serbest adı verilen) tür anlamındadır. Radikaller çeşitli mekanizmalarla oluşabilirler. Başlıca üç yolla meydana geldiği bilinmektedir;

- Kovalent bağlı normal bir molekülün her bir parçasında ortak elektronlardan birisinin kalarak homolitik bölünmesi; X : Y → X• + Y•
- Molekülün bir elektronun kaybına uğraması; A - e- → A.+ e
- Moleküle tek bir elektronun eklenmesi; A + e- → A•-

Yaşayan sistemlerde çok çeşitli ve sayıda serbest radikal bulunur. Merkezi atomlarına göre dört ana kategoriye ayrılırlar: spesifik ROS, reaktif nitrojen türleri (RNT), reaktif sülfür türleri ve reaktif klor türleri (101, 102). Bunlar sırasıyla oksijen, nitrojen, sülfür ve klordan kaynaklanır fakat biz oksijen radikalleri üzerine odaklanacağız. ROS kısmi kimyasal redüksiyonlarla moleküler O_2 üretilen reaktif türlerin ana kategorisidir.

Eşleşmemiş elektron içeren atom, atom grubu veya moleküller serbest radikal olarak tanımlanır. Kararlı hale geçebilmek için elektron eşleştirmesi gerekmektedir. Serbest radikaller oldukça aktif moleküllerdir. ROS, genellikle O_2 elektronlarının mitokondri ve plazma membranlarının elektron transport aktivitelerinden kaçınılmaz şekilde sızmasıyla veya farklı hücresel bölümlerde bulunan çeşitli metabolik yolakların yan ürünü olarak meydana getirilir (100).

Serbest radikaller, dengeli bir şekilde normal bir metabolizmada devamlı üretilmektedir. OS, hücresel metabolizma sırasında oluşan hidroksil radikali, süperoksit radikali ve hidrojen peroksit gibi ROS artışı ile onları detoksifiye eden antioksidanların yetersizliği sonucu oksidatif dengenin bozulması olarak tanımlanır.

Tüm oksijen radikalleri ROS'dur fakat tüm ROS'lar oksijen radikalleri değildir (102). Başlıca ROS türleri:

- **Oksijen radikalleri**
    - Süperoksit radikali ($O2^{\cdot -}$)
    - Hidroksil radikali (OH•)
    - Peroksil radikali (RO2 •)
    - Alkoksil radikali (RO•)
    - Hidroperoksil radikali (HO2 •)
    - $CO_2^{\cdot -}$
    - Tekli $O_2{}^1\Sigma g^+$ (127)
- **Radikal olmayanlar**
    - H_2O_2
    - Hipobromous asit, HOBra
    - Hipoklorous asit, HOClb
    - Ozon, O_{3c}
    - Tekli oksijen (O21Δg)
    - Organik peroksitler, ROOH
    - Peroksinitrit, $ONOO^{-d}$
    - Peroksinitrat, $O2NOO^{-d}$
    - Peroksinitröz asit, $ONOOH^d$
    - Peroksomonokarbonat, $HOOCO^{2-}$ (128)

ROS düşük dozda bakterisidal etkiyle hücre sinyal iletiminde rol oynamaktadır. Ayrıca yara iyileşmesinde granülasyon ve vaskularizasyon fazlarında hücre uyarılmasını kolaylaştırdığı da gösterilmiştir (103).

Serbest radikaller membran lipitlerinin, hücre içi proteinlerin ve nükleik asitlerin yapı ve fonksiyonları üzerinde değişikliklere yol açar ve bunların hücresel hasar meydana getirdiği iyi bilinmektedir. Mitokondri iç membranı, oksidatif fosforilizasyonu gerçekleştiği için ROS'un en fazla üretildiği yerdir, bu sebeple burada görülen hasar hücresel düzeye göre daha fazladır (100). Oksidatif reaksiyonlar akışkanlık, iyon transportu, enzim aktivitesinin kaybı, protein çapraz bağlanması, protein sentezinin inhibisyonu, DNA hasarı gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirebilir ve sonunda hücre ölümüne yol açabilir (100). ROS oluşumunun artışı malignitelerin gelişmesine de yol açabilir ve normal sıklıkta ROS üretimi yaşlılıkta kanser gelişim riskinin artmasından sorumlu olabilir (104). OS yaşlılıkta ve yaşlanan insan derisinde de görülür. OS'nin tüm hücrelerin yaşlanma süreçleriyle ilişkili olmasının yanı sıra hücresel metabolizmada ana bir rol oynadığı artık neredeyse evrensel olarak kabul edilmiştir (105).

Embriyo kültürleri ve in vivo çalışmalar hayvan modellerinde ROS'un, yapısal doğum defektleri, geleneksel teratogenez ve nörogelişimsel eksiklikler gibi gelişimsel problemlere ve postnatal yaşamda kansere yol açtığını göstermiştir (106). OS yaşlanma, kanser, kalp hastalıkları, peptik ülserler, diyabet ve diyabetin komplikasyonları başta olmak üzere pek çok patolojik tablonun patogenezi ile yakın ilişkidedir.

Normal fizyolojik koşullarda ROS ve antioksidanlar arasında bir denge vardır. OS sadece antioksidan savunma sisteminin artan ROS üretimini nötralize edemediğinde meydana gelir (102). Antioksidanlar fonksiyonlarına göre iki kategoride sınıflandırılabilirler (107). İlk kategori süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz gibi enzimatik antioksidanları içeren koruyucu antioksidanları, DNA tamir enzimlerini ve albümin gibi bazı metal iyon şelatörlerini içerir. İkinci kategoride askorbik asit (C vitamin), karotenoid (retinol-vitamin A içeren), ürik asit, α-tokoferol (E vitamini), redükte

glutatyon ve polifenoller (flavenoidler) gibi temizleyici antioksidanlar veya zincir kırıcı antioksidanlar yer alır (108).

2.6.1. GASTRİK ÜLSERDE ROS

Çeşitli faktörlere bağlı gastrik hiperasidite ve mide mukozasının ülserasyonu dünya çapında ciddi sağlık problemlerine yol açar. Parietal hücrelerden asit salgılanma mekanizması iyi anlaşılmasına rağmen gastrik ülserasyona dahil olan süreçler henüz net değildir. Bu süreçte özellikle hidroksil radikalleri gibi ROS'ların üretimi, NSAİİ'lerin kullanımı ve *H.pylori* gibi patojenik bakterilere karşı mikrobiyal direncin bozulması yer almaktadır (109).

Gastrik mukozal bariyer ve gastrik kan akışı, mide bütünlüğünü gastrik sıvıya ve besinsel tahriş edici ajanlara karşı korur (110). İndirgenmiş glutatyon (GSH) düzeyleri gastrointestinal yolun diğer kısımlarına kıyasla gastrik mukozada yüksektir ve gastrik aside karşı ek koruma sağlar (111). Gastrik kan akışı vasküler endotelde, epitelyal hücrelerde ve duysal sinir sonlanmalarında NOS ile üretilebilen NO ile düzenlenir (112). Besinsel nitrat asidik gastrik pH ile karşılaştığında nitröz aside (HNO_2) hızlıca protonlanır ve NO ve diğer nitrojen oksitleri üretmek üzere ayrışır (113). Dolayısıyla NOS ile in vivo NO üretilen klasik yolağa ek olarak midede nitrit indirgenmesi aracılığıyla yüksek düzeylerde NO üretilebilir (114). NOS'dan bağımsız NO üretimi gastrik mukozanın biyolojisinde önemli bir rol oynar çünkü NO kaynaklı nitrit gastrik mukozal kan akışını ve mukus kalınlığını arttırır ve peptik ülsere karşı koruma sağlar ve proteolitik aktivitenin azalmasına yol açan pepsinojen ve pepsinin nitrasyonunu tetikler (115). NO gastrik boşalmayı kontrol eden düz kas gevşemesini de indükleyebilir (114). Ayrıca gastrik NO ve nitritten kaynaklanan diğer nitrojen oksitler, *H. pylori, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella, Yersinia* ve *Shigella* türleri gibi patojen bakterilere karşı olası mikrobisidal aktiviteyle host savunmasına yardım eder (116). Ek olarak gastrik patofizyolojide lipid nitrasyonunun anti-inflamatuar bir rolü olduğu öne sürülmüştür (113).

H.pylori'nin inflamasyon ile ilişkili olarak $O_2^{-\cdot}$ ve H_2O_2 üretimini stimüle ettiği bilinmektedir (117). *H.pylori* enfeksiyonuyla başlatılan inflamatuar sürecin bir sonucu olarak gastrik mukozaya infiltre olan nötrofiller aslında $O_2^{-\cdot}$ ve H_2O_2

üretiminin en önemli kaynağı olabilir (118). Nötrofil MPO aktivitesi ile katalize edilen H_2O_2 ile klorun oksidasyonu, OCL- oluşumuna yol açabilir ve bu da monokloramin üreten bakteriyal üreaz tarafından üretilen amonyum ile reaksiyona girebilir. Monokloramin gastrik hücrelerin intrasellüler bileşenlerinin oksidasyonuna sebep olan biyolojik membranlarıyla çapraz bağlar kuran lipofilik okside edici bir bileşiktir (119).

H.pylori non-fagositik hücrelerde NADPH oksidaz aracılığıyla ROS üretimini de tetikleyebilir. Dolayısıyla H.pylori gastrik mukozal hücrelerde $O_2^{-\cdot}$ üretimini tetikler (120). *H.pylori* enfeksiyonu sırasında OS, çoklu redoks sinyal yolakları aracılığıyla inflamatuar cevaba katkıda bulunur. Aslında ROS gastrik mukozada inflamatuar cevabı destekleyen gastrik epitelyal hücrelerde IL-8 transkripsiyonunu güçlendirir ve NF-κB ve aktivatör protein 1 (AP-1) aktivasyonunu indükler (121). Ancak ROS üretimi *H.pylori* enfesiyonu sırasında gastrik mikrobisid olarak koruyucu bir rol de oynar (122). *H.pylori* enfesiyonu katalaz, GPx gibi bazı antioksidan enzimlerin aktivitelerini arttırabilmesine rağmen glutatyon azalması ve mukoza peroksidazın oksidatif inaktivasyonu lipid peroksidasyonun artmasına ve peptik ülser hastalığını kötüleştiren membran hasarına yol açar (123).

İntrasellüler antioksidan savunma inflamatuar cevabı engellemelidir fakat *H.pylori* enfeksiyonuyla hasar görebilir. *H.pylori* γ-glutamil transpeptidaz (GGT) gastrik epitelyal hücrelerde apoptozu indükleyebilen ve inflamatuar cevabı güçlendirebilen virülans bir faktördür. Bakteriyal GGT, bakteriyal metabolizma amino asidi için gastrik ekstrasellüler glutamini ve GSH'ı kullanır. Bu da gastrik glutamin ve GSH azalmasına sebep olarak DNA hasarına yol açar ve IL-8 salınımıyla NF-κB aktivasyonunu güçlendirir (124).

Gastrik homeostaz gastrik epitelyal hücrelerin proliferasyonu ve hücre ölümü arasındaki dengeye bağlıdır. Bu denge *H.pylori* enfeksiyonuyla tetiklenen hasar ile kronik OS'e bağlı olarak bozulabilir. *H.pylori* enfeksiyonuyla ilişkili OS, insan gastrik epitelyal hücrelerinde mitokondriyal yolak aracılığıyla hücre apoptozunu indükler (125). Ancak gastrik mukozada durum daha karmaşıktır çünkü adaptif anti-apoptotik mekanizma tetiklenebilir. ROS'un tersine nitrojen serbest radikalleri, *H.pylori* enfeksiyonuna karşı gastrik mukozada koruyucu bir rol oynayabilir (111).

H.pylori enfeksiyonu gastrik mukozada indüklenebilir NOS (iNOS) ve COX-2 ekspresyonunu arttırarak NF-κB aktivasyonu aracılığıyla NO üretimini tetikler ve gastrik epitelyal hücrelerde apoptozu azaltır (126). Ancak *H.pylori* aynı zamanda antimikrobiyal NO tarafından kontrol edilen immün cevaba karşı koruyucu bir strateji olarak NO üretimi için iNOS substratı olan arjinini parçalayan arjinazı ekspres eder (127). Gastrik NO, *H.pylori* enfeksiyonu sırasında üretilen $O_2^{-\cdot}$ ile reaksiyon verebilir ve gastrik mukozada *H.pylori* sağkalımını etkileyebilen peroksinitrit üretir (128). Ancak *H.pylori* nin üreaz aktivitesi, NH_3 ve CO_2 üreterek peroksinitritin okside etme yeteneğini azaltan NO_2 üretmek üzere CO_2 ile peroksinitritin reaksiyonunu hızlandırır (129).

NSAİİ'ler ile indüklenen ülserasyonun patogenezine prostaglandin bağımlı ve bağımsız mekanizmalar dahildir (130). Gastrik mukozanın bütünlüğü, COX tarafından prostaglandinlerin sentezine bağlıdır. PGE2 ve PGI2 gibi prostaglandinlerin sürekli üretimi, hasar verici faktörlere karşı gastrik mukozal bütünlüğün korunması için önemli bir faktördür. Prostaglandinler asit salınımı azaltır; mukus, bikarbonat ve fosfolipid üretimini stimüle eder, mukozal kan akışını arttırır ve inflamatuar cevabı inhibe eder (131).

Prostaglandinden bağımsız NSAİİ'ler tarafından indüklenen ülserasyona ilişkin en önemli patojenik faktörler inflamatuar cevap ve fazla ROS üretimidir. NSAİİ'lerin fazla kullanımı gastrik mukozaya nötrofil infiltrasyonunu destekleyerek nötrofil kaynaklı faktörlerin salınıma yol açar (12). TNF-α düzeylerinin artması ana başlatıcı olaydır ve gastrik ülserasyonu indükler (132). NSAİİ tüketimine bağlı OS, mitokondriyal yolak üzerinden hücre apoptozuna yol açar. Son olarak *H.pylori* ile indüklenen ülser ile ilişkili OS, infiltre lökositler tarafından üretilen başlıca NADPH oksidaz ve MPO ile ve belirli bakteriyal suşlar tarafından salınan sitotoksinler ile kontrol edilirken, NSAİİ'ler tarafından indüklenen ülserde TNF-α ve infiltre nötrofiller ilgili OS'den sorumlu olabilir (133).

2.7. İNFLAMASYON MARKERLARI

İnflamasyon hasara karşı vaskülarize dokunun dinamik ve koruyucu bir yanıtıdır. Hasar bölgesine koruma ve iyileştirme mekanizmalarını getirir. Parankim

hücre rejenerasyonu ve skar dokusu gelişimi ile karakterize tamir süreçleri ile yakından ilişkilidir (134).

İnflamasyonun hücresel ve vasküler yanıtları, kimyasal sinyallarle (medyatörlerle) ortaya çıkmaktadır. İlk keşfedilen histamin olmakla birlikte, sayıları giderek artmaktadır. Hücre ya da plazma kaynaklı olabilen bu kimyasal medyatörler inflamatuar yanıtın oluşmasını sağlarlar (135). İnflamasyon ve tamir, vücudun içiçe geçmiş savunma mekanizmalarıdır. Hedefleri etkeni yok etme, ortamdan uzaklaştırma, inflamasyonu sınırlandırarak hasar gören dokuyu tamir etmektir. Bununla birlikte aşırı duyarlılık reaksiyonları sebebiyle artmış reaktif inflamatuar yanıt, inflamasyonun bir komplikasyonu olarak organ fonksiyonlarında bozulma veya yetmezliğe, hatta ani ölüme sebep verebilir (134,135).

Plazma kaynaklı medyatörler (kompleman proteinleri, kinin) prekürsör halinde bulunur ve bir seri proteolitik parçalanma sonucu aktive olur. Hücre kaynaklı olanlar ise normalde hücre içi granüllerde depolanmış hazır haldedir (mast hücresinde histamin gibi) ve hücre aktivasyonunda hızla salınır veya uyarıdan sonra de nova sentezlenir (prostoglandin ve sitokin gibi) (134,135).

Medyatörlerin çoğu hedef hücredeki spesifik reseptörlerine bağlanarak biyolojik aktivitelerini gösterir ve hücreden salgılandığında çok kısa ömürlüdür. Bir ya da birkaç hücreyi etkileyebilir veya etkiledikleri hücre tipine göre farklılaşan sonuçlarla yaygın etkilere sahip olabilir. Hedef hücreleri sekonder etkili molekülleri salmak için uyarabilirler. Farklı medyatörler benzer etkiyle özel bir cevabı kuvvetlendirebilir veya zıt etki göstererek cevabı kontrol edebilir. Çoğunun etkisi sıkı bir şekilde düzenlenir (136-138).

Spesifik kimyasal medyatörler aşağıda sınıflandırılmıştır (134,135):

1- Vazoaktif aminler: Histamin, serotonin (Mast hücresi ve diğer hücrelerde hazır molekül olarak depolanır ve akut iltihabi reaksiyonlarda salınan ilk medyatörlerdir)
2- Plazma proteazları:
   a) Kininler: Bradikinin, kallikrein (bradikinin, kininaz enzimi ile inaktif olur)

b) Kompleman sistemi: C3a, C5a, C5b-9 (kompleman inhibitör proteinleri ile inhibe edilirler)

c) Koagülasyon-fibrinolitik sistem: fibrinopeptidler ve fibrin yıkım ürünleri

3- Araşidonik asid metabolitleri: İltihabın hemen her basamağında etkilidir. Kısa süreli hormonlardır. Bir defa aktive olup hücreden salınınca spontan olarak veya enzimle parçalanarak hızla tükenirler.

3-1- COX yolu (prostaglandinler, tromboksanlar, endoperoksitler),

3-2- Lipoksigenaz yolu [lökotrienler, hidroperoksieikozatetraenoik asid (HPETE), hidroksieikozatetraenoik asid (HETE)]

4- Lökosit ürünleri: Lizozomal proteazlar, serbest oksijen radikalleridir. Direkt enzimatik ve toksik etkileri ile bazen zararlı etki gösterebilirler.

5- Trombosit Aktive Eden Faktör (TAF): Antijenle uyarılmış nötrofil, bazofil, monosit ve çeşitli endotel hücrelerinden açığa çıkar. Trombositlerin toplanmasına ve içeriklerinin salınmasına neden olur.

6- Sitokinler: Etkilerini otokrin, parakrin ya da endokrin etki ile gösterirler. Bilinen sitokinler 4 grupta incelenir.

   a. Doğal immünite sitokinleri: IL-1, TNF-α, interferon gamma (IFN-γ), IL-8
   b. Lenfosit gelişim, aktivasyon ve düzenlenmesini sağlayan faktörler: IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, transforme edici büyüme faktörü beta (TGF-β)
   c. İltihabi hücreleri aktive eden sitokinler: IFN-γ, TNF-α, TNF-β
   d. Hematopoezi aktive eden sitokinler: Koloni stimüler edici faktörler (CSFler), Granulosit Koloni Stimule edici Faktör (G-CSF), Granulosit/Makrofaj Koloni Stimule edici Faktör (GM-CSF)

7- Büyüme faktörleri [EGF, fibroblast büyüme faktörü (FGF), trombosit kökenli büyüme faktörü (TKBF), TGF gibi]

8- Diğer medyatörler (NO, P maddesi, kalpainler, Hem Oksijenaz 1 (HO-1))

2.8. BÜYÜME FAKTÖRLERİ

Etkilerini hücre membranındaki reseptörlere bağlanarak gösteren büyüme faktörleri makrofajlardan salgılanırlar. İnflamasyon sırasında aktif makrofajın

lizozomal enzim düzeyleri ve hücre hacmi artmıştır ve daha fazla fagosite edebilme yeteneğine sahiptir. Kronik inflamasyonda görülen fibrozisi oluşturan çeşitli biyolojik aktif ürünleri salgılar. Büyüme faktörleri, çeşitli hücre tiplerinin proliferasyonunu etkileyen medyatörlerdir (138).

Epidermal Büyüme Faktörü (EGF) çeşitli epitel hücreleri ve fibroblastlar üzerinde mitojenik etkilere sahiptir. Hücrelerin bölünmesi, farklılaşması, yaşaması, çoğalması, büyümesi ve göçü üzerinde önemli etkilere sahiptir. Antienflamatuar, antiapoptotik, nörotrofik ve nöroprotektif etkileri mevcuttur. Preimplantasyonda, embriyo gelişiminde, diş oluşumunda, kemik oluşumunda ve göz kapağı açılmasında rol almaktadır. Fibroblast çoğalmasını uyararak, granülasyon dokusu oluşumunu hızlandırarak, epitelizasyonu artırarak ve yeni damar oluşumunu uyararak yara iyileşmesini hızlandırır. Yara tedavisinde kullanım alanı bulmaktadır (137).

Trombosit kökenli büyüme faktörü (TKBF) ise daha çok aktive trombosit granüllerinden salgılanır. Bağ dokunun başlıca mitojenidir. Etkili olduğu hücreler; arteriyel düz kas hücreleri, fibroblastlar, glia hücreleri, arteriyel ve kapiller endodel hücreleri, bazı lökositlerdir. Yara iyileşmesi, plasenta gelişimi, embriyogenez, santral sinir sisteminin gelişimi, glikogenez, erişkin döneme gelinceye kadar damar sisteminin gelişimi gibi temel biyolojik olayların yanı sıra inflamasyon reaksiyonları, ateroskleroz, keloid oluşumu, akciğer ve kemik iliği fibrozisi, karaciğer sirozunda görülen fibrozis, nakledilen organın reddi, skleroderma ve romatoid artritdeki bağ doku artışlarında, ayrıca tümör gelişiminde önemli bir role sahiptir (137,138).

Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF) anjiogenezde mutlak gerekli bir faktördür. Yara iyileşmesinde hasar görmüş dokuda makrofaj, fibroblast ve endotelyal hücre göçünde görev alır. Akciğer matürasyonunda, iskelet kaslarının gelişmesinde rol oynar. Hematopoeziste kemik iliği stroması gelişimi ve kan hücrelerinin spesifik akışında rol oynar (137,138).

Transforme Edici Büyüme Faktörlerinden (TGF) TGF-α, EGF'nin homoloğudur ve EGF reseptörlerine bağlanarak aynı etkileri gösterir. TGF-β ise birçok epitel hücre tipi için büyümeyi inhibe edici etki gösterir (137,138).

2.9. PROSTAGLANDİNLER

Mekanik, fiziksel ve kimyasal uyarılar veya C5a gibi diğer iltihabi medyatörlerle hücresel fosfolipaz aktivasyonuna bağlı hücre membranından araşidonik ait metabolitleri salgılanır. Reaksiyonu başlatan enzimin adıyla (COX ve lipoksijenaz yolu) iki ayrı yolla araşidonik asit metabolizması oluşur. COX yolunun ürünleri prostaglandin E2 (PGE2), prostaglandin D2 (PGD2), prostaglandin F2α (PGF2α), PGI2 (prostasiklin) ve trombaksan A2 (TXA2) spesifik enzim etkisi ile meydana gelir (133-135). COX yolunun COX-1 ve COX-2 isimli iki enzimi vardır. COX-1 mide mukozasında bulunur ve bununla üretilen prostaglandinler aside bağlı hasara karşı koruyucudur. Bu nedenle aspirin ve diğer NSAİ ilaçlar ile COX inhibisyonu gastrik ülsere zemin hazırlar. COX inhibisyonun anti-inflamatuar etkilerinden korunmak için oldukça selektif COX-2 inhibitörleri kullanılabilmektedir. Bu enzimlerin bazılarının doku dağılımı sınırlıdır. TXA2 güçlü bir trombosit agreganı ve vazokonstriktör olup trombositlerden salınır. Endotel hücreleri PGI2 yapımından sorumlu prostasiklin sentetaz içerir. PGI2 vazodilatatör ve güçlü trombosit agragasyon inhibitörüdür. TXA2 ve PGI2 hemostazda zıt rollere sahiptir (133).

PGD2 mast hücrelerinde COX yolunun başlıca metabolitidir.

PGE2 ve PGF2α (daha yaygın dağılır) vazodilatasyon yapar ve ödemi şiddetlendirir.

Prostaglandinler iltihapta ağrı ve ateş patogenezinde rol oynar. PGE2 diğer uyaranlara bağlı ağrıyı şiddetlendirir ve ateşe yol açan sitokinlerle etkileşir (133).

2.10. RUSKOGENİN

Ruskogenin; Ruscaceae ailesinden olan ve Akdeniz bölgesinde yaygın bulunan, kökleri ve rizomları kullanılan, yaprak dökmeyen kısa bir çalıdan elde edilir (139). Ruskogenin ilk defa *Ruscus Aculeatus* olarak geleneksel Çin tıbbında bir Çin otu olan Radix Ophiopogon Japaonicus kökünden izole edilmiştir ve dört bin yıldan fazla süredir kronik inflamasyon ve kalp damar hastalıklarında kullanılmaktadır (14,140).

Ruskogeninin önemli anti-inflamatuar ve anti-trombotik aktiviteler gösterdiği bildirilmiştir (14, 140, 141). Bir anti-elastaz gibi davranıp kapiller permeabiliteyi azaltır ve Avrupa'da 40 yıldan uzun süredir kronik venöz yetmezliği ve vasküliti tedavi etmek için yaygın olarak kullanılır (14). İlgili farmakolojik çalışmalar, ruskogeninin etanol ekstresinin anti-ülser, anti-aritmik, anti-iskemik, anti-trombotik etkilerini (karaciğer hasarının gelişimine ve inflamasyonun inhibisyonuna neden olan) doğrulamıştır (14). Ayrıca ödem tedavisi, premenstrual sendrom, hemoroid, ortostatik hipotansiyon ve diyabetik retinopati tedavisinde de etkinliği olduğu araştırmalarla ortaya konmuştur (142).

Daha önce yapılan çalışmalarda ruskogeninin potansiyel endotel koruyucu etkisinin ve anti-inflamatuar mekanizmasının, endotel hücrelerinde NF-kB sinyal yolağını inhibe ederek ve ICAM-1 üretimini baskılayarak ortaya çıktığı gösterilmiştir (14,143). En önemli endotelyal adhezyon moleküllerinden biri olan hücre içi adezyon molekülü ICAM-1 lökositlerin endotele migrasyonunda TNF-α da dahil olmak üzere bazı sitokinlerle beraber rol oynar. ICAM-1 inhibisyonu ya da bloklanması durumda lökositlerin endotel hücresine tutunma fonksiyonu ve migrasyonu azalır (144,145). Sonuçta ruskogenin ICAM-1 ekspresyonunu baskılayarak lökositlerin fonksiyonunu azaltır ve böylelikle inflamasyon cevabını inhibe edebilir.

İn vivo çalışmalarda histamin kaynaklı vasküler geçirgenliğin ruskogenin tarafından doza bağımlı olarak antagonize edildiği ortaya konmuştur. Topikal uygulamalarda doza bağımlı olarak arteriyel yapıları etkilemeden venüller üzerinde daralmaya yol açtığı da rapor edilmiştir (146).

Yapılan çalışmalarda ruskogenin ekstresinin venöz yapılarda orta dereceli kasılmalar meydana getirdiği ortaya konmuştur. Yine çalışmalarda bu ekstrenin doza bağımlı olarak bacak venöz yapısında noradrenalin birikimini azalttığı kaydedilmiştir. Oksijen yoğunluğu azaltılmış insan göbek bağında endotel hücrelerinin canlılığını arttırmıştır (147). Ancak ruskogeninin peptik ülserde etkileri konusunda henüz bilgi yoktur.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. ÇALIŞMA PLANI

Yaptığımız deneysel hayvan çalışması için Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bağcılar Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne ait Deneysel Araştırma ve Beceri Geliştirme Merkezi (BADABEM)'nden 22.08.2016 tarih ve 2016/103 sayılı yazı ile 2016-25 numaralı proje olarak deney hayvanları yerel etik kurul onayı alındı ve çalışma BADABEM'de gerçekleştirildi (EK-1). Deneysel hayvan çalışmamızda 24 adet dişi Sprague-Dawley cinsi sıçan kullanıldı.

Çalışmamızda kullanılan sıçanların ortalama yaşı 4-8 hafta, ağırlıkları ise ortalama 250±30 gram idi. Çalışmamızda kullanılan deney hayvanları laboratuar sorumlusu veteriner hekim tarafından günlük olarak gözlemlendi. Sıçanların Sprague Dawley ırkı olması, dişi olması, 4-8 haftalık olması, tamamen sağlıklı olması, daha öncesinde herhangi bir deneysel çalışmada kullanılmamış olması dahil etme kriterleri olarak esas alındı. Veteriner hekimin uygun görmemesi, sıçanın prosedür boyunca %20'den fazla kilo kaybetmesi, düzenli gıda ve su alamama, uyaranlara belirgin derecede azalmış yanıt verme kriterleri deneyden çıkarılma kriterleri olarak esas alındı. Çalışma boyunca Avrupa Konseyi tarafından önerilen standartlara (*European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes-ETS 123*) tamamen bağlı kalındı. Çalışmanın tasarımında pre-klinik hayvan çalışma ve araştırmaları ile ilgili standart prosedürlere sadık kalındı (148). 24 sıçan rastgele olarak 3 gruba ayrıldı. Çalışma süresince (cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası) sıçanlara limitsiz olacak şekilde şebeke musluk suyu ve standart pellet formdaki ticari yem verildi. Sıçanlar tüm prosedür boyunca 20°C sıcaklık ve %40 nemli ortamda 12 saat aydınlıkta ve 12 saat karanlıkta kalacak şekilde günlük olarak takip edildi. Sham grubundaki sıçanlar kontrol ve tedavi gruplarına uygulanan anestezi ve cerrahi teknikle ameliyat edildi. Ancak sıçanların batınları ülser oluşturulmadan kapatıldı ve bu sıçanlara 4 hafta süreyle günlük tek doz 2ml/kg/gün hacimde serum fizyolojik oral gavaj tüpü kullanılarak oral gavaj yöntemi ile verildi.

Kronik mide ülser modelindeki ülser oluşturma cerrahisi uygulanacak sıçanlar 8 saat önceden aç bırakıldı. Ülser oluşturulmadan önce midenin tamamen boşaltılması ve dışkı yenmesinin önlenmesi için operasyon öncesi 12 saat sıçanlar metabolik kafeste barındırıldı ve izlenildi. Kontrol ve tedavi gruplarındaki sıçanlar aynı cerrah tarafından ve aynı cerrahi prosedür basamakları izlenmek suretiyle mide ülseri oluşturma amacıyla ameliyat edildi.

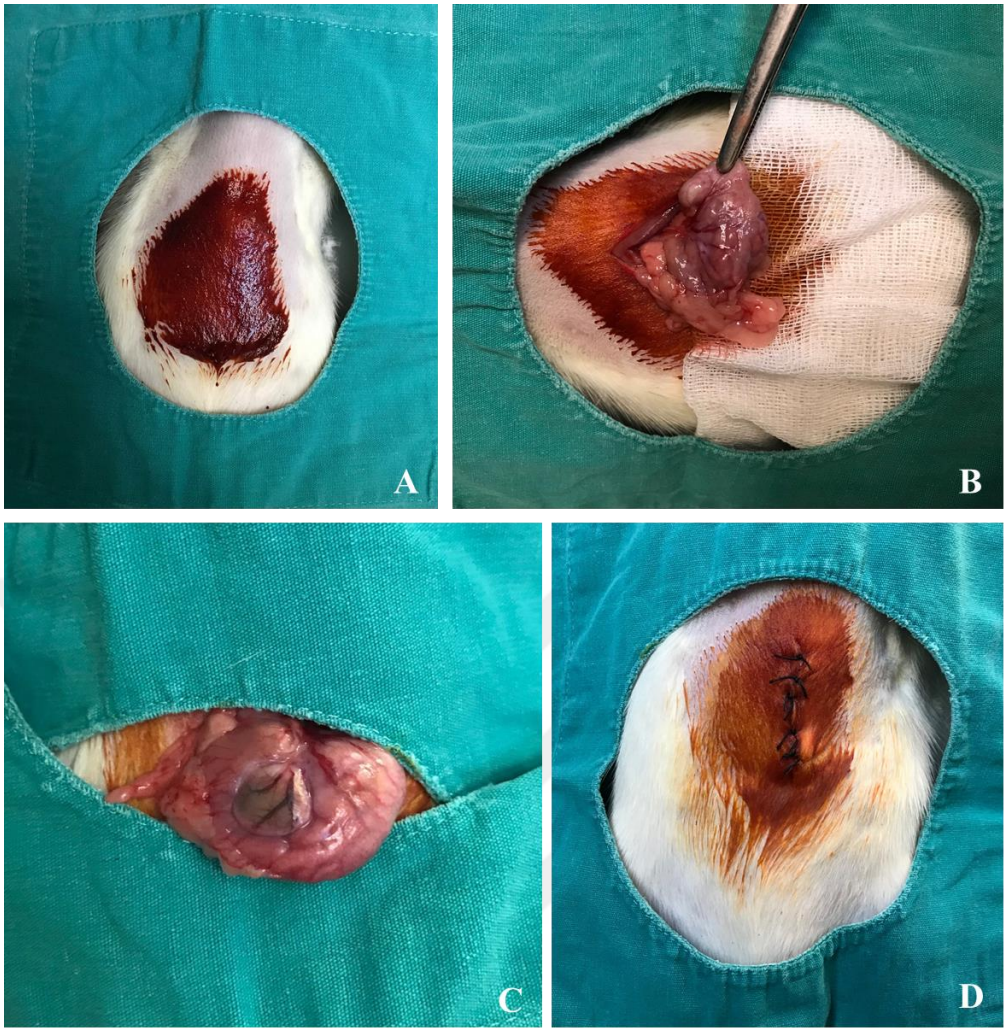
Sıçanların her biri, cerrahi müdahaleyi takip eden ilk 24 saat için ayrı kafeste tek başına bırakıldı. İnsizyon hattında yara takibi, pansuman kontrolleri ve ağrı hissiyatı ile ilgili kontrolleri yapıldı. Ameliyat sonrası sıçanlar oral beslenmeye başlandı ve günlük tek doz olmak üzere oral gavaj yöntemi ile 4 hafta süreyle kontrol grubundaki sıçanlara 2ml/kg/gün dozunda serum fizyolojik ve tedavi grubundaki sıçanlara ise 3 mg/kg/gün dozunda ruskogenin (H10000934, Abdi İbrahim İlaç Sanayi ve Tic. A.Ş., İstanbul) uygulandı. Toz halinde bulunan ruskogenin 3 mg/kg/gün dozu için 0,8 ml distile su ile sulandırıldı ve serum fizyolojik ile eş hacimde sıçanlara uygulandı. Post-operatif 1. günde kontrol grubunda 1, tedavi grubunda ise 3 sıçanın, olasılıkla anestezi komplikasyonlarına bağlı olarak öldüğü gözlendi. Takiplerimiz esnasında kalan hiçbir sıçanda deney prosedürü dışına çıkarılmayı gerektirecek kriterlere rastlanmadı. Hiçbir sıçanda yara yeri infeksiyonu, yapılan oral medikasyona bağlı kusma vb. yan etkiler izlenmedi. Tablo 3.1'de deneyde kullanılan sıçanların rastgele dağılım tablosu gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Deney sıçanları dağılım tablosu

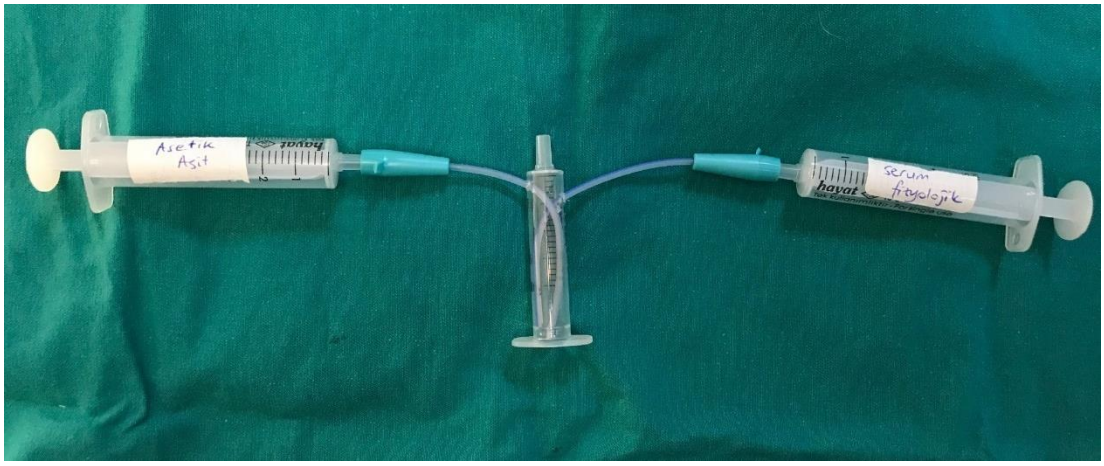
	Grup Adı	**Sıçan Sayısı**
Grup 1	Sham	8
Grup 2	Kontrol	7
Grup 3	Tedavi	5

3.2. CERRAHİ TEKNİK

Gerekli takip ve hazırlıkları yapılan sıçanlar teker teker ameliyathaneye alındı. Genel anestezi uygulandı. Genel anestezi yöntemi olarak kullanılan intraperitoneal 60mg/kg Ketamin HCl (Ketalar®, Pfizer, Türkiye) ve intraperitoneal 10mg/kg Ksilazin HCl (Rompun®, Bayer, Türkiye) anestezisi (10mg/kg ksilazin ve 60mg/kg ketamin) altında sıçanların karın ön duvarının tıraş edilmesini takiben orta hat kesisi yapıldı (Şekil 3.1.A). Ardından mide klemp ve pensetle ortaya çıkarıldı (Şekil 3.1.B). Mide ön duvarında korpus-antrum bölgesi serozası üzerine daha önceden hazırlanmış düzenek ile %80'lik asetik asit çevre dokulara temas etmeyecek şekilde yaklaşık 1 dakika maruz bırakıldı (Şekil 3.2). Takiben düzenekten asetik asit aspire edildikten sonra serum fizyolojik (SF) geçirilerek asite maruz bırakılan mide serozası yıkandı. Ardından mide anatomik yerine tekrar yerleştirildi. Sonrasında karın ön duvarı 3/0 ipek ile kapatıldı (Şekil 3.1.D). Sıçanların deney sonrası oral rejimleri kısıtlanmadı ve oral gavaj yöntemi ile gruplara uygun ajanlar verildi.



Şekil 3.1. Ülser oluşturma için mideye uygulanan cerrahi işlemler



Şekil 3.2. Ülser oluşturma işlemi için kullanılan enjeksiyon düzeneği

3.3. MAKROSKOPİK İNCELEME

4 haftalık deney süresi sonunda tüm sıçanlar genel anestezi altında intrakardiyak ponksiyon yöntemi uygulanarak sakrifiye edildi. Sakrifikasyon işleminden sonra sıçanların mideleri büyük kurvatur hizasından açılıp makroskopik ülser skorlama, ülser alanının milimetrekare olarak ölçülmesiyle yapıldı (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Midenin makroskopik ülser skorlaması

3.4. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME

Mide dokusuna zarar verilmeden doku örnekleri itina ile çıkarıldı ve ışık mikroskopik incelemeler için %10 nötral formalin solüsyonunda immersiyon fiksasyonu ile tespit edildi. Yükselen alkol serilerinden (%70, %90, %96, %100) geçirilerek dehidrate edilen dokular, toluen ile saydamlaştırıldı ve parafine gömüldü. Yaklaşık 5 µm kalınlığındaki kesitler, hematoksilen ve eozin (H&E) ile boyanarak daha önceki çalışmalarda belirtilen kriterlere göre histopatolojik olarak değerlendirildi (150). Yüzey epitelinde dökülme (0: Yok, 1: Az, 2: Orta, 3: Ciddi), kanama, fokal nekroz ve mukozal konjesyon (0-3), glandular hücre dejenerasyonu (0-3), inflamatuar hücre infiltrasyonu (0-3) histopatolojik kriterlerdi ve en yüksek

skor 9 olacak şekilde değerlendirildi. Doku örneklerinin mikroskopik skorlaması, deney grupları hakkında bilgisi olmayan histologlar tarafından yapıldı.

3.5. İMMUNOHİSTOKİMYASAL İNCELEME

Pozitif şarjlı lamlara alınan 4 μm kalınlığında parafin kesitler 1 gece boyunca 37°C'lik etüvde bekletildi. Deparafinizasyon işlemi için ksilende 3 kere 5 dakika, %96'lık alkolde 2 kere 10 dakika bekletildikten sonra endojen enzim blokajı yapmak için metanol ile hazırlanmış %3'lük hidrojen peroksitte 20 dakika bekletildi. Önce musluk suyu sonra distile suda yıkama işleminden sonra antijen geri kazanımı için ısıtılmış sitrat tamponda 20 dakika 200 W mikrodalgaya maruz bırakıldı. Oda ısısında 20 dakika soğumaya bırakılan kesitler PBS ile 2 kere 5 dakika yıkandıktan sonra bloklama solüsyonunda 10 dakika bekletildi. Kollajen I, kollajen III, kollajen IV antikorlarında (Anti-Collagen I antibody, orb322979; Anti-Collagen III antibody, orb10438; Anti-Collagen IV antibody, orb313870) 1 gece +4°C'de ve nemli ortamda bekletildi. Kesitler 3 kere 2'şer dakika PBS'te yıkandıktan sonra streptavidin peroksidazda (Invitrogen, kullanıma hazır) 10 dakika bekletildi. Tekrar 3 kez 5'er dakika PBS ile yıkandıktan sonra, DAB kromojeninde (ScyTek DAB Substrate Kit kat. no: ACH500) 5 dakika bekletilerek renk reaksiyonu mikroskopta gözlendi. Distile suda yıkanan kesitlere Mayer Hematoksilin ile zıt boyama yapıldı. Musluk suyu ve distile su ile yıkandı, ardından 2 kere 2'şer dakika %96'lık alkolde bekletilip, kurutulduktan sonra entellan ile kapatıldı.

3.6. BİYOKİMYASAL İNCELEME

Biyokimyasal analizler için alınan ve -80°C'de saklanan gastrik dokular derin dondurucudan çıkarıldı ve 100 μl 0,02 M EDTA içerisinde MICCRA D-1 homojenizatöründe (ART-moderne Labortechnik, Mülheim, Almanya) 20 000 devirde 8 dakika homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar 5 dk 5000xg'de santrifüj edilerek supernatları toplandı. Çift antikorlu sandwiç enzimine bağlı immunosorbent testi (ELISA) metodu içeren aşağıdaki kitlerin doku homojenat prosedürlerine uygun işlemler yapıldı.

- Sıçan EGF ELISA Kit (Katalog No: E-EL-R0369, Elabscience, Houston, Texas)
- Sıçan PGE2 ELISA Kit (Katalog No: 201-11-0505, Sunred Biological Technology Co., Ltd, Shanghai, Çin)
- Sıçan TNF-α ELISA Kit (Katalog No: E-EL-R0019, Elabscience, Houston, Texas)
- Sıçan IL-6 ELISA Kit (Katalog No: E-EL-R0015, Elabscience, Houston, Texas)
- Sıçan IL-8 ELISA Kit (Katalog No: 201-11-0138, Sunred Biological Technology Co., Ltd, Shanghai, Çin)
- Sıçan LPO ELISA Kit (Katalog No: E-EL-R2481, Elabscience, Houston, Texas)
- Sıçan MPO ELISA Kit (Katalog No: 201-11-0575, Sunred Biological Technology Co., Ltd, Shanghai, Çin)
- Sıçan GSH-Px ELISA Kit (Katalog No: 201-11-5104, Sunred Biological Technology Co., Ltd, Shanghai, Çin)
- Sıçan GSH ELISA Kit (Katalog No: 201-11-5134, Sunred Biological Technology Co., Ltd, Shanghai, Çin)

Doku örneklerinin homojenatları ve kitlerden çıkan tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi. 96 kuyucuklu ELISA plakasının kuyucuklarına standart ve örneklerden duplike şekilde 100µl eklendi. Blank kuyucuğuna sadece dilüent solüsyon eklendi. Plaka nazikçe karıştırıldı ve 37°C'de 90 dk inkübe edildi. Ardından sıvılar çekilerek atıldı ve yıkanmadan 100 µl biyotinlenmiş primer antikorlar, her kitin kendisine ait antikorları kendi plakasında olacak şekilde eklendi. Plaka kapağı kapatılarak hafifçe karıştırıldı. 37°C'de 1 saat inkübe edildi. Ardından sıvılar aspire edilerek atıldı ve 3 kere kitin yıkama bufferı ile yıkandı. Sonra her kuyucuğa 100 µl Avidin Horseradish Peroxidase konjugatı eklendi, plaka kapatılarak 37°C'de 30 dk inkübe edildi. 5 kere aynı buffer ile yıkandı ve her kuyucuğa 90 µl substrat solüsyonu eklenerek kapatıldı ve 37°C'de 15-30 dk ışıktan korunarak inkübe edildi. Mavi renk değişimi görüldüğünde reaksiyon 50 µl sülfirik asit içeren stop solüsyonu ile durduruldu ve rengin sarıya döndüğü görüldü. Bir mikro-plate okuyucu (BioTek^{TM} Synergy^{TM} HTX Multi-mode Microplate Reader, ABD) kullanılarak her

kuyucuğun optikal yoğunluk (OD) değerleri spektrofotometrik olarak 450 nm dalga boyunda ölçüldü. Her standart ve örnek kuyucuklarının duplike değerlerinin ortalamaları alındı ve standartların ortalama OD değerlerine göre bir standart eğri çizildi. Bu eğriye ve dilüsyonlara göre örneklerin konsantrasyonları hesaplanarak grupların ortalama değerleri bulundu.

3.7. ULTRASTRÜKTÜREL İNCELEME

Mideden alınan doku örnekleri 1 mm³ boyutunda parçalar haline getirildikten sonra %2,5'luk 0,1 M PBS tamponlu (pH 7,2) glutaraldehit fiksatifi içerisine konarak +4°C'de 12 saat fikse edildi. Dokular PBS'e alınıp daha sonrasında %2'lik osmiyum tetroksitle 1 saat postfiksasyonu yapıldı. Yükselen alkol serilerinden (%70, %90, %96,%100) geçirilerek dehidrate edildikten sonra propilen oksitten geçirilip son olarak epona gömüldü. Epona gömülen doku örnekleri polimerizasyon için 60°C'deki etüvde 1 gece boyunca bekletildi. Ultramikrotomda (Leica Ultracut R) alınan yaklaşık 1 μm kalınlığındaki yarı ince kesitler toluidin mavisi ile boyandı. Entegre dijital kameralı, bilgisayar donanımlı Olympus BX51 fotoışık mikroskop ile incelenen yarı ince kesitler resimlendirildi.

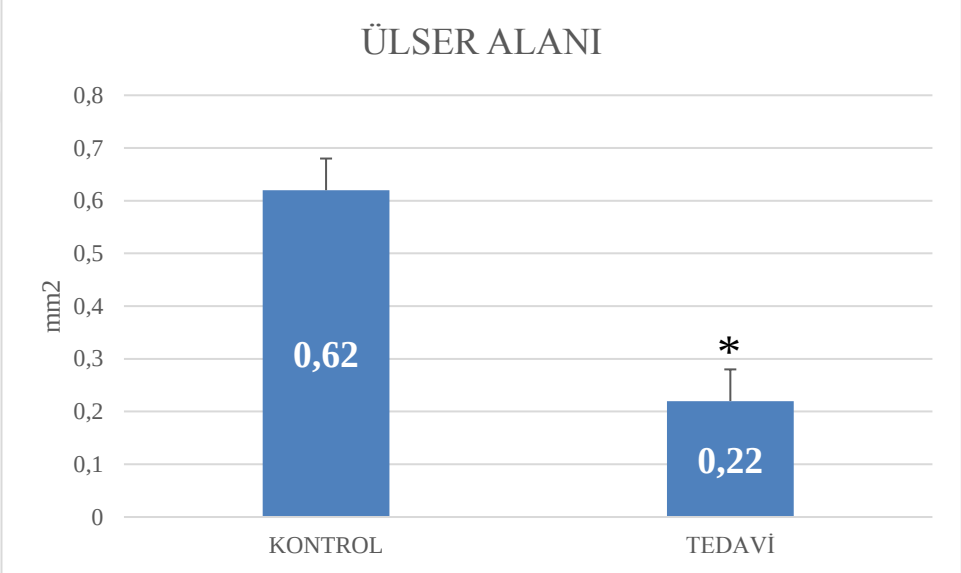
3.8. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM

Histopatolojik incelemeler, immunohistokimyasal incelemeler ve biyokimyasal analizlerin sonuçları ortalama ± standart hata ortalaması olarak kaydedildi. Bulguların istatistikleri GraphPad Instat ver. 3.06 (GraphPad Inc, CA, ABD) bilgisayar programı ile yapıldı. Non-parametrik veriler non-parametrik ANOVA testi ile ve gruplar arası farklılıklar Kruskal Wallis testi (with post test) ile karşılaştırıldı. $p<0,05$, $p<0,01$ ve $p<0,001$ değerleri farklı gruplar için istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. MAKROSKOPİK BULGULAR

Sıçanların mide dokularında ölçülen makroskopik skorlama değerleri grafiği Şekil 4.1'de verilmiştir. Sham grubunda ülser oluşturulmadığı için ölçüm yapılmamıştır. Kontrol grubundaki deney sıçanlarının mide ülser alanlarının ortalaması 0,62 ± 0,06 iken ruskogenin tedavisi uygulanan grupta ortalama 0,22 ± 0,06'a düşmüş ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (P<0,05).

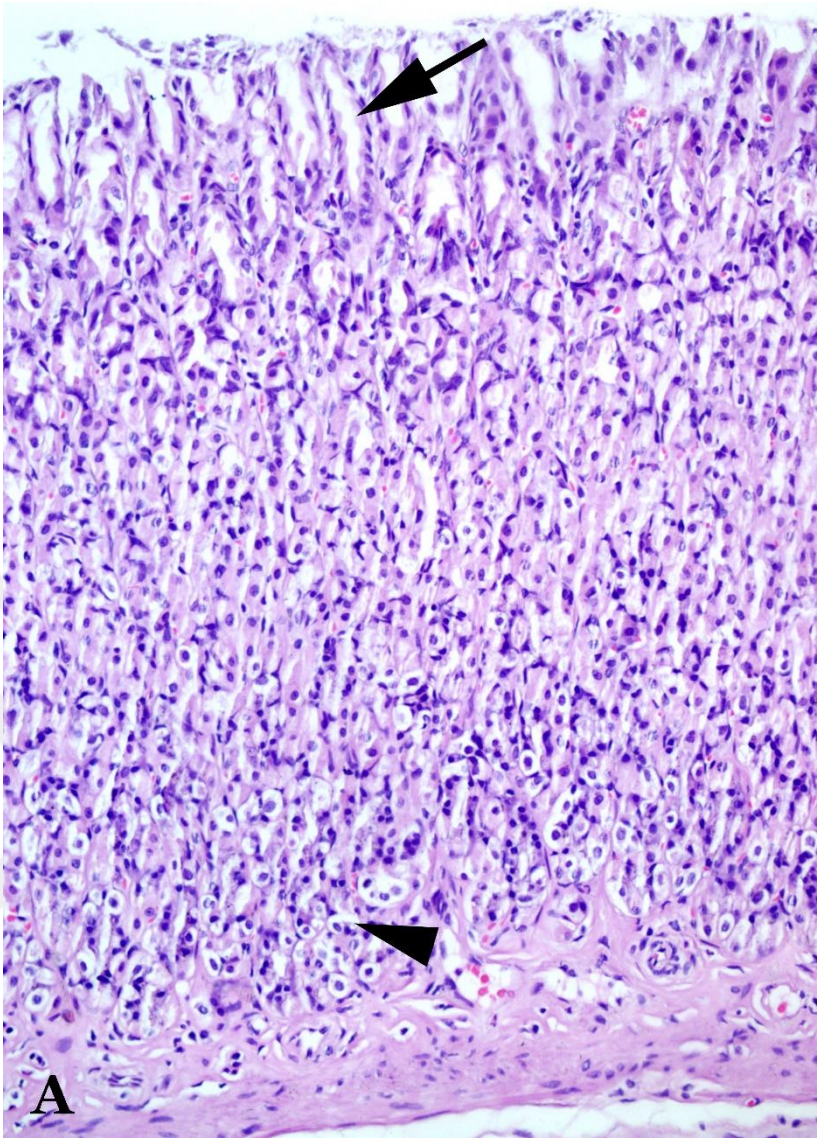


Şekil 4. 1. Makroskopik ülser skorlaması grafiği

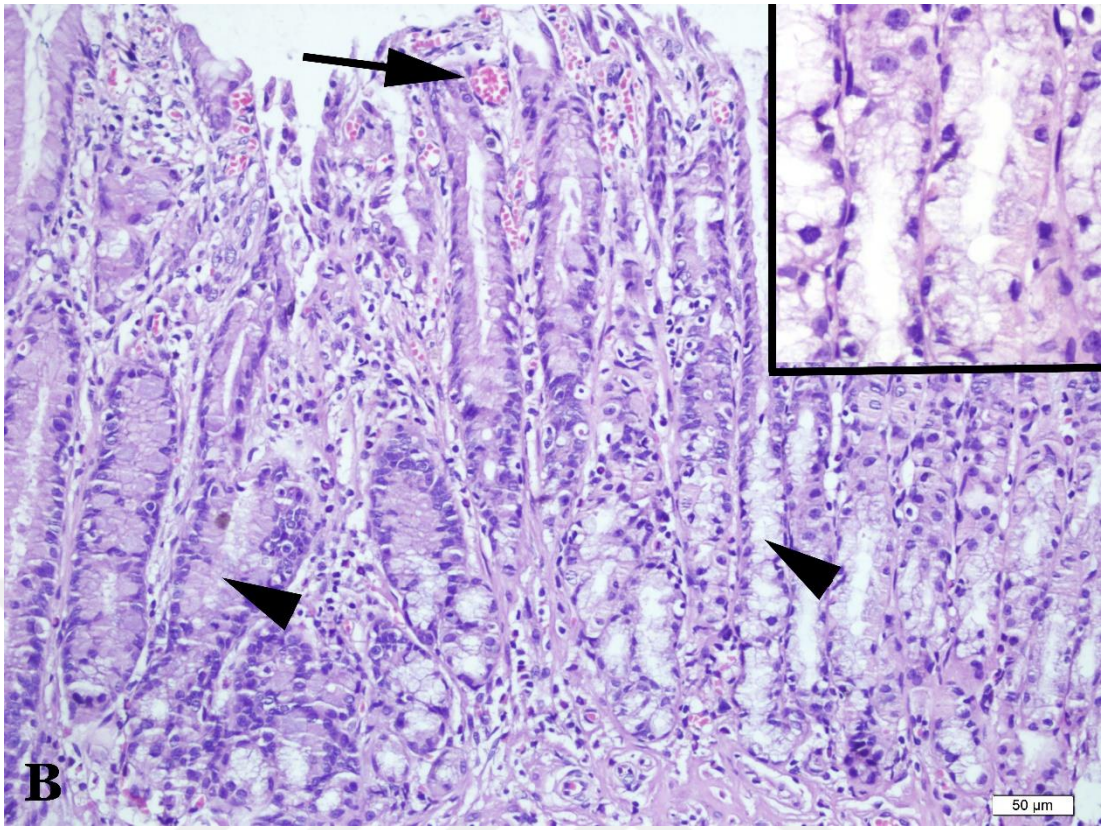
*P=0,012 Kontrol grubu ile tedavi grubu karşılaştırıldı.

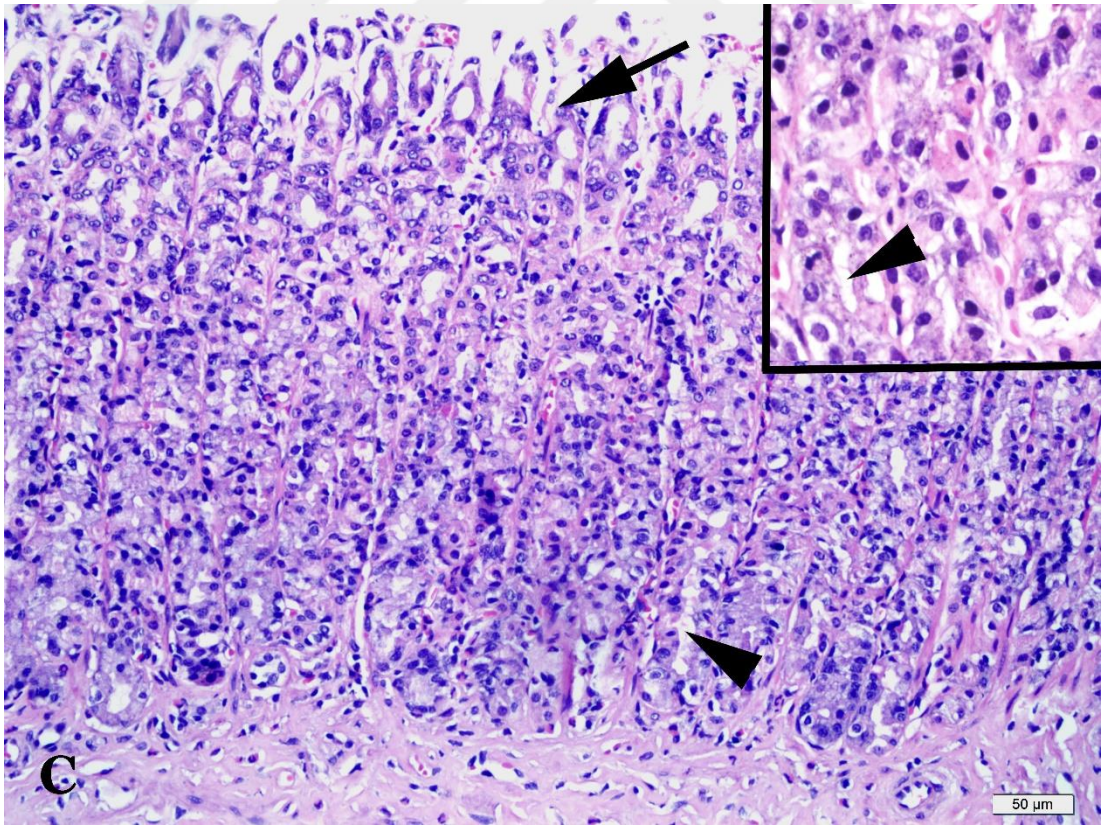
4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Sham grubu mide dokularında mide epitel ve bez yapıları düzgün gözlenmekteyken (Şekil 4.2A) asetik asit ile hasar oluşturulan grupta hem mide boyun mukus hücrelerinde hem de bez yapılarında genişleme ve yüzey epitel mukozasında konjesyon mevcuttu (Şekil 4.2B). Tedavi grubunda ise gastrik bezlerdeki genişlemenin gerilediği ve yüzey epitel mukozasında konjesyonun gerilediği gözlendi (Şekil 4.2C).



Şekil 4. 2. A: Sham grubu, düzgün yüzey epiteli (ok) ve düzgün mide bez yapıları (okbaşı), x20, B: Kontrol (Hasar) grubu, mide epitelinde konjesyon (ok) ve mide bez yapılarında ileri derecede açılma (okbaşları), x20, küçük resim-bez hücrelerine dökülme, x40, C: Tedavi grubu, mide yüzey epitelinde gerilemiş konjesyon (ok), x20 ve küçük resim-bez epitelinde düzelme (okbaşları), x40.


B
50 µm


C
50 µm

Yaptığımız histopatolojik skorlama verileri mikroskobik görüntüleri destekler şekilde kontrol (hasar) grubunda yüzey epitelinde dökülme, kanama, fokal nekroz ve mukozal konjesyon, glandular hücre dejenerasyonu ve inflamatuar hücre infiltrasyonu, sham grubuna kıyasla oldukça anlamlı derecede artmış (P<0,001) ancak tedavi grubunda anlamlı derecede azalmıştır (Tablo 4.1).

Tablo 4. 1. Histopatolojik bulguların skorları

Histopatolojik Sonuçlar	**Sham (n=8) ORT ± SS**	**Kontrol (n=7) ORT ± SS**	**Tedavi (n=5) ORT ± SS**
Yüzey epitelinde dökülme	0,25 ± 0,46	2,14 ± 0,38***	1,2 ± 0,45
Kanama, fokal nekroz ve mukozal konjesyon	0,13 ± 0,35	1,71 ± 0,49***	0,80 ± 0,45
Glandular hücre dejenerasyonu	0,13 ± 0,35	2,71 ± 0,49***	0,80 ± 0,45
İnflamatuar hücre infiltrasyonu	0,25 ± 0,46	2,14 ± 0,69***	1,00 ± 0,70

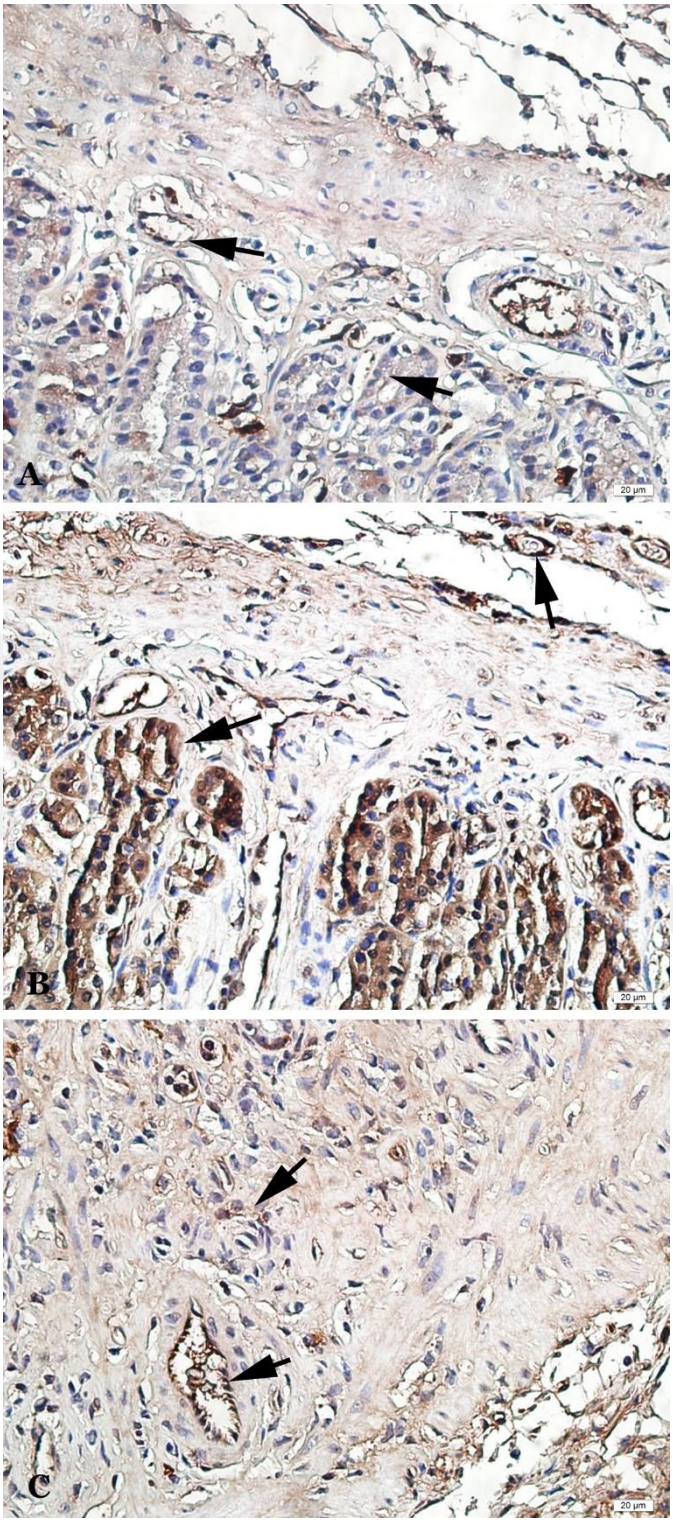
ORT±SS: Ortalama ± Standart Sapma

***P<0,001 Sham grubu ile karşılaştırıldı.

4.3. İMMUNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

4.3.1. Kollajen I Bulguları

Sham mide dokusunda kollajen I boyanması hafif-orta derecede özellikle gastrik bezler arasında ve bağ dokuda gözlenirken (Şekil 4.3A) hasar grubunda bu boyanmanın orta-kuvvetli olarak arttığı (Şekil 4.3B) ve tedavi sonrasında orta derece boyanma olarak (Şekil 4.3C) oluştuğu gözlendi. Mikroskopik bulguların skorları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında kontrol grubunda kollajen I reaktivitesi, sham grubuna kıyasla oldukça anlamlı derecede artmış (P<0,001) ve tedavi grubunda, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede azalmıştır (Tablo 4.2).



Şekil 4. 3. A: Sham grubu, gastrik bezler ve endotelde hafif-orta derece boyanma (oklar), B: Kontrol grubu, bezlerde ve endotelde orta-kuvvetli boyanma (oklar), C: Tedavi grubu, orta derecede boyanma (oklar), x40.

4.3.2. Kollajen III Bulguları

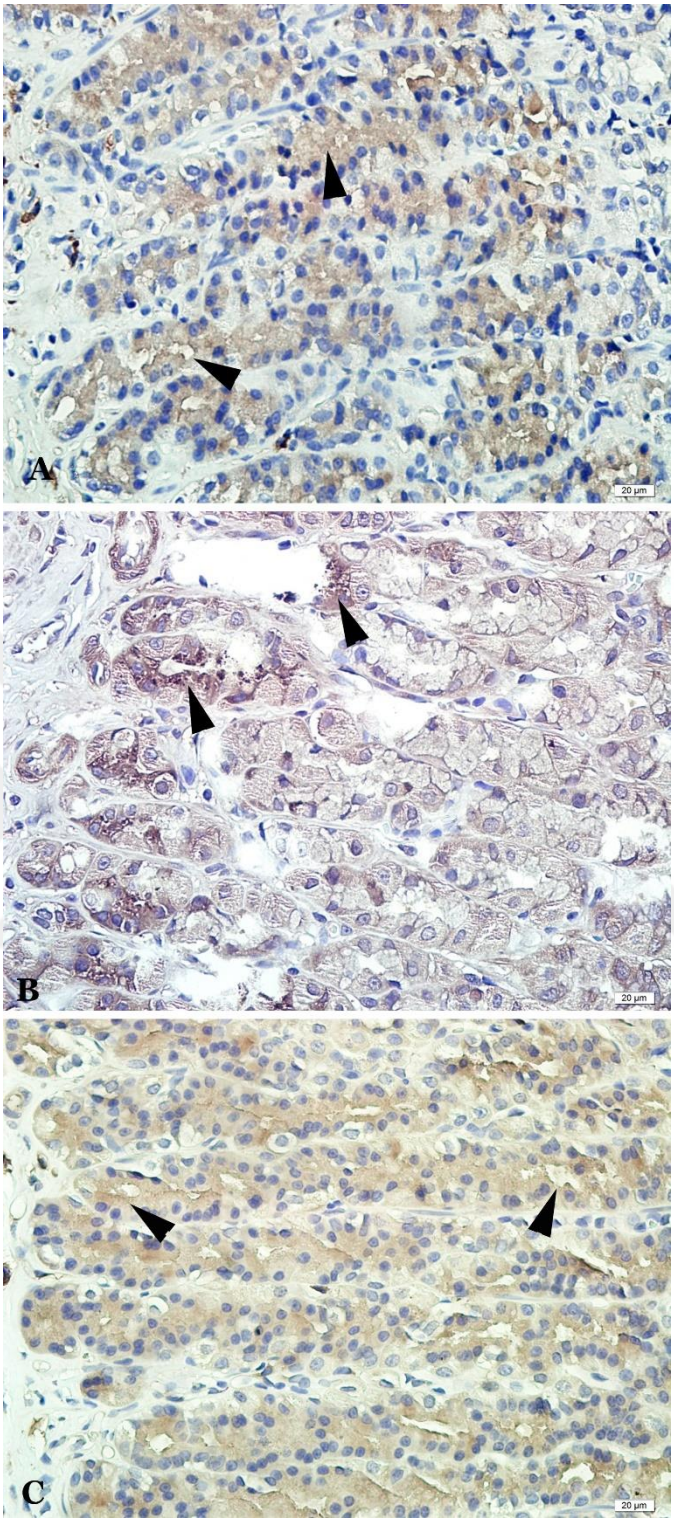
Sham grubu mide dokusunda kollajen III boyanması hafif derecede özellikle gastrik bezler arasında ve bağ dokuda gözlenirken (Şekil 4.4A) kontrol grubunda bu boyanmanın bez yapılarında orta derece olarak arttığı (Şekil 4.4B) ve tedavi sonrasında orta derecede boyanmanın genel olarak boyun bezlerinde (Şekil 4.4C) oluştuğu gözlendi. Mikroskopik bulguların skorları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında kontrol ve tedavi gruplarında kollajen III reaktivitesi, sham grubuna kıyasla artmış ancak istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır (Tablo 4.2). Kontrol ve tedavi grupları arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmamıştır.

Tablo 4. 2. Kollajen I, III ve IV için immunohistokimyasal bulguların skorları

	Sham (n=8)	**Kontrol (n=7)**	**Tedavi (n=5)**
	ORT ± SS	**ORT ± SS**	**ORT ± SS**
Kollajen I	0,88 ± 0,35	2,86 ± 0,38***	1,60 ± 0,55
Kollajen III	0,88 ± 0,35	1,57 ± 0,79	1,60 ± 0,55
Kollajen IV	2,88 ± 0,35	1,71 ± 0,76**	2,60 ± 0,55

ORT±SS: Ortalama ± Standart Sapma

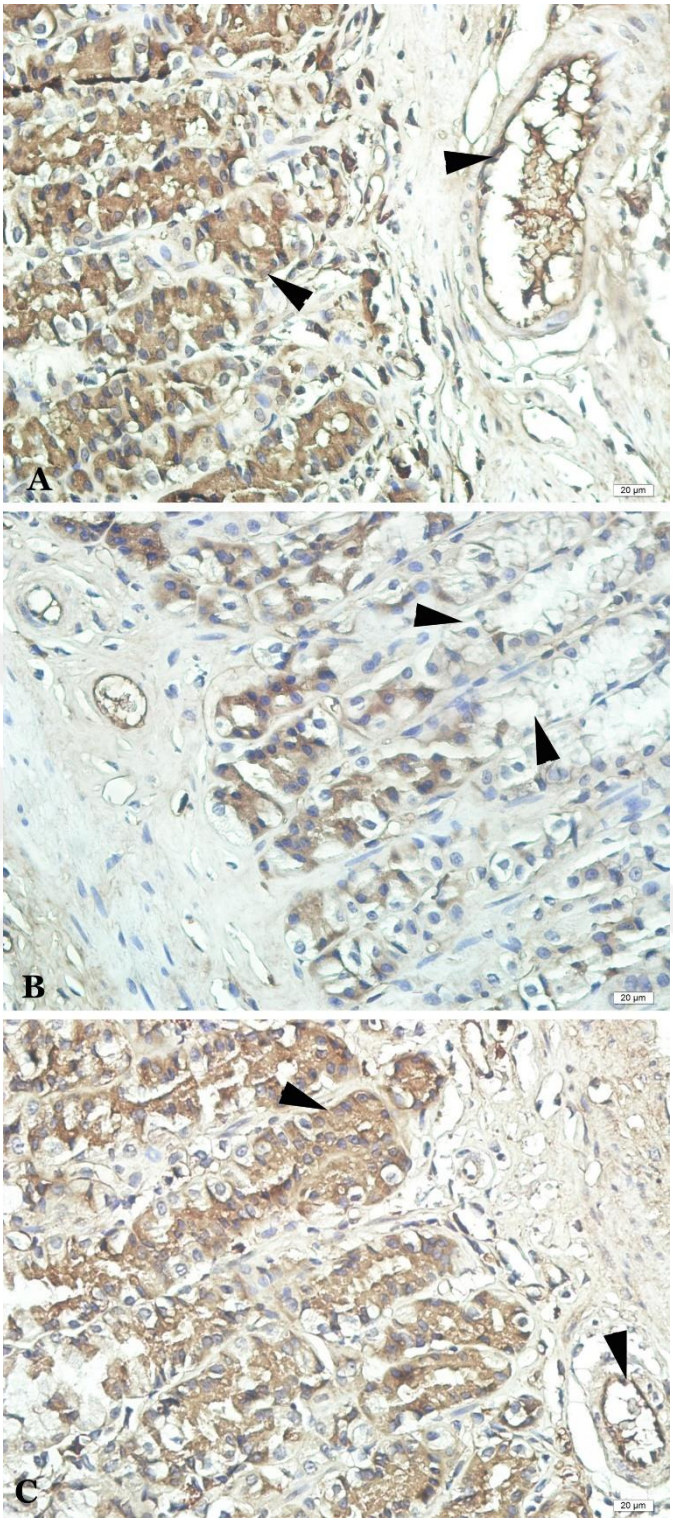
**P<0,01 ve ***P<0,001 Sham grubu ile karşılaştırıldı.



Şekil 4. 4. A: Sham grubu gastrik bezlerde hafif dereceli boyanma (okbaşları), B: Kontrol grubunun özellikle gastrik bezlerde gözlenen orta dereceli boyanma (okbaşları), C: Tedavi grubu, bezlerde düzgün dağılımlı orta dereceli boyanma (okbaşları), x40.

4.3.3. Kollajen IV Bulguları

Sham grubu mide dokusunda kollajen IV boyanması bazal membranlarda kuvvetli derecede, özellikle gastrik bezler arasında ve endotelde gözlenirken (Şekil 4.5A) kontrol grubunda bu boyanmanın orta şiddette olarak azaldığı (Şekil 4.5B) ve tedavi sonrasında yeniden kuvvetli derecede boyanma şeklinde immunoreaktivitesi (Şekil 4.5C) gözlendi. İstatistiksel olarak karşılaştırıldığında kontrol grubundaki düşüş, sham ve tedavi gruplarına kıyasla fazlaca anlamlı idi ($P<0,01$) (Tablo 4.2).



Şekil 4. 5. A: Sham grubunun gastrik bezlerinde ve endotelde (ok başı) kuvvetli boyanma, B: Kontrol grubunun özellikle boyun hücrelerinde azalan boyanma (ok başları), C: Tedavi grubunun hem endotel hem de bezlerde kuvvetli boyanma (ok başları), x40.

4.4. BİYOKİMYASAL BULGULAR

Mide doku homojenatlarından ELISA yöntemi ile elde edilen biyokimyasal parametrelerin verileri ve istatistikleri Tablo 4.3'de verilmiştir.

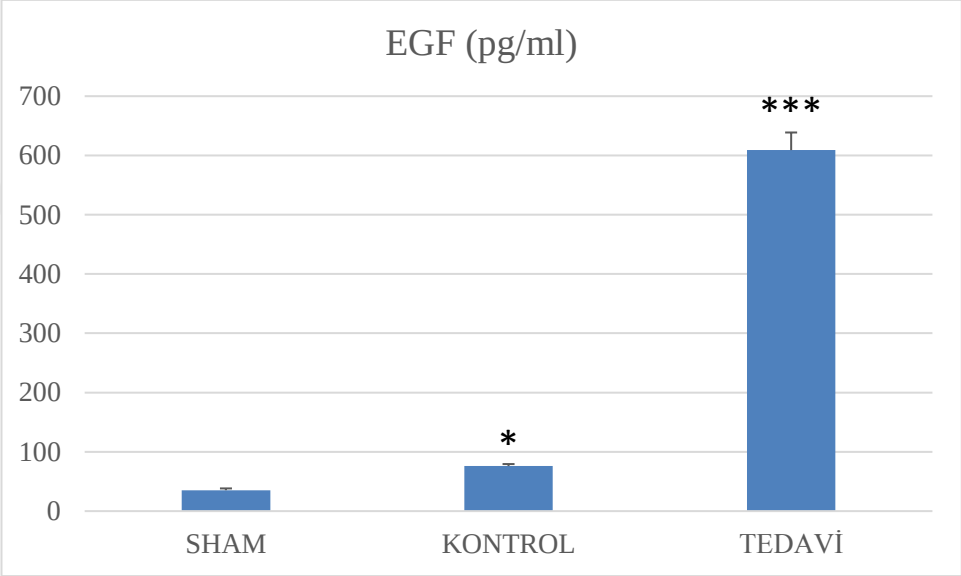
Tablo 4. 3. Biyokimyasal parametrelerin gruplara göre karşılaştırılması

		Sham (n=8) **ORT ± SS**	**Kontrol (n=7)** **ORT ± SS**	**Tedavi (n=5)** **ORT ± SS**
Büyüme Faktörü ve Prostaglandin	EGF (pg/ml)	35,23 ± 8,63	75,94 ± 9,71*	609,0 ± 66,56***
	PGE2 (ng/ml)	1,55 ± 0,46	6,79 ± 1,14*	7,88 ± 0,87**
İnflamasyon	TNF-α (pg/ml)	102,48± 12,39	1170,0±120,42***	174,53 ± 59,80
	IL-6	129,2 ± 16,82	199,38 ± 11,48**	156,94 ± 29,60*
	IL-8	4,50 ± 0,85	84,20 ± 6,69***	7,13 ± 1,43
Lipid Metabolizması	LPO	4,81 ± 0,37	15,74 ± 0,33***	10,33 ± 0,85
Oksidatif Stres	MPO	5,84 ± 1,60	40,86 ± 3,95***	11,04 ±2,74*
Antioksidan Metabolizması	GSH	21,50 ± 6,12	34,13 ± 4,97*	195,2 ± 74,65***
	GSH-Px	11,5 ± 1,60	26,0 ±6,85*	78,2 ± 10,08***

ORT±SS: Ortalama ± Standart Sapma
EGF: Epidermal büyüme faktörü, PGE2: Prostaglandin E2
TNF-α: Tümör nekroz faktörü α, IL-6: İnterlökin 6, IL-8: İnterlökin 8
MPO: Miyeloperoksidaz
LPO: Lipid Peroksidaz
GSH: Glutatyon, GSH-Px: Glutatyon Peroksidaz
*P<0,05, **P<0,01 ve ***P<0,001 Sham grubu ile karşılaştırıldı.

4.4.1. Epidermal büyüme faktörü (EGF) Bulguları

Mide dokusunda büyüme faktörlerinden EGF miktarı ELISA ile incelendiğinde kontrol grubunda ve tedavi grubunda, sham grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ve hatta oldukça anlamlı artışlar izlendi (sırasıyla P<0,05 ve P<0,001). Kontrol grubunda yaklaşık iki kat artış görülürken tedavi grubundaki artış yaklaşık 17 kat idi (Şekil 4.6).

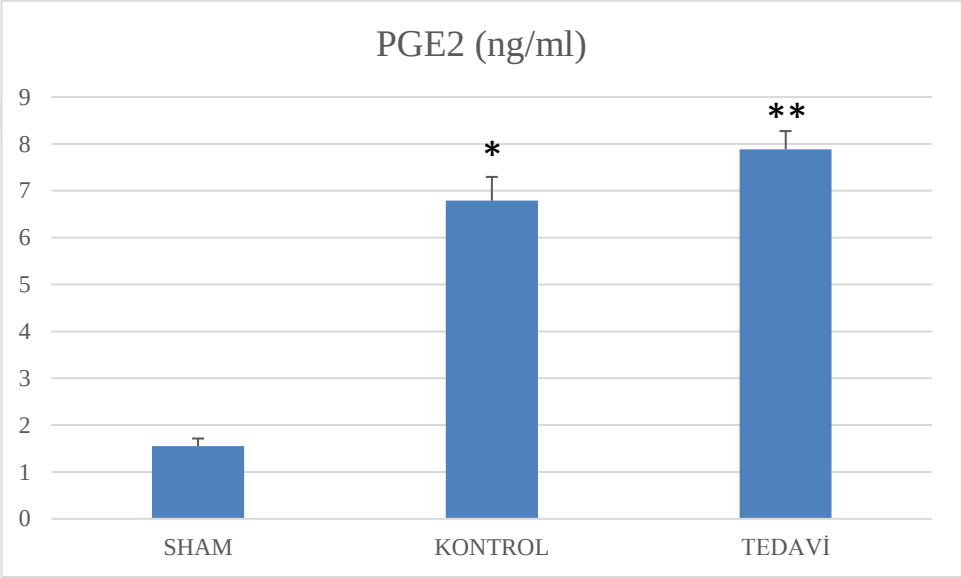


Şekil 4. 6. Mide dokusunda Epidermal Büyüme Faktörünün (EGF) gruplara göre dağılımı

*P<0,05 ve ***P<0,001 Sham grubu ile karşılaştırıldı.

4.4.2. Prostaglandin E2 (PGE2) Bulguları

Mide dokusunda prostaglandinlerden PGE2 miktarı ELISA ile incelendiğinde kontrol grubunda ve tedavi grubunda, sham grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ve hatta fazlaca anlamlı artışlar izlendi (sırasıyla P<0,05 ve P<0,01). Kontrol grubunda yaklaşık altı kat artış görülürken tedavi grubundaki artış yaklaşık yedi kat idi (Şekil 4.7).

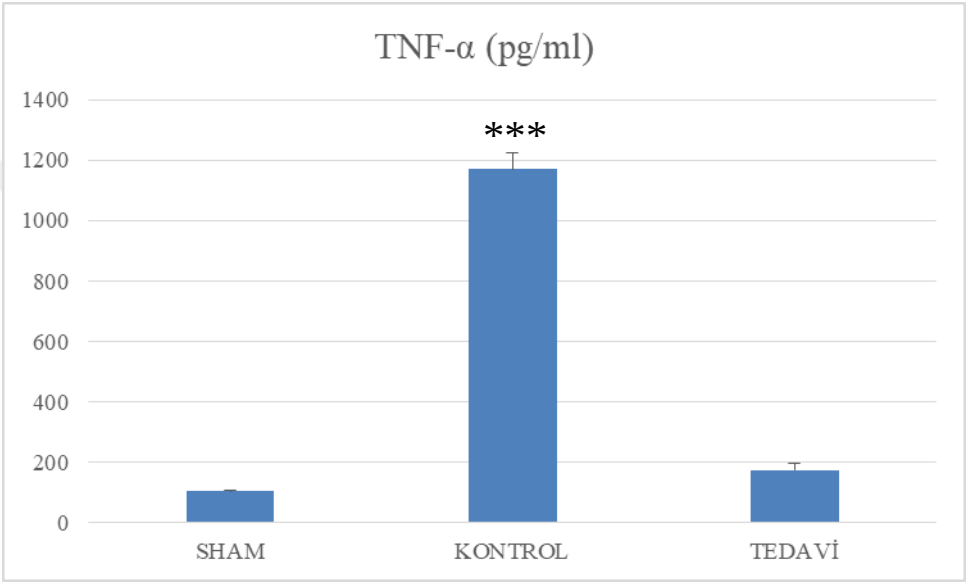


Şekil 4. 7. Mide dokusunda Prostaglandin E2 (PGE2) miktarının gruplara göre dağılımı

*P<0,05, **P<0,01 ve ***P<0,001 Sham grubu ile karşılaştırıldı.

4.4.3. Tümör nekroz faktörü α (TNF-α) Bulguları

Mide dokusunda inflamatuar markerlardan biri olan TNF-α miktarı ELISA ile incelendiğinde sadece kontrol grubunda, sham grubuna kıyasla istatistiksel olarak oldukça anlamlı artış görülürken (P<0,001), tedavi grubunda kontrol grubuna anlamlı azalma izlendi ve sham grubuna benzer miktar ölçüldü (Şekil 4.8).

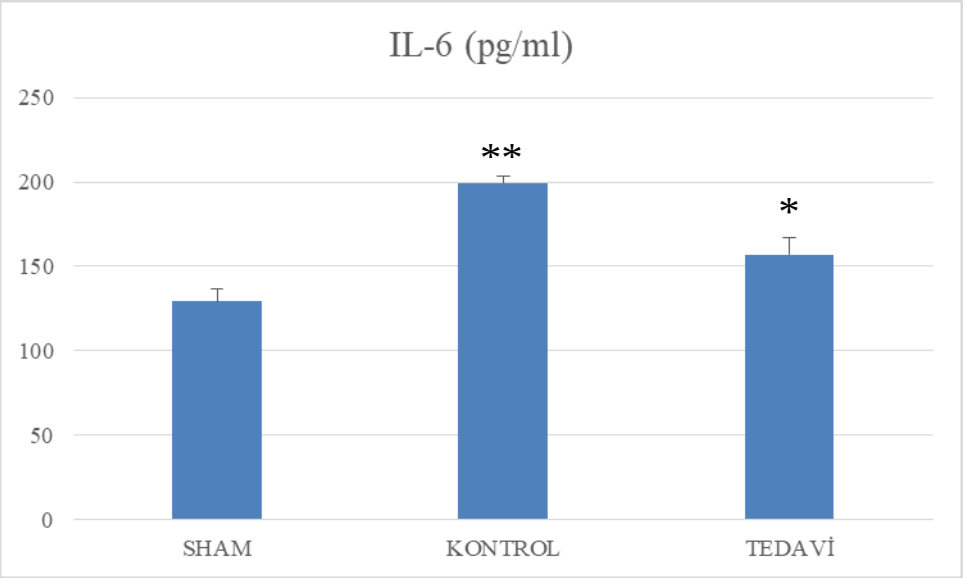


Şekil 4. 8. Mide dokusunda Tümör Nekroz Faktörü α (TNF-α) miktarının gruplara göre dağılımı

***P<0,001 Sham grubu ile karşılaştırıldı.

4.4.4. İnterlökin 6 (IL-6) Bulguları

Mide dokusunda inflamatuar markerlardan interlökinlerden biri olan IL-6 miktarı ELISA ile incelendiğinde kontrol grubunda ve tedavi grubunda sham grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı artışlar görüldü ancak sadece kontrol grubundaki artış istatistiksel olarak fazlaca anlamlılık arz etti (P<0,01). Kontrol grubu ile tedavi grubu karşılaştırıldığında istatistiksel farklılık kaydedildi (P<0,05) (Şekil 4.9).



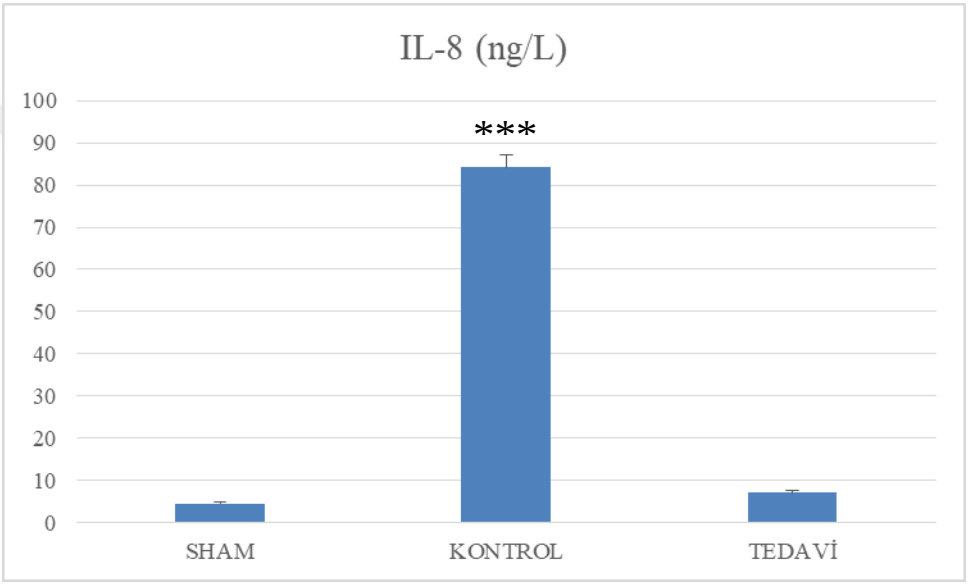
Şekil 4. 9. Mide dokusunda İnterlökin 6 (IL-6) miktarının gruplara göre dağılımı

**P<0,01 Sham grubu ile karşılaştırıldı.

*P<0,05 Kontrol grubu ile karşılaştırıldı.

4.4.5. İnterlökin 8 (IL-8) Bulguları

Mide dokusunda inflamatuar markerlardan interlökinlerden diğeri olan IL-8 miktarı ELISA ile incelendiğinde sadece kontrol grubunda sham grubuna kıyasla istatistiksel olarak oldukça anlamlı artış görüldü (P<0,001) ve tedavi grubunda bu artış izlenmedi. Sham grubu ile tedavi grubu karşılaştırıldığında istatistiksel farklılık görülmedi (Şekil 4.10).

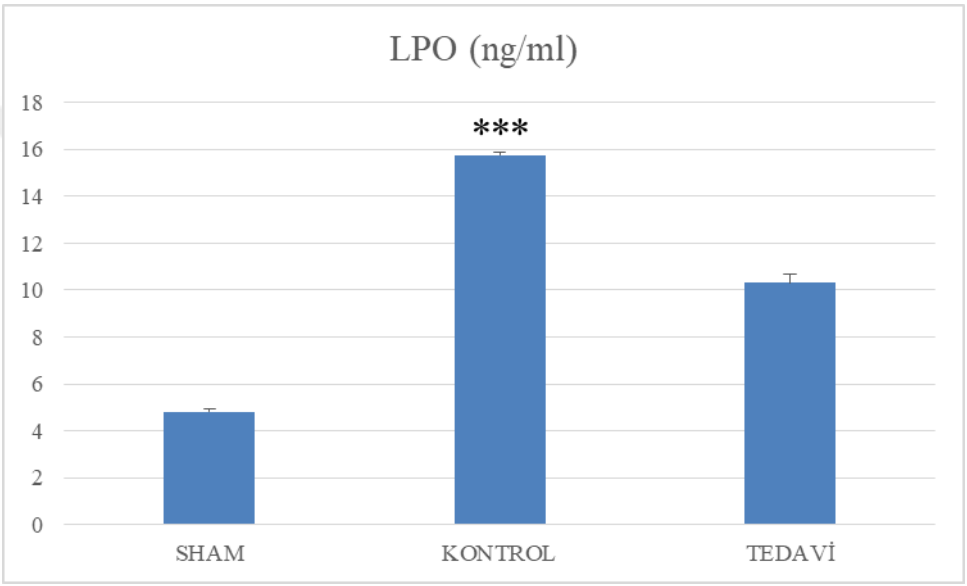


Şekil 4. 10. Mide dokusunda İnterlökin 8 (IL-8) miktarının gruplara göre dağılımı

***P<0,001 Sham grubu ile karşılaştırıldı.

4.4.6. Lipid Peroksidaz (LPO) Bulguları

Mide dokusunda lipid metabolizması enzimlerinden LPO miktarı ELISA ile incelendiğinde sadece kontrol grubunda sham grubuna kıyasla istatistiksel olarak oldukça anlamlı artış görüldü (P<0,001) ve tedavi grubunda bu artış izlenmedi. Sham grubu ile tedavi grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi (Şekil 4.11).

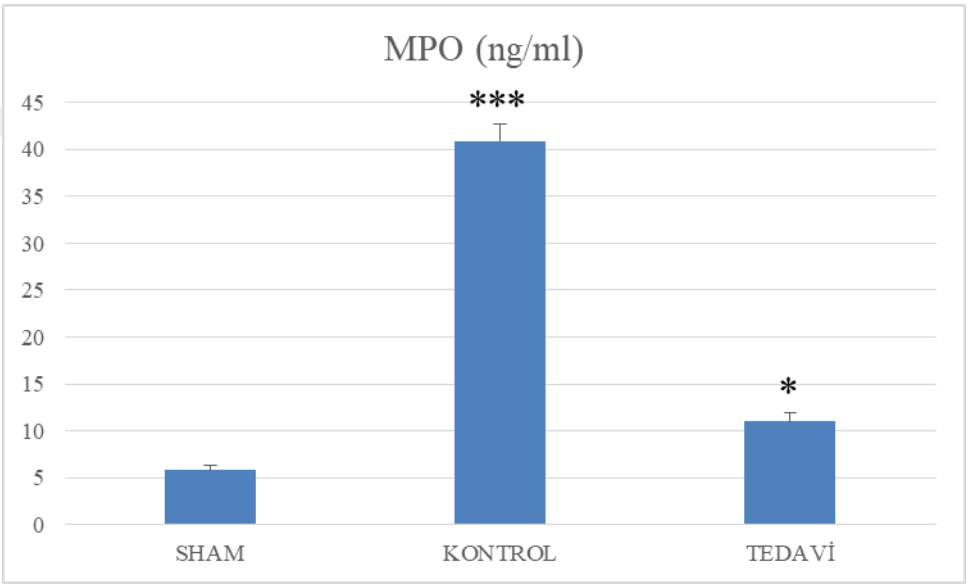


Şekil 4. 11. Mide dokusunda Lipid Peroksidaz (LPO) miktarının gruplara göre dağılımı

***P<0,001 Sham grubu ile karşılaştırıldı.

4.4.7. Miyeloperoksidaz (MPO) Bulguları

Mide dokusunda oksidatif stres enzimlerinden miyeloperoksidaz enzim miktarı ELISA ile incelendiğinde kontrol ve tedavi gruplarında sham grubuna kıyasla istatistiksel olarak oldukça anlamlı ve anlamlı artışlar kaydedildi (sırasıyla P<0,001 ve P<0,05) ve kontrol grubundaki artış yaklaşık sekiz kat iken tedavi grubundaki artış yalnıza iki kat olarak hesaplandı (Şekil 4.12).

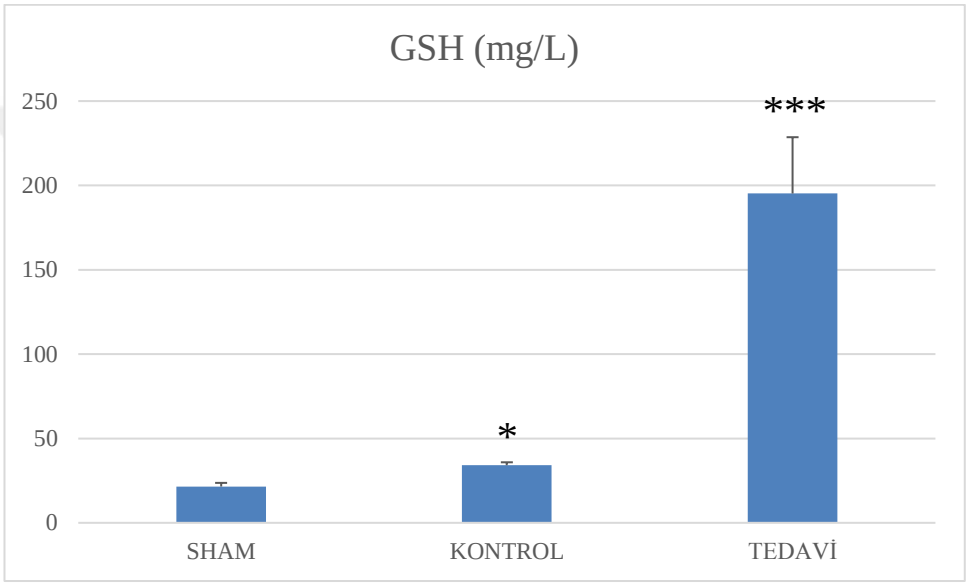


Şekil 4. 12. Mide dokusunda Miyeloperoksidaz (MPO) miktarının gruplara göre dağılımı

*P<0,05 ve ***P<0,001 Sham grubu ile karşılaştırıldı.

4.4.8. Glutatyon (GSH) Bulguları

Mide dokusunda antioksidan ajanlardan biri olan GSH miktarı ELISA ile incelendiğinde kontrol ve tedavi gruplarında sham grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ve oldukça anlamlı artışlar kaydedildi (sırasıyla P<0,05 ve P<0,001) ve tedavi grubundaki artış sham grubunun yaklaşık dokuz katı olarak hesaplandı (Şekil 4.13).

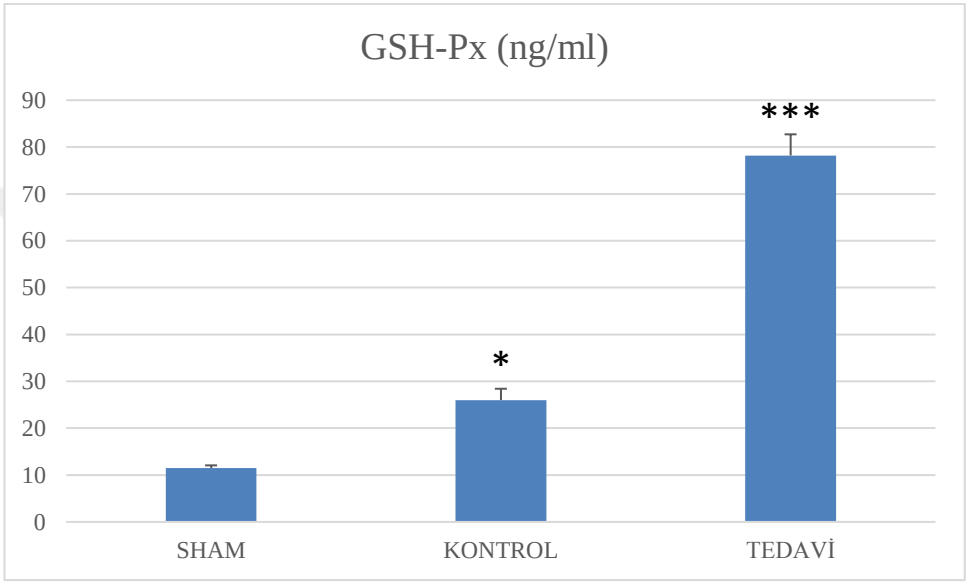


Şekil 4. 13. Mide dokusunda Glutatyon (GSH) miktarının gruplara göre dağılımı

*P<0,05 ve ***P<0,001 Sham grubu ile karşılaştırıldı.

4.4.9. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) Bulguları

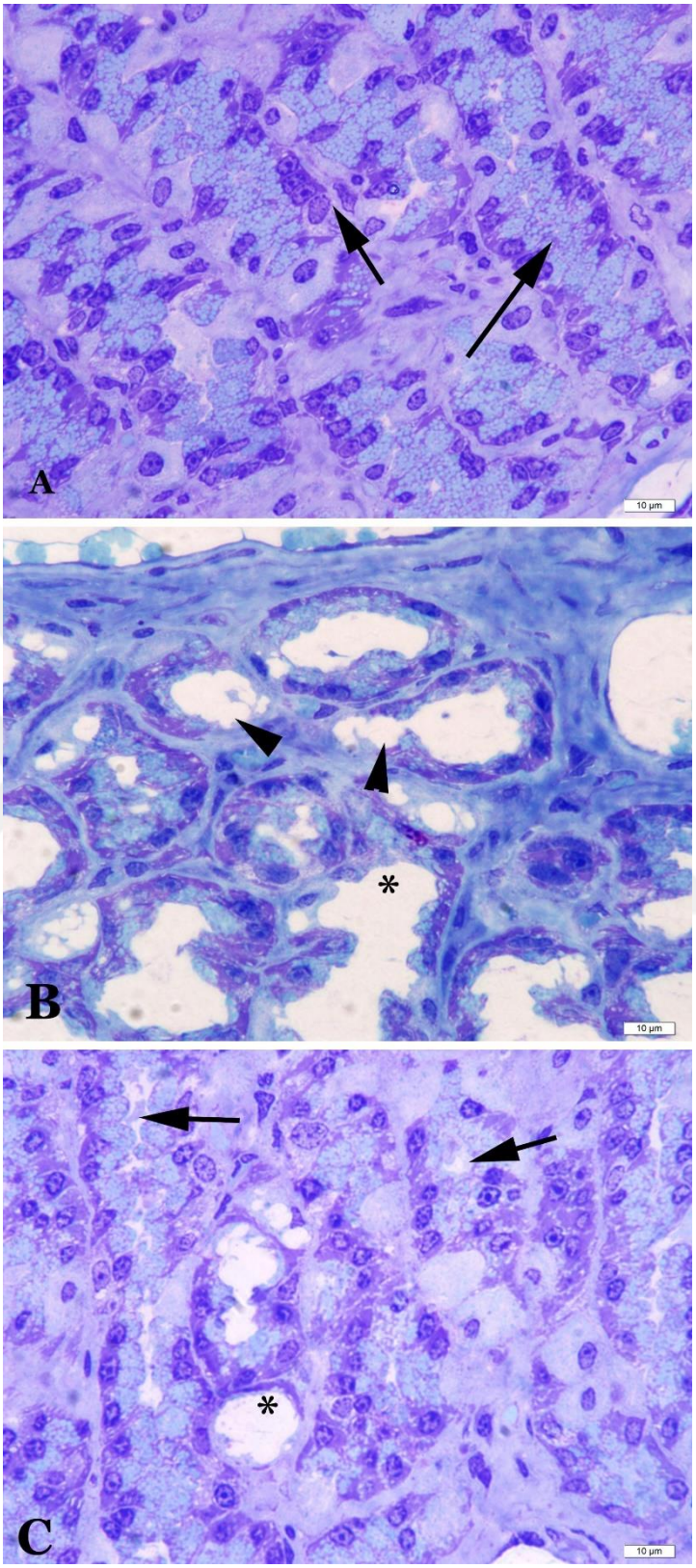
Mide dokusunda antioksidan enzimlerden biri olan GSH-Px miktarı ELISA ile incelendiğinde kontrol ve tedavi gruplarında sham grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ve oldukça anlamlı artışlar kaydedildi (sırasıyla P<0,05 ve P<0,001) ve kontrol grubundaki artış sham grubunun yaklaşık iki katı iken tedavi grubundaki yaklaşık artış dokuz kat olarak hesaplandı (Şekil 4.14).



Şekil 4. 14. Mide dokusunda Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) miktarının gruplara göre dağılımı
*P<0,05 ve ***P<0,001 Sham grubu ile karşılaştırıldı.

4.1. ULTRASTRÜKTÜREL BULGULAR

Elektron mikroskobik yarı ince kesitler incelendiğinde sham grubu mide dokularında boyun mukus hücreleri düzenli bir yapı sergilerken (Şekil 4.15A), asetik asit ile ülser oluşturulan kontrol grubunda mide bezlerinin ileri derecede açıldığı ve bez hücrelerinde yer yer dökülmeler ve kayıplar gözlendi (Şekil 4.15B). tedavi grubunda bezlerdeki genişlemenin gerilediği ve hücre dökülmelerinin azaldığı saptandı (Şekil 4.15C).



Şekil 4. 15. A: Sham grubunda düzgün boyun hücreleri ve gastrik bezler (oklar), B: Kontrol grubunda ileri derecede genişlemiş (*) ve epiteli dökülmüş (ok başları) gastrik bezler, C: Tedavi grubunda gastrik bezlerde azalmış genişleme (*) ve rejenere boyun epitel hücreleri (oklar), x100.

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda asetik asit ile kronik mide ülseri modeli oluşturulmuş sıçanlarda ruskogeninin olası terapötik etkilerini ve mekanizmasını mikroskobik, histopatolojik, immunohistokimyasal, biyokimyasal ve ultrastrüktürel yöntemlerle incelemeyi amaçladık. Çalışmamızda, ruskogeninin mide ülseri üzerine makroskopik, histopatolojik, biyokimyasal ve ultrastrüktürel olarak olumlu ve hatta iyileştirici etkileri olduğu sonucuna varılmıştır.

Peptik ülser hastalığı iki yüz yıldan beri insan sağlığı için önemli bir tehdit unsuru haline gelmiştir. Tıbbi gelişmelere rağmen peptik ülserin ve ilişkili komplikasyonlarının yönetimi, yüksek morbidite ve mortalite oranlarından ötürü tıbbi zorluk oluşturmaya devam etmektedir (130). Dolayısıyla gastrik ülserden korunma veya ülseri hafifletme veya ülserin tedavisi için birçok ajan besin desteği olarak ilgi çekmektedir. Bu ajanlar arasında özellikle bitki ekstraktları, polifenoller, metabolitler giderek artan oranlarda araştırılmakta ve geniş çaplı biyolojik etkilerine bağlı olarak diyetlerde yerlerini almaktadır (151).

Doğal polifenollerin gastrointestinal yolda çok sayıda yararlı rolleri olduğu rapor edilmiştir. Bunlar arasında antispazmodik, anti-kolitik, anti-sekretuar, antidieral, anti-ülser ve anti-oksidatif özellikler yer almaktadır (152). Ek olarak peptik ülserin tedavisinde çeşitli geleneksel ve tamamlayıcı ilaçların terapötik yararları, polifenol içerikleriyle ilişkilendirilmektedir (153). Kuşkonmazgiller (Asparagaceae) ailesinden, halk arasında tavşanmemesi olarak bilinen *Ruscus aculeatus* bitkisinin ekstraktları farmakolojik açıdan birçok çalışmaya konu olmuştur. Bu bitkinin iki ana aktif maddesi olan ruskogenin ve neoruskogenin de son yıllarda anti-inflamatuar ve anti-oksidan etkileriyle ön plana çıkmış ve Avrupa'da özellikle farklı hastalıkların tedavisinde kullanılır olmuştur. Ancak ruskogenin daha önce peptik ülserin tedavisinde bir ajan olarak çalışılmamıştır. Bu nedenle çalışmamızda, asetik asit ile kronik ülser modeli oluşturduğumuz sıçanlarda ruskogeninin olası terapötik etkilerini ve mekanizmasını makroskopik, histopatolojik, immunohistokimyasal, biyokimyasal ve ultrastrüktürel yöntemlerle incelemeyi amaçladık. Bu amaçla yaptığımız makroskopik incelemelerde kronik ülser modeli oluşturulan ve ruskogenin tedavisi uygulanan tedavi grubunda ülser alanlarının

ortalamasının, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düştüğünü kaydettik. Yaptığımız histopatolojik analiz verilerine göre de kontrol grubunda yüzey epitelinde dökülme, kanama, fokal nekroz ve mukozal konjesyon, glandular hücre dejenerasyonu ve inflamatuar hücre infiltrasyonunun sham grubuna kıyasla anlamlı derecede arttığını, buna karşın tedavi grubunda anlamlı derecede azaldığını bulduk.

Antik fleboterapötik bir bitki olan *R. aculeatus*'un aktif maddelerinin vazokonstriktif ve venotonik özellikleri keşfedilmiştir. Ruskogenin özellikle Almanya ve Fransa'da kronik venöz yetmezlik, varikoz venler, hemoroidler ve ortostatik hipotansiyon tedavilerinde fazlaca kullanılmaktadır (154). Türkiye'de de geleneksel tıpta *R. aculeatus*'un köklerinin kaynatılmasıyla elde edilen sıvı diüretik olarak ve nefrit gibi üriner sistem hastalıklarının tedavisi için ve egzamaya karşı ve böbrek taşlarının tedavisinde kullanılmaktadır (155).

1972 yılında *R.aculeatus*'tan izole edilen sapogeninlerin ilk kez sıçan ödeminde anti-inflamatuar aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca izole edilen tavşan kulaklarının damarlarında vazokonstriktör etkiler de görülmüş fakat sadece ruskogenin türevleri tavşanda kapiller permeabiliteyi önemli derecede azaltmıştır. Akut oral ve parenteral toksisiteler fare ve sıçanlarda düşüktür ve yüksek dozların uzun süreli oral uygulanması sıçanlarda iyi tolere edilmiştir (139). Rudofsky sağlıklı bireylerde Ruscus hidroalkolik ekstraktının oral uygulanmasından 2 saat sonra venöz kapasitede yaklaşık %10 azalma olduğunu rapor etmiştir. Ruscus ekstraktı uygulanan kronik venöz yetersizliği olan hastalardan sabit venöz tonus alınabilmiş ve placebo uygulanan hastalara kıyasla venöz boşalma düzelmiştir (156). *R.aculeatus'un* etkisine katkıda bulunan faktörleri değerlendiren bir çalışmada ruskogeninlerin hiyaluronidaz aktivitesinde etkili olmadığı fakat belirgin anti-elastaz aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (141). Ayrıca anti-ödematöz etkileri de gösterilmiştir (157). Başka bir çalışmada Ruscus ekstraktı hipoksi uygulanan endotel hücrelerinin aktivasyonunu inhibe edebilmiştir ve bu da venöz kan stazına benzeyen bir durumdur. Bu etki ATP içeriğinde ve fosfolipaz A2 aktivasyonunda azalmaya ek olarak nötrofil adheransında artışla birlikte gösterilmiştir. Bu da ruskogeninin kronik venöz yetersizliği olan hastaların tedavisinde bu ürünün yararlı terapötik etkilerinin bazılarını açıklayabilir (158,159).

Doğal moleküller arasında besinsel aktif maddeler ve polifenoller, çok sayıda biyolojik etki mekanizmaları sayesinde mide ve bağırsak ülserlerinin yönetilmesinde hayati role sahip olabilmektedir (152). Peptik ülserin patogeneziyle ilişkili birçok farklı moleküler mekanizma da son yıllarda gösterilmiştir. Özellikle hayvan çalışmaları ilaçların, besinsel takviyelerin ve çeşitli ajanların intrasellüler ve moleküler farmakolojik etki mekanizmalarının ortaya konmasında yararlı olabilmektedir. Çünkü ülser iyileşme mekanizması hasarın giderilmesi ve re-epitelizasyonun bir kombinasyonunu içeren kompleks bir süreçtir. Ülser iyileşme süreci bir dizi kompleks olayların yüksek dereceli koordinasyonunu gerektirmektedir. Bu olaylar büyüme faktörleri ve prostaglandinler gibi çeşitli faktörler tarafından kontrol edilmektedir ve doku restorasyonu ve anjiyogenez olaylarını da içeren doku iyileşmesinin ana hücre fonksiyonlarına dahil olmaktadır (153). Prostaglandinlerin, doku büyüme faktörlerinin ve immun komplekslerin artışıyla ve anti-anjiyogenik faktörlerin azalmasıyla kontrol edilen hücresel koruma, re-epitelizasyon, neovaskularizasyon ve anjiyogenez aşamalarının iyileştirilmesi, bitkisel ekstraktların anti-ülser potansiyelinde önemli roller oynar. Bu nedenle biz de çalışmamızda ruskogeninin kronik ülser modelinde EGF ve PGE2 düzeylerine etkilerini biyokimyasal yöntemlerle inceledik ve dokudaki miktarların tedavi grubunda sham grubuna kıyasla anlamlı derecede arttığını ve kontrol grubundaki artışlara kıyasla önemli derecede daha yüksek olduğunu bulduk. Dolayısıyla ruskogeninin ülser iyileşme sürecinde bu faktörlerle kontrol edilen aşamalarda etkili olabileceği sonucuna vardık.

İki farklı akut inflamasyon sıçan modeli kullanılarak *R.aculeatus*'un steroidal saponin karışımlarının anti-inflamatuar etkileri incelenmiş ve doza bağlı olarak etkili olduğu bulunmuştur. Hatta referans ilaç olan diklofenaktan doza ve belirleme zamanına göre daha üstün olabilmiştir (154). İnflamasyon ve vasküler hastalıklarda ruskogeninin sitokinlere karşı endotelyal cevapta inhibisyona dahil olma mekanizmasını araştıran bir çalışmada, ruskogeninin konsantrasyona bağlı olarak TNF-α ile hasar verilen insan umbilikal ven endotelyal hücre hattına lökositlerin adhezyonunu inhibe etmiştir. Ruskogenin farelerde zymosan A'nın yol açtığı peritoneal total lökosit göçünü doza bağlı olarak baskılarken peritoneal sıvıdaki PGE2 içeriğine belirli etkisi olmamıştır. Ruskogenin ayrıca TNF-α ile indüklenen

intersellüler ICAM-1'in fazla ekspresyonunu inhibe etmiş ve NF-κB p65 translokasyonunu azaltarak Nf-κB aktivasyonunu önemli ölçüde baskılamıştır (14). Biz de çalışmamızda ruskogeninin kronik ülser modelinde sıçanlarda inflamasyon markırlarına etkilerini inceledik ve dokudaki TNF-α, IL-6 ve IL-8 düzeylerini sham grubuna kıyasla anlamlı derecede düşürdüğünü kaydettik. Bu da ruskogeninin ülserde anti-inflamatuar olarak etkili olabileceğini düşündürmüştür.

R.aculeatus ekstraktlarının farmakolojik özellikleriyle ilgilenen çalışmalar, bu özellikleri gösteren bileşenlerin, steroidal glikozit ruscin ve ruscosit olduğunu ve hidroliz ürünleri olan desglukoruscin, desglukodesrhamnoruscin ve desglukoruscosid olduğunu göstermiştir. Farmakolojik aktivite şeker birimlerinin sayısı azaldıkça artmaktadır (160). Dolayısıyla bitkiden ekstrakt elde etmek için birçok enzimatik veya kimyasal hidroliz yöntemi geliştirilmiştir. Türkiye'de ultra-performanslı akışkan kromatografisi (UPLC) kullanılarak 5 Ruscus taksonlarında ruskogenin belirlenmiştir (155).

Ülser patogenezinde rol oynayabilen çeşitli koruyucu ve iyileştirici ajanların vasküler geçirgenliğe, lökosit infiltrasyonuna ve lökosit-endotel etkileşimine etkileri incelenmiştir (152). Bitki ekstraktları anti-inflamatuar etkilerinin yanı sıra ülserasyon sırasında ortaya çıkan oksidatif streste de önemli rol oynayabilmekte ve oksidatif mukozal hasarı baskılayabilmekte ve ana anti-ülser mekanizmaları arasında yer alan enzimatik olan ve olmayan antioksidanlarla kontrol edilen gastrik serbest radikalleri temizleyebilmektedir. Polifenoller gibi maddelerin gastrik ülserasyonun yönetiminde mukozal koruma ajanlarının (mukus ve hekzosamin) güçlendirilmesiyle birlikte antihistaminik fonksiyonları ve H+, K+-ATPaz aktivitesini azaltarak kontrol edilen anti-asit ve anti-sekretuar etkileri kaydedilmiştir. Böylelikle peptik ülserin yönetiminde koruyucu veya terapötik faktörler olarak yerlerini alabilmektedir. Biz de çalışmamızda oksidatif stres göstergesi olarak MPO düzeylerini dokuda ELISA yöntemiyle incelediğimizde ülser uygulanan grupta oksidatif stres düzeylerinin sham grubuna kıyasla arttığını ve ruskogenin ile tedavi uygulanan ülser grubunda ise anlamlı derecede düştüğünü gösterdik. Buna karşı antioksidan metabolizma göstergelerinden GSH ve GSH-Px miktarlarının sham grubuna kıyasla tedavi grubunda önemli derecede yükseldiğini fakat kontrol grubunda artışların düşük

düzeyde kaldığını izledik. Bu da ruskogeninin kronik mide ülserinde oksidatif stresi azaltarak anti-oksidan etkiler gösterebileceğini düşündürmüştür.

Bazı antioksidan maddelerin ülserde koruyucu veya tedavi amaçlı uygulanması yaygınlaşmıştır. Bu antioksidanların gastrik lümene koruyucu etki mekanizmalarını, antioksidan enzim düzeylerini ve GSH-Px düzeylerini arttırarak gösterdiği kaydedilmiştir. Ayrıca lipidlerin peroksidasyonunu da engelledikleri ve hücre membranın bütünlüğünün korunmasını destekleri bilinmektedir. Örneğin kurkumin ülserde ksantin oksidaz aktivitesini baskılayarak süperoksit radikallerin üretimini engeller ve ROS kaynağı olan MPO aktivitesini de baskılar (161). Dolayısıyla biz de ruskogeninin gastrik ülserde daha önce araştırılmayan olası etkilerini LPO ve MPO miktarları açısından inceledik ve tedavi uygulanan grupta bu enzimlerin dokudaki miktarlarının anlamlı ölçüde azaldığını gösterdik. Sonuçta ruskogeninin dokularda antioksidan etkileri açığa çıkarabilmesinin yanı sıra lipid metabolizmalarını da etkileyebileceği düşünülmüştür.

Matriks metalloproteinazlar (MMPler) ekstrasellüler matriks elemanlarını seçici olarak parçayalan çinko bağımlı endopeptidazlar grubudur. MMP'ler kollajen gibi matriks proteinlerinin düzenlenmesinde ve ekstrasellüler matriksin tekrar modellenmesinde dinamik fonksiyon gösterirler. Bazı antioksidan ve anti-inflamatuar maddeler gastrik dokuda MMP aktivitelerini değiştirerek ve endotelyal dokunun re-epitelizasyonuna ve tekrar modellenmesine yol açarak gastroprotektif ve iyileştirici özellikler gösterebilmektedir. Dahası gastrik dokudaki anjiyogenez ve kollajenizasyon, bu maddelerin ana moleküler mekanizmaları arasında yer alabilmektedir (162). Peptik ülser modellerinde bazı bilinen ve daha önce çalışılmış maddelerin koruyucu etkileri iyi gösterilmiş fakat ruskogeninin kronik gastrik ülserde olası etkileri daha önce çalışılmamıştır. Bu çalışmada ruskogeninin kronik ülserde ekstrasellüler matriks yapısına etkilerini göstermek amacıyla immunohistokimyasal yöntemlerle kollajen I, kollajen III ve kollajen IV'ü inceledik ve ek olarak mukozanın ultrastrüktürel yapısını mikroskobik olarak gözden geçirdik. Ekstrasellüler matrikste en çok bulunan kollajen I hücre ataçmanını, büyümesini, farklılaşmasını, göçünü ve doku morfogenezini etkileyen bir proteindir. Çalışmamızda dokudaki Kollajen I miktarı ülser uygulanan grupta anlamlı derecede

artarken tedavi uygulanan grupta sham grubuna benzer düzeylere düşmüştür. Tip III kollajen Tip I kollajenle birlikte interstisyal mariksin ana bileşenlerinden biridir. Fibroblastlar tarafından salgılanır ve inflamasyon ile ilişkili patolojilerde, örneğin karaciğer hasarı, böbrek fibrozisi, hernia ve vasküler hastalıklarda ana rol oynamaktadır. Mutasyonları vasküler yetmezlik, aortik ve arteryal anevrizmalarla ilişkilidir. Özellikle fibrozis göstergesi olarak kullanılan tip III kollajen miktarı bizim çalışmamızda tedavi edilip edilmemesine bakılmaksızın ülser gruplarında anlamlı olmayan derecede arttığı kaydedilmiştir (163). Tip IV kollajen ise bazal membranın ana bileşenidir. Epitelde birçok bağlanma noktarı sağlar ve bazal membranın omurgasını oluşturur. Çeşitli fizyolojik ve patolojik fonksiyonlar için önemli olan sinyalleşme potansiyeline sahiptir (163). Kronik böbrek hasarlarında, bağ doku hastalıklarında mutasyonları görülmüştür. Çalışmamızda kronik ülser oluşturulan grupta epitel bütünlüğünün bozulmasına bağlı olarak dokuda azalan kollajen IV düzeyleri, ruskogenin ile tedavi edilen ülser grubunda normal seviyelere çıkmıştır. Ruskogeninin kollajen üzerine etkisini gösteren sadece bir uluslararası çalışmada Ruskogenin glikozitin lenfositlerin ekstrasellüler matrikse adhezyonuna etkileri incelenmiştir. Ruskogeninin hücrelerin, özellikle lenfositlerin, tip I kollajene adhezyonunu inhibe ettiği ve ek olarak fibronektin ve laminine bağlanmayı da inhibe ettiği ve dolayısıyla anti-inflamatuar aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (164). Bu çalışmanın sonuçlarıyla uyumlu olarak biz de tip I ve tip IV kollajenlerin dokudaki miktarlarının ruskogenin ile tedavi sonucunda sham grubuna benzer düzeylere geldiğini ortaya koyduk. Ultrastrüktürel incelemelerimizde de asetik asit ile ülser oluşturulan kontrol grubunda mide bezlerinin ileri derecede açıldığı ve bez hücrelerinde yer yer dökülmeler ve kayıplar olduğu gözlenmiş ve bu hasarların kollajen ekspresyonlarındaki değişimlere bağlı olabileceği düşünülmüştür. Ruskogenin ile tedavi edilen grupta ise bezlerdeki genişlemenin gerilediği ve hücre dökülmelerinin azaldığı saptanmış ve bu bulgunun tip I ekspresyonunda düşüşe ve tip IV ekspresyonunda artışa bağlı olabileceğini akla getirmiştir.

6. SONUÇLAR

Bu çalışmada;

- Asetik asit kullanılarak oluşturulan kronik mide ülseri sonrası tedavi amaçlı verilen ruskogenin ülserin şiddetini hafifletmiş ve bu tedavi edici etkiler, hem makroskopik hem de mikroskopik değerlendirme ile ortaya konmuştur.
- Ruskogeninin tedavi edici özelliğinin olası mekanizması, ülser zemininde oluşan inflamasyonun ve SOR'a bağlı oksidatif hasarın azaltılmasına dayanmaktadır. Ruskogenin lipit peroksidasyonunu ve SOR oluşumuna bağlı gelişen oksidatif hasarı azaltırken, aynı zamanda hücre içi antioksidan enzim düzeylerinin yerine konmasını da desteklemektedir.
- Ruskogenin anti-inflamatuar etkisini hücre membran bütünlüğünün korunmasına katkı sağlayarak ve pro-inflamatuvar sitokinlerden TNF-α, IL-6 ve IL-8'in serbestlenmesini azaltarak da göstermektedir.

Sonuç olarak, ruskogeninin antioksidan, anti-inflamatuvar ve iyileştirici etkilerine paralel olarak, ülser patogenezinde önemli olan agresif –yıkıcı- faktörlerin etkilerini hafifletmek ve koruyucu faktörleri de desteklemek yoluyla ülser tedavisinin gelişmesinde umut vaad eden doğal bir ajan olduğu ortaya konmuştur. Ruskogenin mide ülserinde tedavi edici bir ajan olarak kullanılabilir olmakla birlikte bunun ileri klinik çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Eastwood GL. Is smoking still important in the pathogenesis of peptic ulcer disease? J Clin Gastroenterol. 1997;25 (Suppl 1):S1S7.
2. Hinder AR, Kelly AK, Sarr GM. Mayo Kliniği Gastrointestinal Sistem Cerrahisi (Çev: Erbil Y, Değerli Ü). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2004: s. 103-138.
3. Zakaria ZA, Abdul Hisam EE, Rofiee MS, Norhafizah M, Somchit MN, Teh LK, et al. In vivo antiulcer activity of the aqueous extract of Bauhinia purpurea leaf. J Ethnopharmacol. 2011 Sep 2;137(2):1047-54.
4. Prachland VK, Klingensmith ME. Stomach. In: Doherty BM, Lowney JK, Mason JE, Reznik SI, Smith MA, eds. The Washington Manual of Surgery. 3rd ed. Philedelphia: Lippincott William&Wilkins; 2002: p. 224-226.
5. Wallace JL, Granger DN. The cellular and molecular basis of gastric mucosal defense. FASEB. 1996; 10(7): 731–740.
6. Kang JW, Yun N, Han HJ, Kim JY, Kim JY, Lee SM. Protective Effect of Flos Lonicerae against Experimental Gastric Ulcers in Rats: Mechanisms of Antioxidant and Anti-Inflammatory Action. Evid Based Complement Alternat Med. 2014; 2014:596920.
7. Gloire G, Legrand-Poels S, Piette J. NF-κB activation by reactive oxygen species: fifteen years later. Biochemic Pharmacol. 2006;72(11):1493–1505.
8. Haghazali M, Molaei M, Mashayekhi R, Zojaji H, Pourhoseingholi MA, Shooshtarizadeh T, et al. Proinflammatory cytokines and thrombomodulin in patients with peptic ulcer disease and gastric cancer, infected with Helicobacter pylori. Indian J Pathol Microbiol. 2011 Jan-Mar;54(1):103-6.
9. Cameron JL. Güncel Cerrahi Tedavi (Çev: Ergüney S, Çiçek Y). İstanbul: Avrupa Tıp Kitapçılık; 2001: s. 77-85.
10. Doherty GM, Lawrence WW. Stomach and Duodenum. In: Lawrence WW, Doherty GM, eds. Current Surgical Diagnosis & Treatment. 11th ed. New York: Lange Medical Books/McGraw-Hill; 2003: p. 533-544.
11. Glasgow RE, Rollins MD. Stomach and duodenum. In: Norton JE, Barie PS, Bollinger RR, Chang AE, Lowry SF, Mulvihill SJ, Pass HI, Thompson RW, eds. Surgery: Basic Science and Clinical Evidence. New York: Springer Science+Business Media, LLC; 2008: p.841-874.
12. Wallace JL. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the gastrointestinal tract. Mechanisms of protection and healing: current knowledge and future research. Am J Med. 2001; 110(1A): 19S-23S.
13. Tarnawski AS, Ahluwalia A. Molecular mechanisms of epithelial regeneration and neovascularization during healing of gastric and esophageal ulcers. Curr Med Chem. 2012;19(1):16-27.
14. Huang YL, Kou JL, Ma L. Possible mechanism of the anti-inflammatory activity of ruscogenin: role of intercellular adhesion molecule-1 and nuclear factor-kappaB. J Pharmacol Sci. 2008 Oct;108(2):198-205.

15. Guan T, Liu Q, Qian Y. Ruscogenin reduces cerebral ischemic injury via NF-κB-mediated inflammatory pathway in the mouse model of experimental stroke. Eur J Pharmacol. 2013 Aug 15;714(1-3):303-11
16. Clemente CD. Gray's Anatomy. Philadelphia: LEA and FEBĐGER; 1984.
17. Kuran O. Sistematik Anatomi. İstanbul: Filiz Kitabevi; 1983.
18. Yıldırım M. İnsan Anatomisi. 1. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 1994: s.123-141.
19. Sayek İ. Temel Cerrahi. Cilt 1 II. Baskı. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 1996.
20. Değerli Ü. Cerrahi Gastroenteroloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 1989.
21. Hall JE, Guyton AC. Tıbbi Fizyoloji (Çev: Çağlayan Yeğen B, Alican İ, Solakoğlu Z. Textbook of Medical Physiology / 12. Edition). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2013.
22. Mihmanlı M. Mide kanseri ve cerrahi tedavisi. 2. Baskı. İstanbul: Avrupa Kitap Yayıncılık; 2006.
23. Tarhan ÖR. Mide Anatomisi. [Internet]. Available from: http://www.turkcerrahi.com/makaleler/mide/mide-anatomisi/
24. Skandalakis JE, Skandalakis PN, Skandalakis Lee J. Surgical Anatomy and Technique. New York: Springer-Verlag; 1995.
25. Moore KL, Agur AMR. Essential Clinical Anatomy. London: WWA Waverly Company; 1995: p. 98-101.
26. Arıcı K, Elhan A. Anatomi. 1. Cilt. Ankara: Güneş Kitabevi; 2001: p.241-245.
27. Dere F. Anatomi Atlası ve Ders Kitabı. II. Cilt. Adana: Nobel Tıp Kitabevi; 1999: p.881-894.
28. Williams PL, Warwick R, Dyson M, Bannister LH. Gray's Anatomy. 3th ed. London: Churchill Livingstone; 1989: p.1347-1375.
29. Sarıçam T. Mide Kanserlerinde Genişletilmiş Lenf nodu Diseksiyonunun Yeri. Uzmanlık Tezi, GATA Genel Cerrahi, Ankara, 1998.
30. Sandra A. Care Consepts in Embriology. New York: Lippingott-Raven Publishers; 1997: p.104-105.
31. Junqueira LC, Corneiro J. Basic Histology. 10th ed. USA: McGraw-Hill/Appleton & Lange; 2003: p. 299-307.
32. Odar İV. Anatomi Ders Kitabı. 12. Baskı. Ankara: Elif Matbaacılık; 1979: s. 280-285.
33. Moore KL, Persaud TVN, Torchia MG. The Developing Human: Clinically Oriented Embriology. 9th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2012: p. 215-219.
34. Özdamar S. Histoloji-Embriyoloji Ders Notları Sindirim Sistemi-Gelişimi ve Histolojisi. Kayseri: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları; 2002: s.1-90.
35. Seçkin İ, Ertürkoğlu Ş, Taşyürekli M. Özel Histoloji Ders Kitabı. İstanbul: İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, 2008.
36. Sadler TW. Longman's Medical Emriology. 7th ed. London: WWA Waverly Company; 1990: p.239-242.
37. Schoenwolf GC, Bleyl SB, Brauer PR, Francis-West PH. Larsen's Human Embryology. 4th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier; 2009: p.452-462.
38. Fuchs CS, Mayer RJ. Gastric carsinoma. N Engl J Med. 1995; 333: 32- 41.

39. Larsen W.J. Essentials of Human Embriology. 1th ed. NewYork/London/Tokyo: Churchill Livingstone; 1998: p.151-157
40. Debas HT. Gastrointestinal Surgery: Pathophysiology and Management. 1st. ed. NewYork: Springer; 2004.
41. Arey LB. Human Histology A Textbook in Outline Form. 4th ed. W.B. London: Saunders Company; 1974: p.216-229.
42. Çetin H. Sıçan Sindirim Kanalının Onkogenezisi ve Gastrin Hücreleri. Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 1997.
43. Fawcett DW, Jensh RP. A Textbook of Histology. 12th ed. London: Chapman Hall; 1994: p.599-615.
44. Kierszenbaum LK, Tres LL. Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology. 3rd ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2012: p.461-471.
45. Ross MH, Romrell LJ. Histology A Text and Atlas.2th ed. London: WWA Waverly Company; 1989: p. 424-430.
46. Ekinci N. Rattus Albinus'larda Abdominal Truncal Bilateral Vagotomi Sonrası Midenin Epitel ve Bez Hücrelerindeki Değişiklikler. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 1988.
47. Cormack DH. Clinically Integrated Histology. New York: Lippincott-Raven; 1998: p.192-196.
48. Grep RO, Weiss L. Histology. London: Mc Grow-Hill Book Company; 1973: p.565-575.
49. Öztürk F. Vagotomi Yapılan ve H2 reseptör Antagonisti Verilen Ratlarda Midede Gastrin ve Somatostatin Salgılayan Hücrelerde Oluşan Değişiklikler. Uzmanlık Tezi, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim dalı, Kayseri, 1991.
50. Seçkin İ. Genel Histoloji. İstanbul: İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, 2007.
51. Scott L Freidman, Keneth R McQuaid. Current Diagnosis and Treatment in Gastroenterology. Güneş kitabevi, Gönen, 2. baskı, 2007:323-25.
52. Spechler SJ. Peptic Ulcer Disease and Its Complications. In: Sleisenger and Fordtran's Gastrointestintestinal and Liver Disease, Ed by: Feldman M, Freidman LS, Sleisenger MH. 7th ed. Saunders Company, Philadephia 2002;1:747-781.
53. Kılıçarslan H, Kalyon S, Yenice N. Peptik Ülser Etyopatogenezi. Okmeydanı Tıp Dergisi. 2011; 27(2):65-69.
54. Khan MI, Khan MR. Gastroprotective potential of Dalbergia sissoo Roxb. stem bark against diclofenac-induced gastric damage in rats. Osong Public Health Res Perspect. 2013; (4): 271–277.
55. Grossman MI, Kurata JH, Rotter JI, Meyer JH, Robert A, Richardson CT. Peptic ulcer: new therapies, new diseases, Ann Intern Med. 1981;95(5):609-627.
56. Hu XT, Ding C, Zhou N, Xu C. Quercetin protects gastric epithelial cell from oxidative damage in vitro and in vivo. Eur J Pharmacol. 2015 May 5;754:115-24.
57. Chan FKL, Leung WK. Peptic Ulcer disease. Lancet. 2002; 360:933-41.

58. Dinçtürk C. Mide kanserinin prekürsörleri: Cerrahi Onkoloji Mide kanseri. Ankara: Türk Tarih Kurumu Basımevi; 1989: 63-69.
59. Sen S, Chakraborty R, De B, Mazumder J. Plants and phytochemicals for peptic ulcer: An overview. Phcog Rev. 2009;3:270-9.
60. Landeira-Fernandez J. Analysis of the cold-water restraint procedure in gastric ulceration and body temperature. Physiol Behav. 2004 Oct 15;82(5):827-33.
61. Drini M. Peptic ulcer disease and non-steroidal anti-inflammatory drugs. Australian Prescriber. 2017;40(3):91-93.
62. Okabe S, Amagase K. An overview of acetic acid ulcer models--the history and state of the art of peptic ulcer research. Biol Pharm Bull. 2005 Aug;28(8):1321-41.
63. Oates PJ, Hakkinen JP. Studies on the mechanism of ethanol-induced gastric damage in rats. Gastroenterology. 1988 Jan;94(1):10-21.
64. Man K, Thompson WN, Baron JH, Spencer JJ. Histamine and duodenal ulcer: Effect of omeprazole on gastric histamine in patients with duodenal ulcer. Gut. 1986; 27: 418-22.
65. Kagoshima M, Suguro N. Gastric movements and reserpine-induced ulcer in rats. Nihon Yakurigaku Zasshi. 1982 Sep;80(3):231-8.
66. LePard KJ, Stephens RL Jr. Serotonin inhibits gastric acid secretion through a 5-hydroxytryptamine1-like receptor in the rat. J Pharmacol Exp Ther. 1994 Sep;270(3):1139-44.
67. Ribeiro-Junior JA, Franchin M, Cavallini ME, Denny C, de Alencar SM, Ikegaki M, Rosalen PL. Gastroprotective Effect of Geopropolis from Melipona scutellaris Is Dependent on Production of Nitric Oxide and Prostaglandin. Evid Based Complement Alternat Med. 2015;2015:459846.
68. Shah DI, Santani DD, Goswami SS. A novel use of methylene blue as a pharmacological tool. J Pharmacol Toxicol Methods. 2006 Nov-Dec;54(3):273-7.
69. Ogino K, Hobara T, Kawamoto T, Kobayashi H, Iwamoto S, Oka S, Okazaki Y. Mechanism of diethyldithiocarbamate-induced gastric ulcer formation in the rat. Pharmacol Toxicol. 1990 Feb;66(2):133-7.
70. Wada K, Kamisaki Y, Kitano M, Kishimoto Y, Nakamoto K, Itoh T. A new gastric ulcer model induced by ischemia-reperfusion in the rat: role of leukocytes on ulceration in rat stomach. Life Sci. 1996;59(19):PL295-301.
71. Bedekovic V, Mise S, Anic T, Staresinic M, Gjurasin M, Kopljar M, Kalogjera L, Drvis P, Boban Blagaic A, Batelja L, Seiwerth S, Sikiric P. Different effect of antiulcer agents on rat cysteamine-induced duodenal ulcer after sialoadenectomy, but not gastrectomy. Eur J Pharmacol. 2003 Sep 5;477(1):73-80.
72. Amagase K, Okabe S. On the mechanisms underlying histamine induction of gastric mucosal lesions in rats with partial gastric vascular occlusion. J Pharmacol Sci. 2003 Jun;92(2):124-36.
73. Naito Y, Yoshikawa T, Yoneta T, Yagi N, Matsuyama K, Arai M, Tanigawa T, Kondo M. A new gastric ulcer model in rats produced by ferrous iron and ascorbic acid injection. Digestion. 1995;56(6):472-8.

74. Konturek PC, Brzozowski T, Kania J, Konturek SJ, Kwiecien S, Pajdo R, Hahn EG. Pioglitazone, a specific ligand of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma, accelerates gastric ulcer healing in rat. Eur J Pharmacol. 2003 Jul 11;472(3):213-20.
75. Nyarko AK, Asiedu-Gyekye IJ, Sittie AA. A Manual of Harmonised Procedures for Assessing the Safety, Efficacy and Quality of Plant Medicines in Ghana. Yemens Press, Accra, Ghana, 2005.
76. Meltzer AC, Winter LE, Kulie P, Benedict C, Lim K, Ishmukhamedov O, McCarthy ML. Treating Gastritis, Peptic Ulcer Disease, and Dyspepsia in the Emergency Department: The Feasibility and Patient-Reported Outcomes of Testing and Treating for Helicobacter pylori Infection. Ann Emerg Med. 2015 Aug;66(2):131-9.
77. Adinortey MB, Ansah C, Galyuon I, Nyarko A. In Vivo Models Used for Evaluation of Potential Antigastroduodenal Ulcer Agents. Ulcers. 2013.
78. Ohta Y, Nishida K. Protective effect of l -arginine against stress-induced gastric mucosal lesions in rats and its relation to nitric oxide-mediated inhibition of neutrophil infiltration. Pharmacol Res. 2001; 43(6): 535-541.
79. Limmer S, Ittel TH, Wietholtz H. [Secondary and primary prophylaxis of gastropathy associated with nonsteroidal antiinflammatory drugs or low-dose-aspirin: a review based on four clinical scenarios]. Z Gastroenterol. 2003 Aug;41(8):719-28.
80. Takagi K, Okabe S, Saziki R. A new method for the production of chronic gastric ulcer in rats and the effect of several drugs on its healing. Jpn J Pharmacol. 1969 Sep;19(3):418-26.
81. Okabe S, Pfeiffer CJ. Chronicity of acetic acid ulcer in the rat stomach. Am J Dig Dis. 1972 Jul;17(7):619-29.
82. Brito SA, de Almeida CLF, de Santana TI, da Silva Oliveira AR, do Nascimento, Figueiredo JCB, et al. Antiulcer Activity and Potential Mechanism of Action of the Leaves of Spondias mombin L. Oxid Med Cell Longev. 2018 Apr 26;2018:1731459.
83. Liu W, Yang M, Chen X, Li L, Zhou A, Chen S, You P, Liu Y. Mechanisms of Antiulcer Effect of an Active Ingredient Group of Modified Xiao Chaihu Decoction. Evid Based Complement Alternat Med. 2018 Apr 17;2018:5498698.
84. Okabe S, Roth JL, Pfeiffer CJ. Differential healing periods of the acetic acid ulcer model in rats and cats. Experientia. 1971 Feb 15;27(2):146-8.
85. Sener-Muratoğlu G, Paskaloğlu K, Arbak S, Hürdağ C, Ayanoğlu-Dülger G. Protective effect of famotidine, omeprazole, and melatonin against acetylsalicylic acid-induced gastric damage in rats. Dig Dis Sci. 2001 Feb;46(2):318-30.
86. Repetto MG, Llesuy SF. Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. Braz J Med Biol Res. 2002 May;35(5):523-34.
87. Marotta F, Tajiri H, Safran P, Fesce E, Ideo G. Ethanol-related gastric mucosal damage: evidence of a free radical-mediated mechanism and beneficial effect of oral supplementation with bionormalizer, a novel natural antioxidant. Digestion. 1999 Nov-Dec;60(6):538-43

88. Brzozowski T, Konturek PC, Konturek SJ, Kwiecién S, Pajdo R, Brzozowska I, Hahn EG. Involvement of endogenous cholecystokinin and somatostatin in gastroprotection induced by intraduodenal fat. J Clin Gastroenterol. 1998;27 Suppl 1:S125-37.
89. Bento EB, Júnior FEB, de Oliveira DR, Fernandes CN, de Araújo Delmondes G, Cesário FRAS, et al. Antiulcerogenic activity of the hydroalcoholic extract of leaves of Annona muricata Linnaeus in mice. Saudi J Biol Sci. 2018 May;25(4):609-621.
90. Cho CH, Pfeiffer CJ. Gastrointestinal ulceration in the guinea pig in response to dimaprit, histamine, and H1- and H2-blocking agents. Dig Dis Sci. 1981 Apr;26(4):306-11.
91. Singh S. Evaluation of gastric anti-ulcer activity of fixed oil of Ocimum basilicum Linn. and its possible mechanism of action. Indian J Exp Biol. 1999 Mar;37(3):253-7.
92. Pfeiffer CJ, Cho CH, Cheema A, Saltman D. Reserpine-induced gastric ulcers: protection by lysosomal stabilization due to zinc. Eur J Pharmacol. 1980 Feb;61(4):347-53.
93. Lomniczi A, Cebral E, Canteros G, McCann SM, Rettori V. Methylene blue inhibits the increase of inducible nitric oxide synthase activity induced by stress and lipopolysaccharide in the medial basal hypothalamus of rats. Neuroimmunomodulation. 2000;8(3):122-7.
94. Pfaffendorf M, Bruning TA, Batnik HD, van Zwieten PA. The interaction between methylene blue and the cholinergic system. Br J Pharmacol. 1997 Sep;122(1):95-8.
95. Salim AS. Protection against stress-induced acute gastric mucosal injury by free radical scavengers. Intensive Care Med. 1991;17(8):455-60.
96. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster J. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, Professional Edition. 8th Ed. Philedelphia: Saunders Elsevier, 2009: p.787–802.
97. Önen A, Kanay Z, Güzel C, Kurt D, Ceylan K. The effects of Allopurinol on stomach mucosal barrier of rats subjected to Ischemia-Reperfusion. Turk J Med Sci. 2000; 30: 449-452.
98. Minaiyan M, Ghannadi A, Salehi E. Antiulcerogenic Effect of Zataria multiflora Boiss. on Cysteamine Induced Duodenal Ulcer in Rats. Iran J Pharm Sci. 2005; 1(4): 223-229.
99. Konturek PC, Brzozowski T, Konturek SJ, Stachura J, Karczewska E, Pajdo R, Ghiara P, Hahn EG. Mouse model of Helicobacter pylori infection: studies of gastric function and ulcer healing. Aliment Pharmacol Ther. 1999 Mar;13(3):333-46.
100. Sharma P, Jha AB, Dubey RS, Pessarakli M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. J Botany. 2012; 2012: 217037.
101. Veskoukis AS, Tsatsakis AM, Kouretas D. Dietary oxidative stress and antioxidant defense with an emphasis on plant extract administration. Cell Stress & Chaperones. 2012;17(1):11-21.
102. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. 4. Oxford: Clarendon; 2007.
103. André-Lévigne D, Modarressi A, Pepper MS, Pittet-Cuénod B. Reactive oxygen species and nox enzymes are emerging as key players in cutaneous wound repair. Int J Molecul Science. 2017;18(10):2149.
104. Halliwell B. Oxidative stress and cancer: have we moved forward? Biochem. J 2007 Jan 1;401(1):1-11.

105. Jones DP. Redox theory of aging. Redox Biol. 2015; 5: 71–79.
106. Wells PG, McCallum GP, Chen CS, Henderson JT, Lee CJ, Perstin J, et al. Oxidative stress in developmental origins of disease: teratogenesis, neurodevelopmental deficits, and cancer. Toxicol Sci. 2009 Mar;108(1):4-18.
107. Chapple IL, Matthews JB. The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. Periodontol. 2000. 2007;43:160-232.
108. Wang Y, Andrukhov O, Rausch-Fan X. Oxidative Stress and Antioxidant System in Periodontitis. Frontiers in Physiology. 2017;8:910.
109. Bandyopadhyay D, Chattopadhyay A. Reactive oxygen species-induced gastric ulceration: protection by melatonin. Curr Med Chem. 2006;13(10):1187-202.
110. Laine L, Takeuchi K, Tarnawski A. Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside. Gastroenterology. 2008 Jul;135(1):41-60.
111. Bhattacharyya A, Chattopadhyay R, Mitra S, Crowe SE. Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. Physiol Rev. 2014 Apr;94(2):329-54.
112. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. Pharmacol Rev. 1991 Jun;43(2):109-42.
113. Rocha BS, Gago B, Barbosa RM, Lundberg JO, Radi R, Laranjinha J. Intragastric nitration by dietary nitrite: implications for modulation of protein and lipid signaling. Free Radic Biol Med. 2012 Feb 1;52(3):693-698.
114. Pereira C, Ferreira NR, Rocha BS, Barbosa RM, Laranjinha J. The redox interplay between nitrite and nitric oxide: From the gut to the brain. Redox Biol. 2013 May 9;1:276-84.
115. Rocha BS, Lundberg JO, Radi R, Laranjinha J. Role of nitrite, urate and pepsin in the gastroprotective effects of saliva. Redox Biol. 2016 Aug;8:407-14.
116. Lundberg JO, Weitzberg E, Gladwin MT. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. Nat Rev Drug Discov. 2008 Feb;7(2):156-67.
117. Davies GR, Simmonds NJ, Stevens TR, Sheaff MT, Banatvala N, Laurenson IF, Blake DR, Rampton DS. Helicobacter pylori stimulates antral mucosal reactive oxygen metabolite production in vivo. Gut. 1994 Feb;35(2):179-85.
118. Zhang QB, Dawodu JB, Husain A, Etolhi G, Gemmell CG, Russell RI. Association of antral mucosal levels of interleukin 8 and reactive oxygen radicals in patients infected with Helicobacter pylori. Clin Sci (Lond). 1997 Jan;92(1):69-73.
119. Suzuki H, Miura S, Imaeda H, Suzuki M, Han JY, Mori M, Fukumura D, Tsuchiya M, Ishii H. Enhanced levels of chemiluminescence and platelet activating factor in urease-positive gastric ulcers. Free Radic Biol Med. 1996;20(3):449-54.
120. Kawahara T, Kohjima M, Kuwano Y, Mino H, Teshima-Kondo S, Takeya R, Tsunawaki S, Wada A, Sumimoto H, Rokutan K. Helicobacter pylori lipopolysaccharide activates Rac1 and transcription of NADPH oxidase Nox1 and its organizer NOXO1 in guinea pig gastric mucosal cells. Am J Physiol Cell Physiol. 2005 Feb;288(2):C450-7.

121. Chu SH, Kim H, Seo JY, Lim JW, Mukaida N, Kim KH. Role of NF-kappaB and AP-1 on Helicobater pylori-induced IL-8 expression in AGS cells. Dig Dis Sci. 2003 Feb;48(2):257-65.
122. Keenan JI, Peterson RA 2nd, Hampton MB. NADPH oxidase involvement in the pathology of Helicobacter pylori infection. Free Radic Biol Med. 2005 May1;38(9):1188-96.
123. Bhattacharjee M, Bhattacharjee S, Gupta A, Banerjee RK. Critical role of an endogenous gastric peroxidase in controlling oxidative damage in H. pylori-mediated and nonmediated gastric ulcer. Free Radic Biol Med. 2002 Apr 15;32(8):731-43.
124. Gong M, Ling SS, Lui SY, Yeoh KG, Ho B. Helicobacter pylori gamma-glutamyl transpeptidase is a pathogenic factor in the development of peptic ulcer disease. Gastroenterology. 2010 Aug;139(2):564-73.
125. Calvino-Fernández M, Benito-Martínez S, Parra-Cid T. Oxidative stress by Helicobacter pylori causes apoptosis through mitochondrial pathway in gastric epithelial cells. Apoptosis. 2008 Oct;13(10):1267-80.
126. Lim JW, Kim H, Kim KH. NF-kappaB, inducible nitric oxide synthase and apoptosis by Helicobacter pylori infection. Free Radic Biol Med. 2001 Aug 1;31(3):355-66.
127. Gobert AP, McGee DJ, Akhtar M, Mendz GL, Newton JC, Cheng Y, Mobley HL, Wilson KT. Helicobacter pylori arginase inhibits nitric oxide production by eukaryotic cells: a strategy for bacterial survival. Proc Natl Acad Sci U S A. 2001 Nov 20;98(24):13844-9.
128. Nagata K, Yu H, Nishikawa M, Kashiba M, Nakamura A, Sato EF, Tamura T, Inoue M. Helicobacter pylori generates superoxide radicals and modulates nitric oxide metabolism. J Biol Chem. 1998 Jun 5;273(23):14071-3.
129. Elfvin A, Edebo A, Hallersund P, Casselbrant A, Fändriks L. Oxidative and nitrosative stress enzymes in relation to nitrotyrosine in Helicobacter pylori-infected humans. World J Gastrointest Pathophysiol. 2014 Aug 15;5(3):373-9.
130. Malfertheiner P, Chan FK, McColl KE. Peptic ulcer disease. Lancet. 2009 Oct 24;374(9699):1449-61.
131. Brzozowski T, Konturek PC, Konturek SJ, Brzozowska I, Pawlik T. Role of prostaglandins in gastroprotection and gastric adaptation. J Physiol Pharmacol. 2005 Sep;56 Suppl 5:33-55.
132. Yadav SK, Adhikary B, Chand S, Maity B, Bandyopadhyay SK, Chattopadhyay S. Molecular mechanism of indomethacin-induced gastropathy. Free Radic Biol Med. 2012 Apr 1;52(7):1175-87.
133. Pérez S, Taléns-Visconti R, Rius-Pérez S, Finamor I, Sastre J. Redox signaling in the gastrointestinal tract. Free Radic Biol Med. 2017 Mar;104:75-103.
134. Kuralay F, Çavdar Z. İnflamatuar medyatörlere toplu bir bakış. Genel Tıp Dergisi. 2006:16(3):143-152.
135. Mullington JM, Hinze-Selch D, Pollmavher T. Mediators of inflammation. Ann NY Acad Sci. 2001;933: 201-10.
136. Aghabeigi B. The pathophysiology of the pain. Br Dent J. 1992;173:91-97.

137. Park EJ, Barbul A. Understanding the role of immune regulation in wound healing. Am J Surg. 2004;187: 11S-6S.
138. Sessle BJ. New insights into peripheral chemical mediators of pain and inflammation. J Orofac Pain. 2001;15:1-5.
139. Capra C. Pharmacology and toxicology of some components of Ruscus aculeatus. Fitoterapia. 1972;43:99–113.
140. Yu BY, Xu GJ. Studies on resource utilization of Chinese drug Radix Ophiopogon japonicus. J Chin Herbs. 1995;26:205–210.
141. Facino RM, Carini M, Stefani R, Aldini G, Saibene L. Antielastase and anti-hyaluronidase activities of saponins and sapogenins from Hedera helix, Aesculus hippocastanum, and Ruscus aculeatus: factors contributing to their efficacy in the treatment of venous insufficiency. Archiv der Pharmazie. 1995;328:720–724.
142. MacKay D. Hemorrhoids and Varicose Veins: A Review of Treatment Options. 2001; 6(2): 126-140.
143. Song J, Kou J, Huang Y and Yu B. Ruscogenin mainly inhibits nuclear factor-kappaB but not Akt and mitogen-activated protein kinase signaling pathways in human umbilical vein endothelial cells. J Pharmacol Sci. 2010; 113: 409-413.
144. Ren DC, Du GH, Zhang JT. Inhibitory effect of the watersolubleextract of Salvia miltiorrhiza on neutrophil-endothelial adhesion. J Pharmacol Sci. 2002;90:276–280.
145. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. Nature. 1993;362:801–809
146. Frishman WH, Stephen TS, Moizuddin M. The use of Herbs For Treating Cardiovascular Disease. Seminars in Integrative Medicine. 2004; 2(1): 23-35.
147. Demirezer Ö. FFD Monograflari, Tedavide Kullanılan Bitkiler. 2.Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi, 2011.
148. de Vries RBM, Hooijmans CR, Langendam MW, van Luijk J, Leenaars M, Ritskes-Hoitinga M, et al. A protocol format for the preparation, registration and publication of systematic reviews of animal intervention studies. Evid Based Preclin Med. 2015; 2(1): 1–9.
149. Solmaz A, Sener G, Cetinel S, Yüksel M, Yeğen C, Yeğen BC. Protective and therapeutic effects of resveratrol on acetic acid-induced gastric ulcer. Free Radic Res. 2009 Jun;43(6):594-603.
150. Ozveri, ES, Bozkurt A, Haklar G, Cetinel S, Arbak S, Yeğen C, et al.. Estrogens ameliorate remote organ inflammation induced by burn injury in rats. Inflamm Res. 2001; 50:585-591.
151. Farzaei MH, Abdollahi M, Rahimi R. Role of dietary polyphenols in the management of peptic ulcer. WJG. 2015;21(21):6499-6517.
152. Farzaei MH, Rahimi R, Abdollahi M. The role of dietary polyphenols in the management of inflammatory bowel disease. Curr Pharm Biotechnol. 2015;16:196–210.
153. Farzaei MH, Abbasabadi Z, Shams-Ardekani MR, Abdollahi M, Rahimi R. A comprehensive review of plants and their active constituents with wound healing activity in traditional Iranian medicine. Wounds. 2014;26:197–206.

154. Balica G, Vostinaru O, Tamas M, Crisan G, Mogosan C. Anti-inflammatory effect of the crude steroidal saponin from the rhizomes of Ruscus aculeatus L. (Ruscaceae) in two rat models of acute inflammation. J Food Agric Environ. 2013; 11: 106-108.
155. Guvenc A, Satir E, Coskun M. Determination of ruscogenin in Turkish Ruscus L. species by UPLC. Chromatographia. 2007; 66: S141–S145.
156. Rudofsky G. Improving venous tone and capillary sealing. Effect of a combination of Ruscus extract and hesperidine methyl chalcone in healthy probands in heat stress. Fortschr Med. 1989; 107: 52, 55–58.
157. Cluzan RV, Alliot F, Ghabboun S, Pascot M. Treatment of secondary lymphedema of the upper limb with CYCLO 3 FORT. Lymphology. 1996; 29: 29–35.
158. Bouaziz N, Michiels C, Janssens D, Berna N, Eliaers F, Panconi E, Remacle J. Effect of Ruscus extract and hesperidin methylchalcone on hypoxia-induced activation of endothelial cells. Int Angiol. 1999; 18: 306–312.
159. Hadzifejzovic N, Kukic-Markovic J, Petrovic S, Sokovic M, Glamoclija J, Stojkovic D, Nahrstedt A. Bioactivity of the extracts and compounds of Ruscus aculeatus L. and Ruscus hypoglossum L. Ind Crops Prod 2013; 49:407–411.
160. Di Lazzaro A, Morana A, Schiraldi C,Martino A, Ponzone C, De RosaM. An enzymatic process for the production of the pharmacologically active glycoside desglucodesrhamnoruscin from Ruscus aculeatus L. J Mol Catal B Enzym. 2001; 11: 307–314.
161. Vecchi Brumatti L, Marcuzzi A, Tricarico PM, Zanin V, Girardelli M, Bianco AM. Curcumin and inflammatory bowel disease: potential and limits of innovative treatments. Molecules. 2014; 19: 21127-21153.
162. Sharma AV, Ganguly K, Paul S, Maulik N, Swarnakar S. Curcumin heals indomethacin-induced gastric ulceration by stimulation of angiogenesis and restitution of collagen fibers via VEGF and MMP-2 mediated signaling. Antioxid Redox Signal 2012; 16: 351-362.
163. Nielsen MJ, Karsdal MA. Chapter 3 - Type III Collagen. In: Morten A. Karsdal, eds. Biochemistry of Collagens, Laminins and Elastin. London UK; Academic Press, 2016: p. 21-30.
164. Liu J, Chen T, Yu B, Xu Q. Ruscogenin glycoside (Lm-3) isolated from Liriope muscari inhibits lymphocyte adhesion to extracellular matrix. J Pharm Pharmacol. 2002 Jul;54(7):959-65.

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı: Rümeysa İlbar Tartar

Doğum yeri ve tarihi: İstanbul, 23.02.1985

Uyruğu: TC

Medeni durumu: Evli

İletişim adresi ve telefonu: rumeysa.ilbar@gmail.com

(0532)6612056

Yabancı dili: İngilizce (Nisan 2018 YDS: 86,25)

II- Eğitimi (tarih sırasına göre yeniden eskiye doğru)

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi (2003-2009)

Beşiktaş Atatürk Anadolu Lisesi (1996-2003)

Ahmet Vefikpaşa İlköğretim Okulu (1991-1996)

III- Ünvanları (tarih sırasına göre eskiden yeniye doğru)

IV- Mesleki Deneyimi

SBÜ İstanbul Bağcılar SUAM 2012- Halen Genel Cerrahi Asistan Doktor

Siirt Merkez 2 No'lu Sağlık Ocağı Pratisyen Hekim 2009 Eylül- 2009 Kasım

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

VI- Bilimsel İlgi Alanları

Yayınları: (Ulusal ya da uluslararası makale, bildiri, poster, kitap/kitap bölümü vb.)

1- Evaluation of Prophylactic and Therapeutic Effects of Ruscogenin on Acute Radiation Proctitis: An Experimental Rat Model
Erkan Yavuz , Onur Olgac Karagulle , Gulcin Ercan , Atilla Celik, Hakan Yigitbas , Busra Yaprak Bayrak , Rumeysa Tartar , Ramazan Kusaslan , Yuksel Altinel , Osman Bilgin Gulcicek

Annals of Surgical Treatment and Research 2018;94(4):174-182

https://doi.org/10.4174/astr.2018.94.4.174

VII- Bilimsel Etkinlikleri

Aldığı burslar

Ödüller

Projeleri

Verdiği konferans ya da seminerler

Katıldığı paneller (panelist olarak)

VIII- Diğer Bilgiler

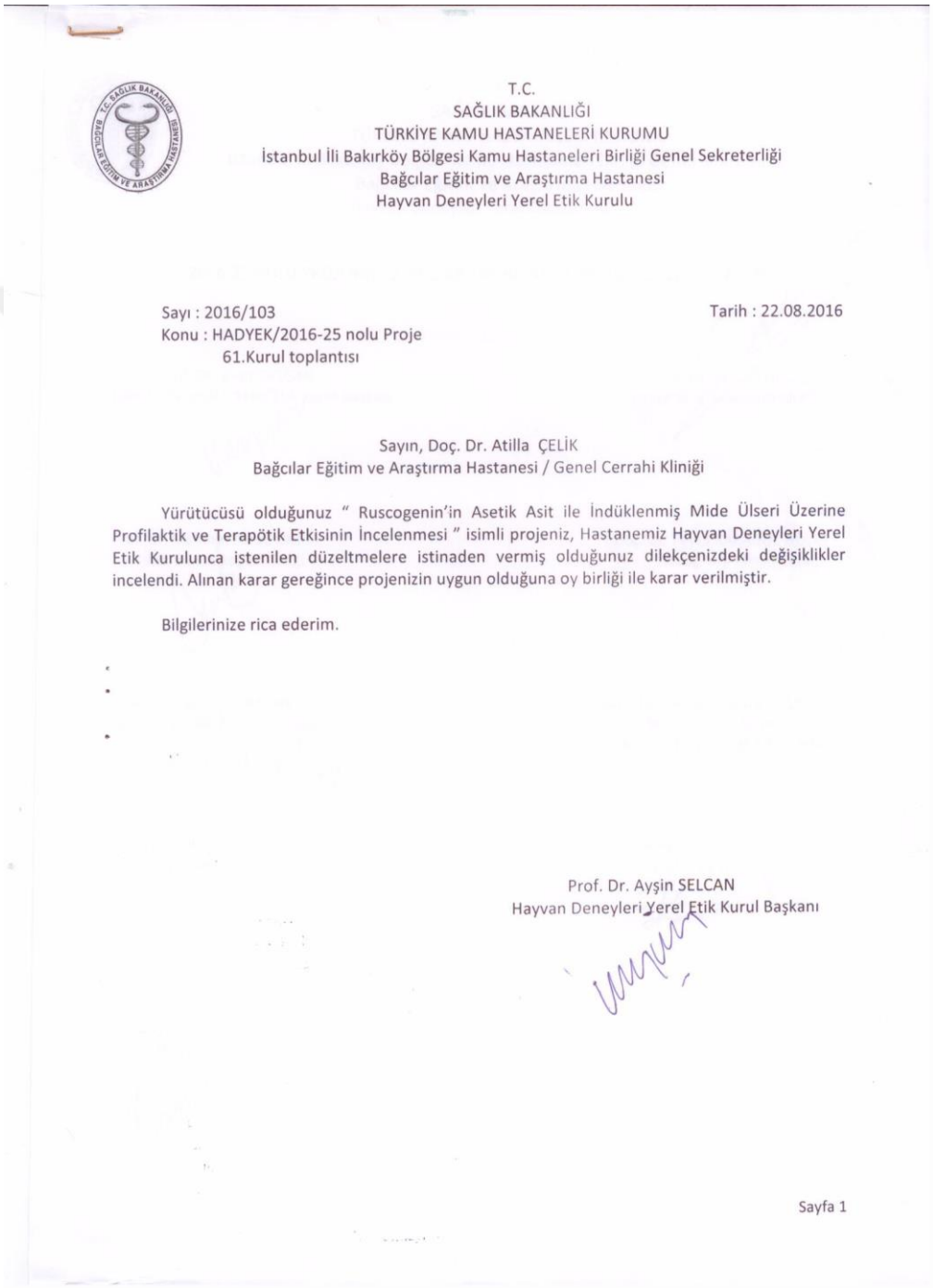
Eğitim programı haricinde aldığı kurslar ve katıldığı eğitim seminerleri

Organizasyonunda katkıda bulunduğu bilimsel toplantılar

Diğer üyelikleri

EKLER

EK 1. ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU
İstanbul İli Bakırköy Bölgesi Kamu Hastaneleri Birliği Genel Sekreterliği
Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : 2016/103 Tarih : 22.08.2016
Konu : HADYEK/2016-25 nolu Proje
61.Kurul toplantısı

Sayın, Doç. Dr. Atilla ÇELİK
Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi / Genel Cerrahi Kliniği

Yürütücüsü olduğunuz " Ruscogenin'in Asetik Asit ile İndüklenmiş Mide Ülseri Üzerine Profilaktik ve Terapötik Etkisinin İncelenmesi " isimli projeniz, Hastanemiz Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunca istenilen düzeltmelere istinaden vermiş olduğunuz dilekçenizdeki değişiklikler incelendi. Alınan karar gereğince projenizin uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinize rica ederim.

Prof. Dr. Ayşin SELCAN
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

Sayfa 1

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU
İstanbul İli Bakırköy Bölgesi Kamu Hastaneleri Birliği Genel Sekreterliği
Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

2016-25 NOLU PROJENİN 22.08.2016 TARİHLİ VE 61. KURUL TOPLANTI KARARI

Prof. Dr. Ayşin SELCAN
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

Prof. Dr. M. Akif GÜLEÇ
Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği

Prof. Dr. Mehmet Faruk OKTAY
Kulak Burun Boğaz Kliniği

Doç. Dr. Feyza KARAGÖZ GÜZEY
Nöroşirurji Kliniği (izinli)

Doç. Dr. Berk ÖZKAYNAK
Kardiyovasküler Cerrahi Kliniği

Uzm. Dr. Osman Bilgin GÜLÇİÇEK
Genel Cerrahi Kliniği
(Bu proje görüşülürken katılmadı)

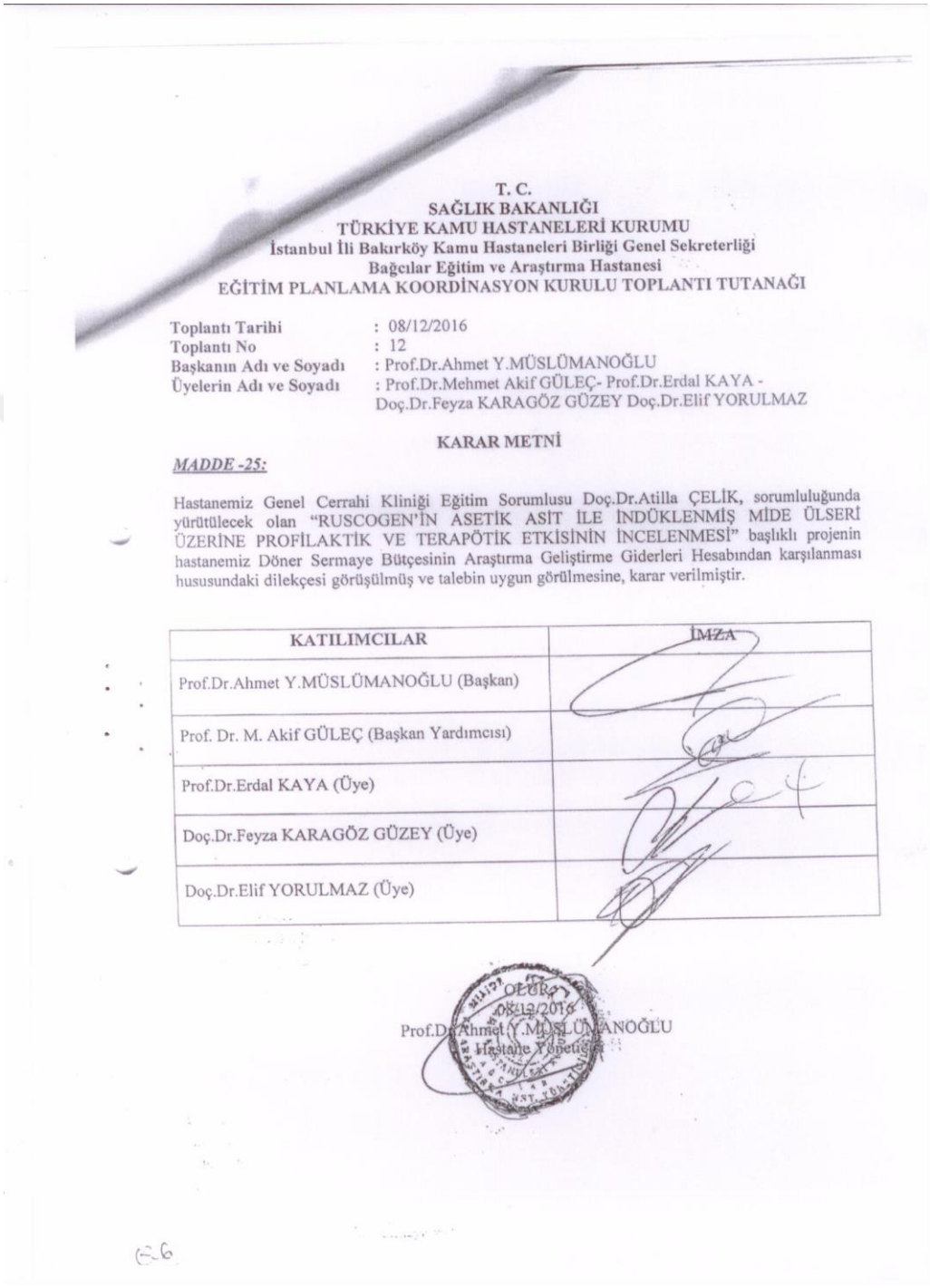
Duygu Sultan ÇELİK
Veteriner Hekim

Kadir TECİRLİ
Sivil Toplum Örgütü Üyesi

Ayşe AY
Sivil Bir Üye

Sayfa 2

EK 2. TIPTA UZMANLIK EĞİTİM KOMİSYONU PROJE BÜTÇE ONAY FORMU



T. C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU
İstanbul İli Bakırköy Kamu Hastaneleri Birliği Genel Sekreterliği
Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi
EĞİTİM PLANLAMA KOORDİNASYON KURULU TOPLANTI TUTANAĞI

Toplantı Tarihi : 08/12/2016
Toplantı No : 12
Başkanın Adı ve Soyadı : Prof.Dr.Ahmet Y.MÜSLÜMANOĞLU
Üyelerin Adı ve Soyadı : Prof.Dr.Mehmet Akif GÜLEÇ- Prof.Dr.Erdal KAYA - Doç.Dr.Feyza KARAGÖZ GÜZEY Doç.Dr.Elif YORULMAZ

KARAR METNİ

MADDE -25:

Hastanemiz Genel Cerrahi Kliniği Eğitim Sorumlusu Doç.Dr.Atilla ÇELİK, sorumluluğunda yürütülecek olan "RUSCOGEN'İN ASETİK ASİT İLE İNDÜKLENMİŞ MİDE ÜLSERİ ÜZERİNE PROFİLAKTİK VE TERAPÖTİK ETKİSİNİN İNCELENMESİ" başlıklı projenin hastanemiz Döner Sermaye Bütçesinin Araştırma Geliştirme Giderleri Hesabından karşılanması hususundaki dilekçesi görüşülmüş ve talebin uygun görülmesine, karar verilmiştir.

KATILIMCILAR	İMZA
Prof.Dr.Ahmet Y.MÜSLÜMANOĞLU (Başkan)	
Prof. Dr. M. Akif GÜLEÇ (Başkan Yardımcısı)	
Prof.Dr.Erdal KAYA (Üye)	
Doç.Dr.Feyza KARAGÖZ GÜZEY (Üye)	
Doç.Dr.Elif YORULMAZ (Üye)	

OLUR
08/12/2016
Prof.Dr.Ahmet Y.MÜSLÜMANOĞLU
Hastane Yönetici