



**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA GELİŞEN STRES ÜLSERİNİ ÖNLEMEDE
CAFFEIC ACID PHENETHYL ESTER'İN ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. BİRCAN SAVRAN

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. UĞUR KOLTUKSUZ

DENİZLİ-2009



**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA GELİŞEN STRES ÜLSERİNİ ÖNLEMEDE
CAFFEIC ACID PHENETHYL ESTER'İN ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. BİRCAN SAVRAN

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. UĞUR KOLTUKSUZ

DENİZLİ-2009

Prof.Dr.Uğur KOLTUKSUZ'un danışmanlığında Dr. Bircan SAVRAN tarafından yapılan "Sıçanlarda Gelişen Stres Ülserini Önlemede Caffeic Acid Phenethyl Ester'in Etkileri" başlıklı çalışma jürimiz tarafından Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalında TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Akile BÜKE

Akile Buke

Üye : Prof.Dr.Uğur KOLTUKSUZ

Uğur Koltuksuz

Üye : Doç.Dr.Özkan HEREK

Özkan Herek

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım.

30/06/2009

Prof. Dr. Cümeyt Orhan KARA
Tıp Fakültesi Dekan V.

Cümeyt Orhan Kara



TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bana her konuda yol gösteren ve destekleyen, tez çalışmasını birlikte yürüttüğüm tez danışmanı hocam sayın Prof. Dr. Uğur KOLTUKSUZ'a, eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım hocalarım sayın Prof. Dr. Akile SARIOĞLU BÜKE'ye, Doç. Dr. Özkan HEREK'e ve Yrd. Doç. Dr. Nergül ÇÖRDÜK'e teşekkür ederim.

Tez çalışmamın biyokimyasal değerlendirmelerinde yardımlarını esirgemeyen Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Bünyamin KAPTANOĞLU, Dr. Koray KORKMAZCAN ve Dr. Mahmut ŞENYURT'a, patolojik değerlendirmelerinde bilgilerinden yararlandığım Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Neşe ÇALLI DEMİRKAN'a, istatistiksel değerlendirmelerinde destek olan Halk Sağlığı Uzmanı Dr. Nurhan MEYDAN ACIMIŞ'a, laboratuvar çalışmalarımda yardımcı olan Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı'ndan Veteriner Hekim Barbaros ŞAHİN'e teşekkür ederim.

Ayrıca dünyaya geliş vesilelerim olan çok değerli annem ve babama, bugünlere gelmemde sayısız fedakârlıklar gösteren ablalarım, uzmanlık eğitimim süresince her türlü sıkıntılı zamanımda bana destek olan sevgi dolu eşim Saniye SAVRAN'a ve bana yaşattığı güzelliklerden dolayı biricik kızım Esra SAVRAN'a teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

Sayfa No

GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER.....	2
MİDENİN EMBRİYOLOJİSİ.....	2
MİDENİN ANATOMİSİ.....	2
MİDENİN HİSTOLOJİSİ.....	4
MİDE MUKOZASININ ÖZELLİKLERİ.....	5
AKUT GASTRİT, GASTRİK ÜLSER VE STRES ÜLSERİ.....	6
STRES ÜLSERİ PROFİLAKSİSİ.....	9
CAFFEİC ACİD PHENETHYL ESTER.....	10
SERBEST RADİKALLER.....	12
GEREÇ VE YÖNTEM.....	19
BULGULAR.....	26
TARTIŞMA.....	39
SONUÇLAR.....	51
ÖZET.....	52
YABANCI DİL ÖZETİ.....	54
KAYNAKLAR.....	56



TABLULAR ÇİZELGESİ

Sayfa No

Tablo – 1	Serbest radikaller.....	13
Tablo – 2	Serbest radikallerin kaynakları.....	15
Tablo – 3	Mukozal hasarın skorlanması.....	22
Tablo – 4	Deneklerin çalışma öncesi ve sonrasında vücut ağırlıkları.....	27
Tablo – 5	Grupların ortalama ülser indeksleri.....	30
Tablo – 6	İnhibisyon yüzdesi ve CAPE'in etkinlik düzeyi.....	31
Tablo – 7	Mukozal hasarın gruplar içindeki dağılımı.....	34
Tablo – 8	Gruplardaki doku MDA ve ortalama MDA değerleri.....	35
Tablo – 9	Gruplardaki eritrosit CAT ve ortalama CAT değerleri.....	36
Tablo – 10	Gruplardaki NO ve ortalama NO değerleri.....	37



ŞEKİLLER ÇİZELGESİ

Sayfa No

Şekil – 1	Midenin anatomik ve histolojik bölümleri.....	5
Şekil – 2	Normal mide mukozası.....	6
Şekil – 3	Stres ülseri ve akut gastrik mukozal hasar.....	8
Şekil – 4	CAPE'in kimyasal yapısı.....	10
Şekil – 5	Serbest radikaller ve lipid peroksidasyonu.....	16
Şekil – 6	İpek flasterle sabitlenen deneklerin görünümü.....	20
Şekil – 7	Çıkarılan bir denek midesinin görünümü.....	21
Şekil – 8	Nitrat kalibrasyon eğrisi.....	24
Şekil – 9	Stres grubundaki bir deneğin mide görünümü.....	28
Şekil – 10	CAPE grubundaki bir deneğin mide görünümü.....	29
Şekil – 11	Kontrol grubundaki bir deneğin mide görünümü.....	29
Şekil – 12	Stres grubu. H&E ile boyama X 100 büyütme.....	32
Şekil – 13	CAPE grubu. H&E ile boyama X 100 büyütme.....	32
Şekil – 14	Kontrol grubu. H&E ile boyama X 100 büyütme.....	33
Şekil – 15	Gruplardaki ortalama MDA değerleri.....	38
Şekil – 16	Gruplardaki ortalama CAT değerleri.....	38
Şekil – 17	Gruplardaki ortalama NO değerleri.....	38



KISALTMALAR

PG	:	prostoglandin
PPI	:	proton pompa inhibitörü
NSAİİ	:	nonsteroid antiinflamatuvar ilaç
CAPE	:	caffeic acid phenethyl ester
PGÜ	:	primer gastrik ülser
SGÜ	:	sekonder gastrik ülser
SOR	:	serbest oksijen radikali
NF-kB	:	nükleer transkripsiyon faktörü kappa B
COX-1	:	siklooksijenaz-1
COX-2	:	siklooksijenaz-2
XA	:	ksantin oksidaz
NO	:	nitrik oksid
NOS	:	nitrik oksid sentaz
iNOS	:	inducible-indüklenebilir nitrik oksid sentaz
cNOS	:	constitutive-yapısal nitrik oksid sentaz
ONOO	:	peroksinitrit
CAT	:	katalaz
GSH-Px	:	glutasyon peroksidaz
İP	:	intraperitoneal
Üİ	:	ülser indeksi
MDA	:	malondialdehit
TBA	:	tiobarbitürik asit
IL-1 β	:	interlökin 1 beta
TNF- α	:	tümör nekrotizan faktör alfa



GİRİŞ

Stres; pek çok hastalığa zemin hazırlayan önemli bir faktördür. Stresin neden olduğu hastalıklardan birisi de stres ülseridir. Stres ülseri; yanık, travma, sepsis, büyük ameliyat ve şok gibi kritik durumlardan sonra ortaya çıkan, genellikle midenin korpus kısmında yer alan ve yaygın kanamalarla seyredabilen klinik bir durumdur (1). Bu gibi stres faktörü olan durumlarda mide mukozasında yüzeysel erozyon veya muskularis mukozaya kadar uzanabilen derin lezyonlar görülebilmektedir.

Stres ülserinin etyolojisine yönelik yapılan ilk çalışmalarda, beyin-bağırsak peptitleri, gastrik asit sekresyonunun artması, mukus ve bikarbonat yapımının azalması, mukozal prostoglandin sentezinin azalması gibi nedenlerin sorumlu olduğu ileri sürülmüştür (2-6). İlerleyen dönemlerde yapılan çalışmalarda ise gastrik mukozal hasar ve kanamaların etyolojisinde oksidatif stres ve inflamasyonun majör etkenlerden biri olduğu gösterilmiştir (7-10). Stres esnasında mide mukozasında nötrofil infiltrasyonu geliştiği, nitrik oksid salınımı ile vaküler konjesyon oluştuğu belirtilmiştir. Ayrıca gastrik mukozal damarlarda iskemi-reperfüzyonla oksijen radikali oluşumunun arttığı saptanmıştır. Artan bu radikallerin lipid peroksidasyonu ile gastrik mukozada doku hasarına neden oldukları gösterilmiştir (1,9-11).

Caffeic acid phenethyl ester; bal arılarının kovanlarını korumak ve peteklerini sağlamlaştırmak için kullandıkları propoliste bulunan antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklere sahip bir ajandır (12,13). Caffeic acid phenethyl ester'in serbest oksijen radikallerini süpürücü etkisiyle doku hasarını önlediği, insan nötrofillerinde reaktif oksijen radikallerini bloke ederek ve lipid peroksidasyonunu engelleyerek antioksidan özellik gösterdiği birçok çalışmada gösterilmiştir (13-16). Yapılan diğer çalışmalarda caffeic acid phenethyl ester'in proinflamatuvar sitokinleri azaltarak antiinflamatuvar etkisinin olduğu gösterilmiştir (17,18).

Bu çalışmada, antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri olan caffeic acid phenethyl ester'in strese bağlı gelişen gastrik ülser oluşumunu önlemedeki etkilerini araştırdık.



GENEL BİLGİLER

MİDENİN EMBRİYOLOJİSİ

Embriyoda primitif bağırsak üç bölümde incelenmektedir: *Pre-enteron*, *mesenteron* ve *metenteron*. *Pre-enteron*'un distal yapısı başlangıçta basit bir tüp şeklindedir. Mide, gestasyonun dördüncü haftasının ortalarında *pre-enteron*'da beliren küçük bir dilatasyondan oluşur. Önce iğ biçiminde olan bu dilatasyon orta hatta ve *pre-enteron*'un kaudalindedir. Bu yapı kısa süre içerisinde ventrodorsale doğru genişler. Bunu izleyen iki hafta boyunca primitif midenin dorsal kenarı daha hızlı büyüyerek *curvatura ventriculi major*'u oluşturur. Mide gelişip büyürken uzun eksenini etrafında, saat yönünde 90 derecelik bir dönüş yapar. Daha sonra *curvatura ventriculi minor* sağa, *curvatura ventriculi major* de sola geçer. Rotasyondan önce midenin kranial ve kaudal uçları orta hattadır. Gelişmesi ve rotasyonu boyunca midenin kranial bölgesi sola ve biraz aşağıya, kaudal bölgesi sağa ve yukarı hareket eder. Mide J harfi şeklindeki karakteristik şeklini gestasyonun yedinci haftasında tamamlar (19).

MİDENİN ANATOMİSİ

Mide; karın boşluğunun yukarı kısmında, diyafragmanın altında, transvers kolon ve onun mezosunun üstünde bulunur. Sindirim kanalının en geniş kısmıdır ve özofagus ile duodenum arasında yer alır. Sol hipokondriumun tamamını ve epigastrik bölgenin büyük bir kısmını kaplar. Anatomik olarak *cardia*, *fundus gastricus*, *corpus gastricum* ve *pylorus* olmak üzere dört bölümden oluşur (20).

Midenin bölümleri ve komşulukları

Midenin *cardia*, *fundus gastricus*, *corpus gastricum* ve *pylorus* olarak adlandırılan dört parçası, *paries anterior* ve *paries posterior* olmak üzere iki yüzü; *curvatura minor* ve *curvatura major* olarak adlandırılan iki kenarı vardır.

Cardia; ince tarafı yukarı, geniş tarafı aşağı doğru olan ve huniye benzeyen bir parçadır. Yukarıda özofagusa, aşağıda ise *fundus gastricus*'a açılır (*ostium cardiacum*). *Cardia* ile karın arka duvarı arasında abdominal aorta ve vertebral kolon



bulunur. Özofagusun son kısmı ile *fundus gastricus* arasında *incisura cardiaca* adı verilen derin çentik bulunmaktadır.

Fundus gastricus; *incisura cardiaca*'dan enine çekilen bir çizginin üstünde kalan mide kısmına *fundus gastricus* adı verilir. *Fundus gastricus*, diafragmanın alt yüzü ile komşudur ve içinde hava bulunur.

Corpus gastricum; *incisura cardiaca*'dan çekilen enine çizgi ile *curvatura minör*'de bulunan *incisura angularis*'ten çekilen enine çizgi arasında kalan mide bölümüdür. Midenin en büyük ve en çok genişleyebilen kısmıdır.

Pylorus; *incisura angularis*'ten çekilen enine çizgi altında kalan ve yatay durumda olan mide kısmıdır. Bu kısım *corpus gastricum*'a göre daha dar ve duvarları daha kalındır. *Pylorus* iki parçaya ayrılır. Geniş olan proksimal parçaya *antrum pyloricum* adı verilir. Dar, kalın duvarlı ve kısa bir boru şeklinde olan, duvarında *musculus sphincter pyloricus* bulunan distal parçaya ise *canalis pyloricus* adı verilir.

Paries anterior; öne yukarı doğru bakar ve periton ile örtülüdür. Karaciğerin alt yüzü ve diyafragmanın alt yüzü ile komşuluk yapar.

Paries posterior; aşağı arkaya bakar. *Paries anterior*'a göre daha dardır ve periton ile örtülüdür. *Paries posterior* bursa omentalisin ön duvarını yapar. Diyafragma, dalak, pankreas, sol sürrenal bez, sol böbrek ve daha aşağıda transvers kolon mezosu ile komşuluk yapar.

Curvatura minör; midenin sağ kenarı adını da alan bu bölge *ostium cardiacum*'dan *pylorus*'a kadar uzanır.

Curvatura major; solda kardiyoözofageal bileşke ile *pylorus* arasında uzanır ve aynı zamanda midenin sol kenarıdır. Kardiyoözofageal bileşke ile arasında *incisura cardiaca* adı verilen bir çentik vardır (Şekil - 1).



MİDENİN HİSTOLOJİSİ

Mide histolojik olarak beş bölüme ayrılır (21).

1. Tunica mucosa

Gastrik mukozada, değişik uzunluklarda *epithelium* hücreleri bulunmaktadır. Bunlar *lamina propria mucosa* içine uzanarak *foveola gastricae*'ları oluştururlar. *Lamina propria mucosa* gevşek bağ dokusundan oluşmuştur. İçinde düz kas hücreleri ve lenfoid hücreler serpilmiş olarak bulunur. *Tunica mucosa*, altındaki *tela submucosa*'dan *lamina muscularis mucosa* ile ayrılır.

2. Tela submucosa

Bol miktarda lenfosit, eozinofilik lökosit, mast hücresi içeren; damardan zengin olan ve elastisitesi fazla gevşek bağ dokusudur. Büyük kan ve lenf damarlarıyla birlikte sinir pleksusu (Meissner) bulunur.

3. Tunica muscularis

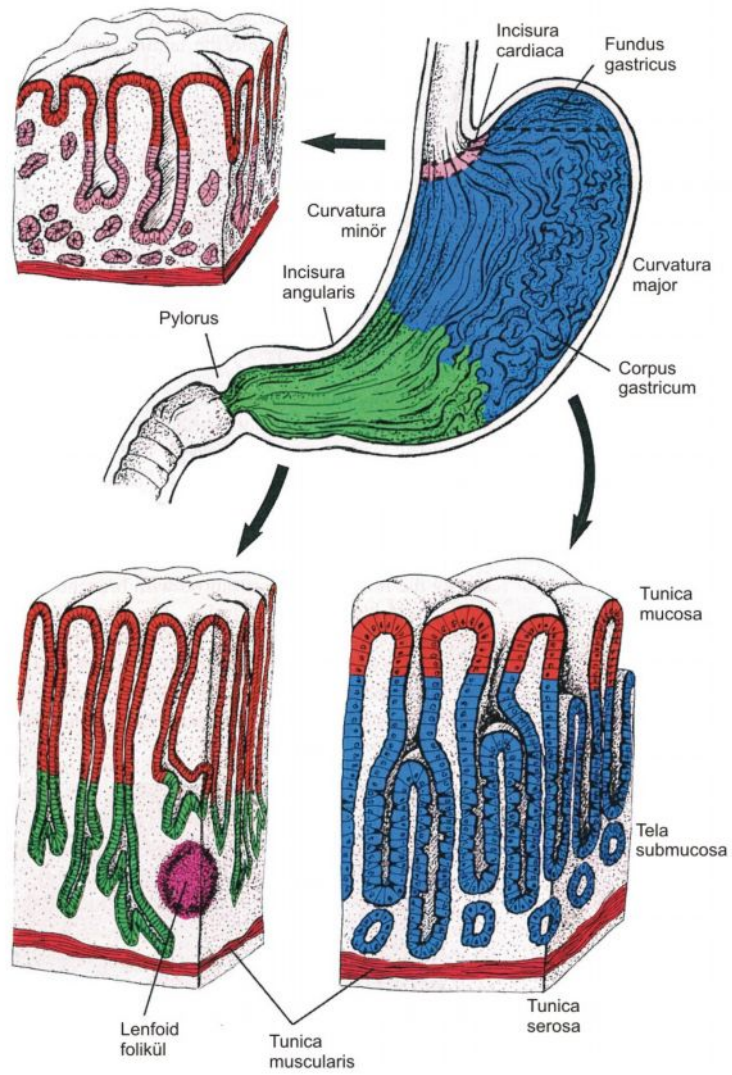
Dışta *stratum longitudinale*, içte *stratum circulare* olmak üzere iki düz kas tabakası içermektedir. Bunlar özofagustaki kasların devamıdır. *Stratum circulare*, *pylorus* bölgesinde kalınlaşarak *sphincter pyloricus*'u oluşturur. *Stratum longitudinale* ve *circulare*'de parasempatik sinir hücreleri ve fibrilleri bulunur.

4. Tela subserosa

Tunica serosa ile komşuluk gösteren ve gevşek bağ dokusundan oluşan tabakadır.

5. Tunica serosa

Visseral periton yaprağı olup, ince gevşek bağ dokusundan oluşur. Üzerini yassı mezotel hücreleri döşemektedir (Şekil - 1).



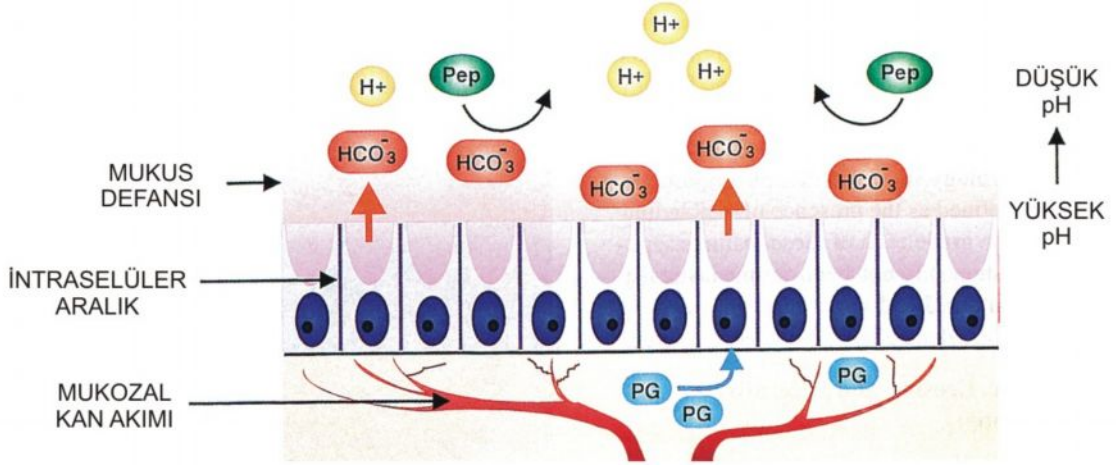
Şekil – 1. Midenin anatomik ve histolojik bölümleri.

MİDE MUKOZASININ ÖZELLİKLERİ

Mide mukozası sürekli olarak asidik sekresyona maruz kalmasına rağmen bazı koruyucu faktörlerle hasara uğramaktan korunmuş olur (22).

Mide mukozasının koruyucu faktörleri;

- Mukus içerisine bikarbonat sekresyonu
- Aktif yüzey fosfolipidleri
- Kan akımı
- Hızlı hücre yenilenmesi
- Prostaglandin (PG) (Şekil – 2)



Şekil – 2. Normal mide mukozası.

Mide mukozasına hasar veren başlıca etkenler ise şunlardır;

- Serbest oksijen radikalleri (SOR)
- Mide asidi
- Helikobakter pilori

AKUT GASTRİT, GASTRİK ÜLSER VE STRES ÜLSERİ

1. Akut gastrit

Midenin *tunica mucosa*'sında gelişen akut inflamatuvar bir süreçtir. İnflamasyonla birlikte *tunica mucosa* içinde kanama olabilir. Daha ağır durumlarda ise mukozanın epiteli kaybedilebilir.

Akut gastrit sıklıkla aşağıdaki faktörlerle ilişkilidir;

- Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ)'in kullanımı
- Kemoterapi ajanları
- Sistemik enfeksiyonlar
- Ağır stres (travma, yanık, cerrahi)
- İskemi ve şok
- Mekanik travma (nazogastrik sonda gibi)
- Yoğun alkol ve sigara kullanımı
- Üremi



Etken kısa süreli olursa, akut gastrit günler içerisinde iyileşir ve midenin mukoza tabakası tamamen normal hale gelir (23).

2. Gastrik ülser

Gastrik ülser; midenin *tunica mucosa*'sında meydana gelen ve *lamina muscularis mucosa*'ya, *tela submucosa*'ya ve hatta daha derine kadar uzanabilen ülseratif lezyonlar olarak tanımlanır. Mide mukozasının inflamasyonu, mukozaya hasar veren etkenlerle, koruyucu dinamikler arasındaki dengenin bozulmasına bağlıdır. Bu dengenin bozulması ile birlikte hasarın derecesine göre akut gastrit veya daha ileri bir lezyon olan ülser gelişir (23).

2.1. Gastrik ülser çeşitleri

Gastrik ülserler primer ve sekonder olarak iki grupta incelenebilir. Sekonder gastrik ülserler ise genellikle akut olup midede yerleşirler.

2.1.1. Primer gastrik ülser

Primer gastrik ülser (PGÜ)'de; altta yatan herhangi bir sistemik hastalık yoktur. İnfant dönemden sonra daha sık görülür ve genellikle kronik seyir gösterir. PGÜ, midede daha nadir olmakla birlikte büyük oranda duodenumda yerleşim gösterir. PGÜ, *Helicobacter pylori* enfeksiyonu ile birliktelik gösterir (24). Çocukluk yaş grubunda geçmişe göre endoskopinin daha sık uygulanması ile PGÜ sıklığı artmaktadır. PGÜ oluşumunda genetik faktörler önem taşımaktadır. Hastaların %20-30'unda en azından ebeveynin birisinde ülser mevcuttur. Monozigotik ikizlerde konkordans %50 olup, 'O' kan grubu ve HLA-B₅ fenotipinde de PGÜ riski artmıştır. PGÜ'li hastalarda emosyonel stres oranı %40 civarında bildirilmektedir (24-26).

2.1.2. Sekonder gastrik ülser

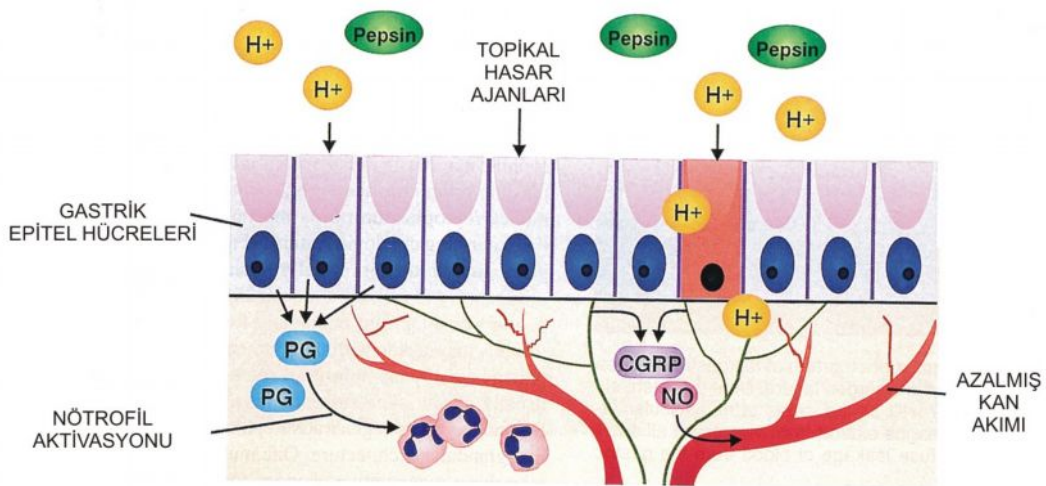
Sekonder gastrik ülser (SGÜ)'de; altta yatan ikincil bir neden ya da hastalık mevcuttur. En sık görülen nedenleri stres ve ilaçlar, özellikle de NSAİİ'dir. Kistik fibrozis, siroz, böbrek yetmezliği, kollajen ve vasküler hastalıklar gibi bazı sistemik hastalıklarda SGÜ sıklığı artmıştır (26,27).

2.1.2.1. Stres ülseri

Stres ülseri; hastanede yatan kritik çocuk veya yetişkin hastalarda oldukça sık görülen bir tablodur. İnfant ve adolesan çağında görülen ülserlerin %80'i bu grupta yer alır. Stres ülserine yatkınlık sağlayan nedenler infantlarda sıklıkla şok, perinatal asfiksi, travmatik doğum ve sepsis iken; daha büyük çocuklarda ise kazalar, cerrahi girişimler, kafa travmaları (Cushing ülseri), yanıklar (Curling ülseri), sepsis, renal yetmezlik ve vaskülitlerdir (23,26).

Stres ülserleri daha çok midenin korpus ve fundus bölümünde, genellikle çok sayıda yüzeysel ve geniş hemorajik erozyonlar şeklinde görülürler. Bazen de mukozal peteşiler tarzında olabilirler. Makroskopik olarak çevre normal mukozadan keskin sınırlar ile ayrılırlar.

Stres ülserinde genel olarak gastrik mukozal hasar söz konusudur. Strese bağlı ortaya çıkan topikal hasar ajanları (özellikle de serbest radikaller), gastrik epitel hücrelerinden PG'lerin salınmasına, bu da nötrofil aktivasyonuna neden olmaktadır. Ayrıca mukozal damarlarda meydana gelen iskemiye sekonder olarak salınan vazodilatör etkili, oksidan özellikli nitrik oksid (NO) salınımının artış gösterdiği ve vasküler konjesyon oluştuğu belirlenmiştir (Şekil – 3).



Şekil – 3. Stres ülseri ve akut gastrik mukozal hasar.



2.1.2.2. İlaç ilişkili ülserler

Pek çok ilaç mukozal inflamasyon ve ülser nedeni olabilir. Çocuklarda sık kullanılan NSAİİ ve aspirin, ilaca bağlı gelişen ülserlerden sıklıkla sorumlu ajanlardır. Bu ilaçlar mukus glikoproteinlerinin yapısını bozup PG sentezini azaltarak mukus-bikarbonat engelini zayıflatırlar. Böylece asit-peptik aktivitenin mukozaya daha kolay ulaşmasını sağlar.

2.1.2.3. Diğer sekonder gastrik ülser nedenleri

SGÜ oluşturan diğer nedenler arasında Zollinger-Ellison sendromu, Chron hastalığı, kistik fibrozis ve orak hücreli anemi sayılabilir (27).

STRES ÜLSERİ PROFİLAKSİSİ

Stres ülserin gelişimini önlemek veya komplikasyonlarını azaltmak amacıyla klinik olarak antiasidler, antikolinerjikler, H₂-reseptör antagonistleri, sukralfat ve proton pompa inhibitörleri (PPI) gibi ajanlar kullanılmaktadır. İntravenöz olarak verilen H₂ reseptör antagonistleri; gastrik pH'yı artırır. Ancak zamanla bu etkiye tolerans geliştiği görülmüştür. Bunun yanında bu ajanların bazı nörolojik yan etkilerinin ortaya çıktığı gözlenmiştir. Sukralfat; gastrik pH'yı artırmadan gastrik mukozayı koruyabilen bir ajandır. Fakat ağız yoluyla kullanılan bazı ilaçlarla etkileştiği görülmüştür. Antiasidlerin, gastrointestinal kanama riskini düşürdüğü, buna karşın diğer ajanlara göre stres ülser üzerine daha az etkin olduğu görülmüştür (28,29).

Son yıllarda yapılan klinik çalışmalarda omeprazol, lansoprazol ve pantoprazol gibi PPI'nin, özellikle yoğun bakım ünitelerinde tedavi gören mekanik ventilasyon altındaki hastalarda stres ülseri profilaksisinde oldukça yararlı olduğu gösterilmiştir. Bu ajanlardan lansoprazol'un diğerlerine göre daha etkili olduğu görülmüştür. Parietal hücrelerdeki H⁺, K⁺-ATP'azı inhibe ederek etki gösteren lansoprazol'un ek olarak antioksidan etkisi olduğu bildirilmiştir (30). Klinik olarak kullanılan ajanların stres ülser gelişimini engellemede istenen yeterlilikte olmaması üzerine birçok deneysel çalışma yapılmıştır ve halen yapılmaya devam edilmektedir.

CAFFEIC ACID PHENETHYL ESTER (CAPE)

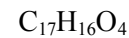
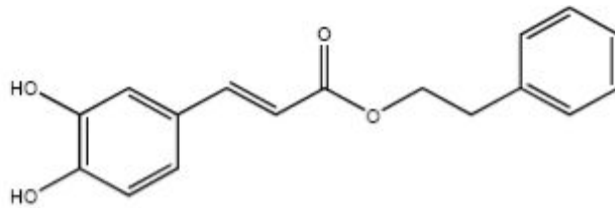
1. Propolis ve CAPE

Propolis; bal arılarının yüksek yapılı bitkilerden topladığı koyu sarı renkli ve yapışkan bir maddedir. Bal arıları bu maddeyi kovan giriş deliklerinde, kırık ve çatlak alanlarda ve peteklerini sağlamlaştırmak için kullanırlar. Bu değerli arı ürünü insanlar tarafından çok eski zamanlardan beri bilinmektedir. Mısırlılar tarafından M.Ö. III. yy'da bazı hastalıkların tedavi edilmesinde ve ölümlerin mumyalanmasında kullanılmıştır. İtalyanların 17. yy'da antik eşyalarda kullandıkları belirtilmektedir. Propolis yaylı sazlarda parlatici olarak ve akordiyonların tamirinde de kullanılmıştır. Yaşadığımız yüzyılda ise pek çok alanda halen kullanılmaktadır (31).

Propolis antibakteriyel, antiviral, immünomodülatör, antiinflamatuvar, antikanserojenik ve antioksidan özelliklere sahiptir (32). Propolis yapısında yirmiden fazla doğal madde içermektedir. Aminoasitler, fenoleik asitler, fenoleik asit esterleri, flavanoidler, galangin, cynamic acid, terpenes ve CAPE bu maddelerden sadece birkaç tanesidir (33). Propolis'in mevcut etkilerinden sorumlu asıl madde CAPE'dir. Fakat CAPE'in etkilerinin moleküler mekanizması tam olarak açıklanamamıştır (34).

2. CAPE'in kimyasal yapısı

Yapıca flavanoidlere benzeyen CAPE, iki tane halkasal yapı içeren kimyasal bir bileşendir. Halkalardan biri molekülün antioksidan özelliklerini belirleyen iki adet hidroksil grubu taşır (Şekil - 4). Bu hidroksil grupları aktif bir şekilde elektron alıp veren redoks özellikleri gösterir. Çok uzun alifatik ve aromatik özellikli C grupları taşıyan CAPE lipofilik özelliği sayesinde vücuttaki membran yapılarını rahat bir şekilde geçer ve etki edeceği bölgeye kolaylıkla ulaşır (13).



Şekil - 4. CAPE'in kimyasal yapısı.



3. CAPE'in antioksidan özellikleri

CAPE'in antioksidan etkisi, serbest oksijen radikallerini (SOR) azaltmasına bağlıdır. Bunu, nötrofillerde ksantin oksidaz'ı (XO) inhibe ederek ve doza bağlı SOR toplayıcı özelliği ile gerçekleştirir. Bileşiklerin SOR toplayıcı aktivitesi, taşıdıkları hidroksil gruplarının sayısı ile ve diğer hidrojen veren gruplarının varlığı ile artar. İyi bilinen antioksidanlardan askorbik asid'e eşit, α -tokoferol'den daha güçlü serbest radikal toplayıcı etkisi vardır. CAPE'in güçlü bir antioksidan olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (16,31,33,35-37).

Ayrıca SOR, güçlü kemotaktik potansiyelleri ile IL 1, IL 6, TNF- α gibi çeşitli inflamatuvar mediyatörlerin oluşumunu ve serbestleşmesini uyarırlar. Bu mediyatörler dokuda nötrofil infiltrasyonuna neden olurlar. CAPE burada SOR toplayıcı etkisiyle birlikte, nötrofil birikimini ve sistemik inflamatuvar mediyatörlerin serbestleşmesini engellemektedir (18,37).

4. CAPE'in antiinflamatuvar özellikleri

CAPE antiinflamatuvar etkisini, lipooksijenaz ve siklooksijenaz (COX) yoldaki enzimlerin inhibisyonuyla gösterir. Lipooksijenaz yolda nükleer transkripsiyon faktörü kapp B (NF-kB)'yi inhibe ederek araşidonik asidin supresyonuyla antiinflamatuvar etki gösterir. NF-kB, immün ve inflamatuvar olayların düzenlenmesinde ve hücre yaşamında çok önemli role sahip bir transkripsiyon faktörüdür. İnaktif formda stoplazmada bulunur. Sitokinler, nörotransmitterler ve SOR, NF-kB'yı aktive ederler. NF-kB; sitokinlerin, proteazların, adezyon moleküllerinin ve diğer inflamatuvar mediyatörlerin ekspresyonunu uyarır (13,34). Siklooksijenaz yolda ise; CAPE siklooksijenaz-1 (COX-1) ve siklooksijenaz-2 (COX-2)'nin enzim aktivitesini suprese eder ve COX-2 gen ekspresyonunun aktivasyonunu inhibe eder. Böylece hücre membranlarından araşidonik asidin serbestleşmesi inhibe ederek PG sentezini azaltır (17,30,34,35,38,39).

5. CAPE'in diğer etkileri

CAPE'in yukarıda sayılan etkilerinin yanında antineoplastik, antiproliferatif ve immünomodülatör etkileri de gösterilmiştir. CAPE'in tümör hücrelerine sitotoksik



olduğu, normal hücreler üzerinde ise böyle bir etkisinin bulunmadığı bildirilmiştir (40,41). CAPE transforme keratinositlerin proliferasyonunu inhibe ettiği için hiperproliferatif deri hastalıklarının tedavisi için de önerilmiştir (42). Güçlü bir NF-kB inhibitörü olan CAPE'in karaciğerde Ito hücrelerinde apoptozise neden olarak kollajen sentezi ve proliferasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (43).

SERBEST RADİKALLER

1. Serbest radikaller ve çeşitleri

Orbitalinde bir veya daha fazla çiftlenmemiş elektron taşıyan klor ve brom gibi halojen atomlar, hidrojen (H) atomu, sodyum ve potasyum gibi alkali atomları, oksijen redüksiyon ara ürünleri olan süperoksid (O_2^-), hidrojen peroksid (H_2O_2), hidroksil (OH) gibi kısa ömürlü reaktif atomlar serbest radikaller olarak tanımlanırlar (44).

Serbest radikaller, oksijen merkezli olanlar ve olmayanlar şeklinde ikiye ayrılabilirler. Süperoksid (O_2^-) ve hidroksil (OH^-) radikalleri SOR olarak sınıflandırılırlar. Sülfür merkezli bir radikal olan glutatyon radikali (GS^-), karbon merkezli başka bir radikal olan triklorometil (CCl_3) ve nitrik oksid (NO) ise başlıca diğer serbest radikalleri oluştururlar.

Radikal metabolitleri, aslında aerobik organizmaların kaçınılmaz bileşikleri olup hücrelerde kontrollü kullanımları ile bir dizi enzimin sentezi ve birçok organizmanın antibakteriyel savunmasında önemlidirler. Antioksidanlar, radikal reaksiyonlarını kontrol ederek belli bir düzeyin üstüne çıkmasını engellerler. Canlıda serbest radikal miktarı, bunu nötralize edecek antioksidan komponentlerinden fazla olursa, hücrelerde geri dönüşümsüz hasar meydana gelir (44,45). Sık karşılaşılan serbest radikaller Tablo - 1' de gösterilmiştir.



Tablo - 1: Serbest radikaller

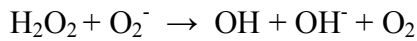
SERBEST RADİKALLER	KISALTMALAR
Hidrojen	(H)
Süperoksid	(O ₂ ⁻)
Hidroksil	(OH ⁻)
Hidrojen peroksid	(H ₂ O ₂)
Singlet oksijen	(O ⁻)
Perhidroksi radikali	(HO ⁻)
Peroksi radikali	(ROO ⁻)
Thyl radikali	(RS ⁻)
Nitrik oksid	(NO)

1.1. Serbest oksijen radikalleri (SOR)

Biyolojik sistemdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir ve SOR olarak adlandırılırlar. SOR en fazla elektron transferi sonucu meydana gelirler.

1.1.1. Süperoksid radikali

Aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu serbest süperoksid radikali (O₂⁻) meydana gelir. Kuvvetli reaktif olmayıp esas kaynağı mitokondridir. Süperoksid, H₂O₂ ile 'Haber-Weiss' tepkimesi vererek en reaktif ve toksik radikal olan hidroksil radikalini (OH⁻) oluşturur (46).

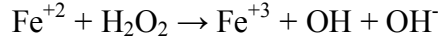


Aerobik organizmalar, kolay okside olabilen bileşiklerin süperoksid ile reaksiyona girmesini engellemek için süperoksid dismutaz enzimini (SOD), hidrojen peroksidi yok etmek amacı ile de, katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimlerini kullanırlar (44).

1.1.2. Hidroksil radikali



Biyomoleküllerde kuvvetli reaktivitesine bağlı olarak hidroksil radikali (OH) diğer SOR'ne göre biyolojik sistemlere daha fazla hasar verme yeteneğindedir. Hücrenin hemen hemen her molekülüyle reaksiyona girebilir. Hızla nükleus ve mitokondri DNA'sını, membran lipidlerini ve karbonhidratları hasara uğratar. Hidroksil radikali, hidrojen peroksidin geçiş metallere varlığında 'Fenton reaksiyonu' ile indirgenerek meydana gelir (46).



Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda hidroksil radikali oluşabilir. Son derece reaktif bir oksidan olan bu radikalın yarı ömrü çok kısadır ve ciddi hasara neden olur.

1.1.3. Hidrojen peroksid

Hidrojen peroksid (H_2O_2) membranlardan kolayca geçebilen uzun ömürlü bir oksidandır (46). Kendisi bir serbest radikal olmadığı halde, süperoksid ile reaksiyona girerek, en reaktif ve zarar verici SOR olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir.

1.2. Diğer serbest radikaller

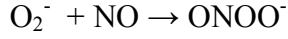
SOR'nin etkisi sonucu karbon merkezli radikaller (R^\cdot), peroksi radikalleri (ROO^\cdot), alkoksi radikalleri (RO^\cdot), thyl radikalleri (RS^\cdot) ve nitrik oksid (NO) gibi serbest radikaller meydana gelir (45).

1.2.1. Nitrik oksid (NO)

NO hem fizyolojik, hem de patofizyolojik süreçlerde önemli role sahip bir serbest radikaldir. NO, nitrik oksid sentaz (NOS) ile L-arjininden enzimatik olarak sentezlenir. NOS'un iki formu; constitutive-yapısal NOS (cNOS) ve inducible-indüklenebilir NOS (iNOS)'dır. NO, süperoksid gibi kolayca reaksiyona girmez. NO, alkoksi ve peroksi radikalleri gibi diğer serbest radikallerle reaksiyona girerek daha az reaktif moleküller üretir (46). NO'in süperoksid ile reaksiyona girmesi



sonucu ise peroksinitrit (ONOO^-) oluşur. ONOO^- anyonu reaktif nitroksi türlerinin (RNOS) bir örneğidir. RNOS güçlü bir oksidandır.



NO, damar endotel hücreleri tarafından sentezlenir. Damar endotel hücreleri ayrıca O_2^- ve H_2O_2 de serbestleştirirler. NO ve onun türevleri damar düz kas relaksasyonu yaparken, O_2^- vazokonstrüktör etki gösterir.

2. Serbest radikallerin kaynakları

Serbest radikallerin kaynakları Tablo - 2'de gösterilmiştir (44,45).

Tablo - 2: Serbest radikallerin kaynakları

Serbest radikallerin biyolojik kaynakları	Serbest radikallerin intraselüler kaynakları
Antineoplastik ajanlar (nitrofurantoin, bleomisin)	Küçük moleküllerin otooksidasyonu (katekolaminler, flavinler)
Radyasyon	Enzimler ve proteinler (XO, hemoglobin)
Alkol ve uyuşturucular	Mitokondriyal elektron transportu
Çevresel ajanlar (hava kirliliği, sigara, CCl_4 , pestisitler)	Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri
Stres	Peroksizomlar (lipooksijenaz, fagositlerde NADPH)
	Oksidatif stres yapıcı durumlar (iskemi, travma)

3. Serbest radikallerin etkileri

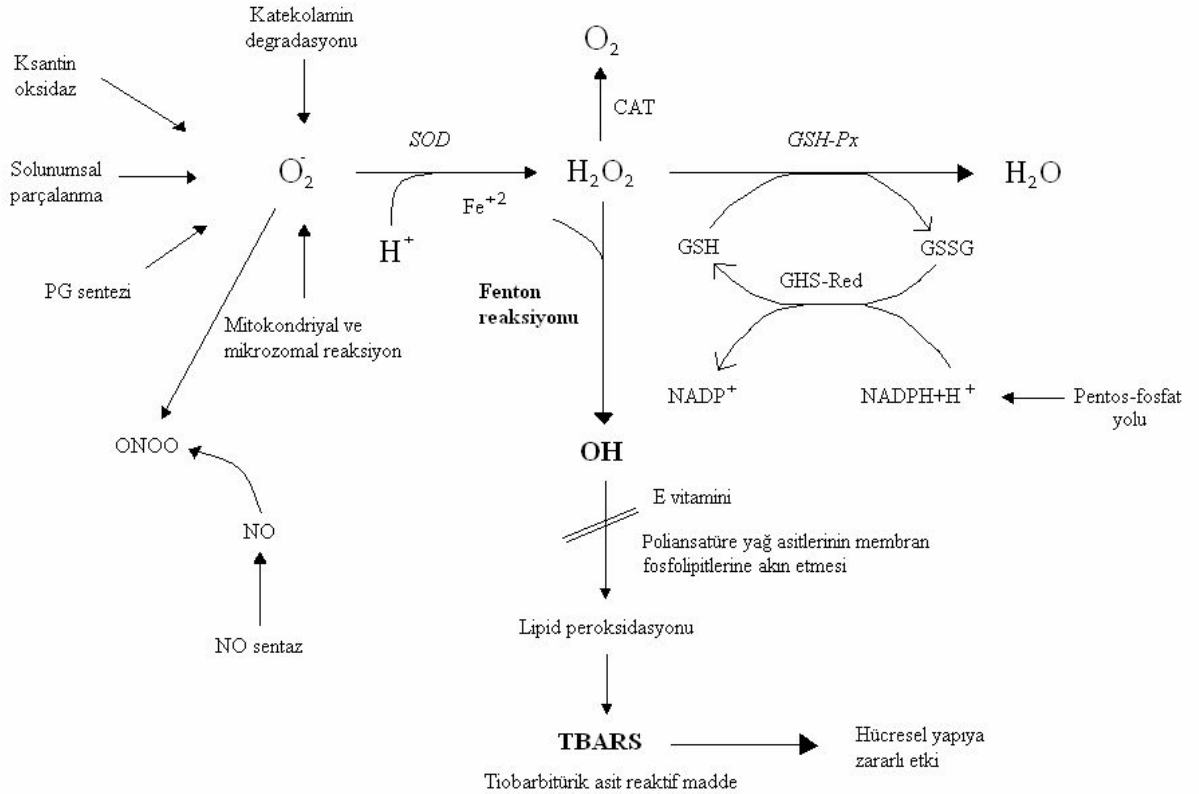
Serbest radikaller, bütün aerobik organizmalar tarafından sürekli oluşturulurlar. Savunma sisteminin koruyucu etkisini aşacak şekilde fazla yapılmaları halinde, bazı zararlı etkiler meydana gelebilir. Serbest radikaller oldukça reaktif olduklarından organizmada potansiyel olarak toksik, mutajenik ve karsinojeniktirler. Hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat, enzim gibi tüm önemli bileşenlerine etki ederler (44-46).

4. Oksidatif stres

Serbest radikaller ve reaktif karakterli maddeler ile bu maddeleri üreten tüm faktörler oksidan olarak tanımlanır. Oksidan-antioksidan dengenin oksidan lehine bozulması 'oksidatif stres' durumunu ortaya çıkarır. Bu durum antioksidanların azalması ya da SOR miktarının artması ile meydana gelir (44,45).

5. Lipid peroksidasyonu ve malondialdehit

Lipid peroksidasyonu, serbest radikaller tarafından başlatılan ve zar yapısındaki yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren kimyasal bir olaydır (Şekil - 5). Olay otokatalitik olarak bir kez başladığında zincirleme olarak devam eder. Lipid peroksidasyonu, lipid peroksitlerin aldehitler, hidrokarbonlar ve hidroperoksitler gibi istenmeyen ürünlere dönüşmesi ile sona ermektedir. Lipid radikaller yüksek derecede sitotoksik ürünlere de dönüşebilir. Bunlar arasında en çok bilinen ürün aldehit grubundan malondialdehit'tir (MDA). Lipid hidroperoksitlerinde tiobarbitürik asit reaktif maddesi (TBARS) aracılığıyla MDA ölçümü, lipid peroksidasyonu ve oksidatif stresin bir göstergesi olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (47,48).



Şekil - 5: Serbest radikaller ve lipid peroksidasyonu (46,47).



6. Antioksidan savunma sistemi

Hücrelerde oksidatif hasarı önleyen bazı mekanizmalar vardır.

6.1. Doğal antioksidanlar

6.1.1. Süperoksid dismutaz (SOD)

Süperoksidin hidrojen peroksid ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. Hücrede süperoksid düzeyini kontrol etmede önemli rol oynar (45).

6.1.2. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)

Hidrojen peroksid veya lipid peroksidlerinin indirgenmesinde görev yapmaktadır. Hidrojen peroksid GSH-Px ile oksijen ve suya parçalanır. GSH-Px eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidanlardan biridir (45).

6.1.3. Katalaz (CAT)

CAT enzimi kan, kemik iliği, karaciğer ve böbrekte yüksek miktarlarda bulunmaktadır. Eritrositler yüksek oranda CAT içerirler ve CAT aktivitesinin %98'den fazlasını sağlar. Bir molekül CAT, insan vücudunda bir dakikada yaklaşık olarak 5 milyon hidrojen peroksid molekülünü su ve oksijene dönüştürür (45). CAT, GSH-Px ile birlikte en kuvvetli antioksidanlardan biri olarak kabul edilmektedir.

6.1.4. Mitokondrial sitokrom oksidaz

Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz, mitokondrial elektron transport zincirinde üretilen reaktif oksijen metabolitlerini detoksifiye eder (44).

6.2. Enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri

6.2.1. Metal iyonlarını etkisizleştiren antioksidanlar

Demir bağlayan ve bakır bağlayan bileşikler, Hem proteinleri bu grupta yer alırlar (46). Örnek olarak transferrin, laktoferrin, ferritin, seruloplazmin, albumin, hemoglobin, haptoglobulin, hemopeksin verilebilir.



6.2.2. Düşük molekül ağırlıklı antioksidanlar

Bu grupta *invivo* ortamda sentezlenebilen ürik asit, ubikinon (koenzim Q), bilirubin, melatonin, lipoik asit, melaninler, histidin içeren dipeptitler ve tiyol içeren glutatyon, N-asetilsistein, metiyonin, kaptopril vardır (46).

6.2.3. Diyetle alınan düşük molekül ağırlıklı antioksidanlar

E vitamini ve analogları, daha önce Şekil-5'te gösterildiği gibi lipid peroksidasyon zincirini kırmaktadır. Süperoksid ve hidroksil radikali tutucusu olan C vitamini, E vitaminini rejenere etmektedir. Ek olarak A vitamini peroksiller üzerine doğrudan antioksidan etki göstermektedir (45,46).

6.2.4. İlaçlar

Sitokinler, mannitol, demir şelatörleri, barbitüratlar, indapamid, H₂ reseptör blokörleri, XO inhibitörleri olan allopürinol ve oksipürinol gibi bazı ilaçların antioksidan etkileri olduğu gösterilmiştir (45,46).



GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Pamukale Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu Başkanlığı'nın 2007/09 sayılı izni ile Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne bağlı Deneysel Hayvan Yetiştirme ve Araştırma Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

1. Deney grupları

Çalışmada aynı laboratuvarda üretilen ve ağırlıkları 178-241 gram arasında değişen, yaşları 4-5 aylık toplam 30 adet Wistar Albino türü sıçan kullanıldı. Sıçanlar 3 gruba ayrıldı:

1. Grup (Kontrol grubu): Bu gruptaki 10 adet sıçan kontrol grubunu oluşturdu.
2. Grup (Stres grubu): Bu gruptaki 10 adet sıçana stres uygulandı ve stresten 3 gün öncesinden itibaren intraperitoneal (İP) yolla serum fizyolojik (SF) verildi.
3. Grup (CAPE grubu): Bu gruptaki 10 adet sıçana stres uygulandı ve stresten 3 gün öncesinden itibaren İP yolla CAPE verildi.

2. Stres ülseri modeli

Bu çalışmada “sıçanlarda soğukta immobilizasyon ile stres ülseri modeli” kullanıldı (49,50). Stres ülseri modeli uygulanan stres grubu ve CAPE grubu deneklerinin deneyden 72 saat önce standart sıçan yemi ile beslenmeleri kesilip sadece su içmelerine izin verildi. Kaprofajiyi önlemek için kafes içine tel altlıklar yerleştirildi. Eter anestezisi uygulanan sıçanlar, boyutlarına uygun olarak hazırlanmış 30 x 50 cm'lik tahta zemin üzerine yatırılıp dört ekstremitelerinden ipek flaster yardımıyla sabitlendi (Şekil - 6). Ardından 4 saat süreyle +4 °C'lik ortamda bırakıldı.



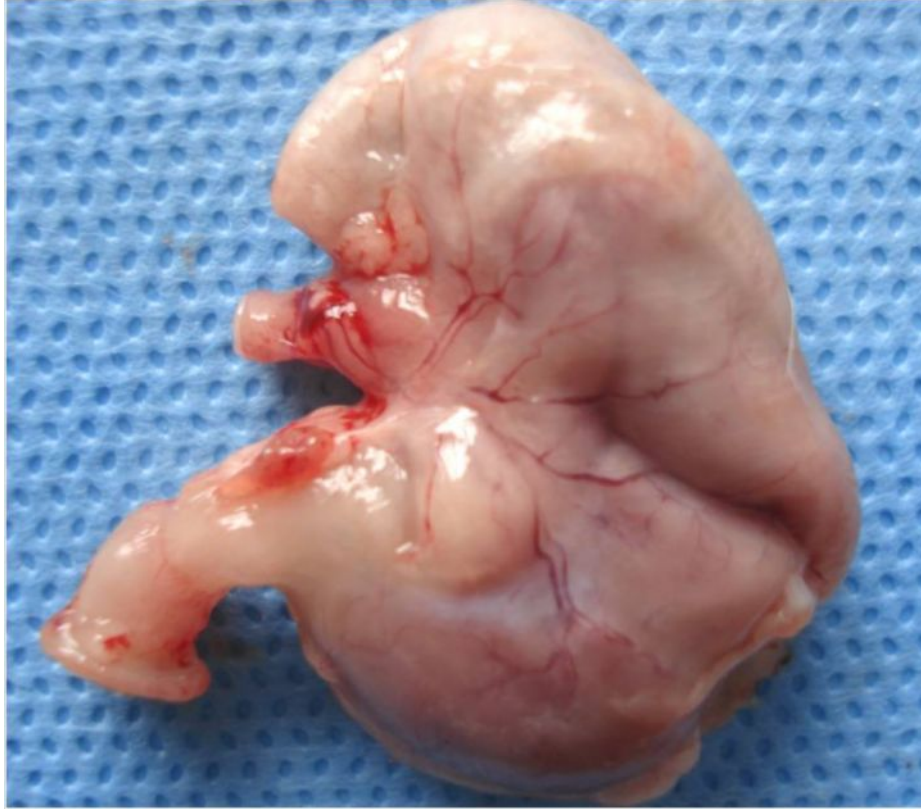
Şekil - 6: İpek flasterle sabitlenen deneklerin görünümü.

3. Tedavi

Kontrol grubundaki sıçanlara herhangi bir ajan ve stres uygulanmadı. Stres grubuna 3 gün boyunca günde tek doz 0,4 cc SF İP yolla verildi ve çalışma sonunda stres uygulandı. CAPE grubuna 3 gün boyunca günde tek doz 0,4 cc 10 mikromol/kg/gün dozunda CAPE İP yolla verildi ve çalışma sonunda stres uygulandı. CAPE preparatı Sigma firması tarafından Almanya'dan temin edildi (C 8221-1 g, SIGMA ALDRICH CHMIE, GmbH p.o.1120, 89552 Steinheim / Germany 49-7239-970).

4. Doku ve kan örneklerinin alınması

Deney periyodu sonunda stres uygulanan sıçanlar eter anestezisi altında kardiyak ponksiyonla kurban edildi. Hızlı bir şekilde vertikal orta hat insizyonu yapıp sıçanların karınlarına girildi. Özofagogastrik bileşke ve pilor kesilerek mideleri çıkarıldı (Şekil - 7). Ponksiyonla alınan kanlar iki ayrı tüpe ayrıldı. Heparinli tüplere alınan kanlar 3000 devirde santrifüje edildi. Biyokimya jelli tüplere alınan kanlar ise -20°C'lik ortamda saklandı.



Şekil - 7: Çıkarılan bir denek midesinin görünümü

5. Histopatolojik değerlendirme

Histopatolojik değerlendirme Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda bir patoloji uzmanı tarafından, değerlendirilen materyalin hangi gruba ait olduğu bilinmeksizin yapıldı.

5.1. Makroskopik ülser indeksinin değerlendirilmesi

Çıkarılan mideler *curvatura major*'ları boyunca açıldı. Distile su ile dolu bir kap içerisinde yıkanarak mide içeriği uzaklaştırıldı. Mideler dört adet toplu iğne yardımıyla köpük platformlara tespit edildi. Distile su ile ıslatılmış bir gazlı bez ile mukoza üzerindeki kanlı mukus dikkatlice uzaklaştırıldıktan sonra okülometrik olarak değerlendirildi. Toplu iğne başı büyüklüğünde olan lezyonlar için, beş adet peteşinin varlığı 1 mm olarak kabul edildi. Midelerde gözlenen tüm lezyonların boyutları toplanarak gruptaki sıçan sayısına bölündü. Bu işlem sonucunda grupların ortalama ülser indeksleri (Üİ) hesaplandı (49).



CAPE'in stres ülserini engellemedeki etkinliğinin değerlendirilmesi için; inhibisyon yüzdesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı (49,50).

$$\text{İnhibisyon Yüzdesi} = \left\{ \left(\dot{U}_{\text{stres}} - \dot{U}_{\text{cape}} \right) / \dot{U}_{\text{stres}} \right\} \times 100$$

5.2. Mikroskopik gastrik mukozal hasarın değerlendirilmesi

Mideler, %10'luk formol içerisinde fikse edildi. 1.5 cm uzunluğunda, 0.2 cm genişliğinde, tam kat, 2 adet doku takibe alındı. Doku takibi işlemi sonrasında 5µ kalınlığında 2'şer adet kesit alındı. Kesitlere hematoksilin-eozin (H&E) boyası uygulandı.

Yapılan kesitlerde midenin tüm tabakaları stres ülseri açısından mikroskopik olarak değerlendirildi. Gastrik mukozal bütünlüğün bozulması, epitel hücresi dökülmesi, fibrin birikimi, vasküler konjesyon, eritrosit ekstrevasyonu ve nötrofil infiltrasyonu görülmesi stres ülseri olarak tanımlandı (51,52). Ayrıca gruptaki her bir sıçanın mide mukozasında meydana gelen hasar, Tanaka ve arkadaşları tarafından belirtildiği şekilde yüzde olarak hesaplanıp skorlandı (52) (Tablo - 3).

Tablo – 3: Mukozal hasarın skorlanması

Mukozal hasar %	Skor
≤ 9	0
10-39	+1
40-59	+2
60-79	+3
≥80	+4



6. Biyokimyasal değerlendirmeler

6.1. Gastrik dokuda malondialdehit düzeylerinin ölçülmesi

Lipid peroksidasyonu sonucu meydana gelen malondialdehit (MDA) miktarını saptayarak dokuda oluşan serbest radikal oranının belirlenmesi amaçlandı. Dokuların isimleri ve ağırlıkları bir kağıda yazıldı. Tartım işlemi için Sartorius hassas terazisi kullanıldı. % 1,15'lik KCl içinde 1 gr doku 10 ml'ye tamamlanacak şekilde homojenat hazırlandı. Art-Micra D-8 homojenitör kullanılarak homojenize edildi. Örnekler sodyum dodosil sülfat (SDS), TBA ve asetat tamponu ile karıştırıldı. 95 °C'de su banyosunda 1 saat kaynatıldı. Daha sonra 4000 devirde 10 dk süre ile santrifüj edildi. Ortaya çıkan süpernatant MDA tanımlanmasının ölçümü için kullanıldı. Molekül kütlesi: 72,063 g/mol olan ve şişesinde 0,92 kg/L bulunan MDA standartı dilüe edilerek hesaplamada kullanılmak üzere 8, 16, 32, 64 nmol/mL standart hazırlandı. MDA, 532 nanometrede absorbands ölçümü ile ortaya çıkan TBA varlığında renkli kompleks oluşturmaktadır. Absorbans Shimadzu UV-1601 spektrofotometrede ölçüldü ve sonuçlar nmol/g ıslak doku şeklinde belirlendi (53).

6.2. Antioksidan enzim ölçümü

6.2.1. Eritrosit katalaz aktivitesi ölçümü

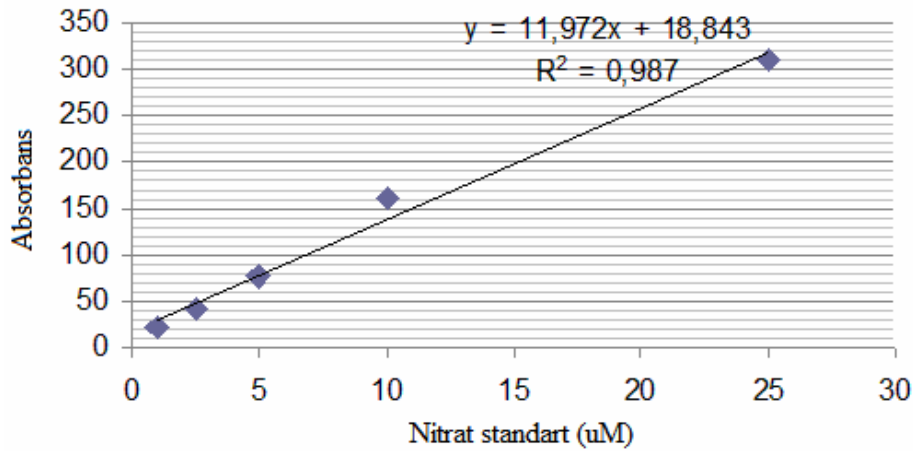
Heparinli tüplerdeki kan örnekleri 3000 devirde 5 dakika süreyle santrifüje edildi. CAT ölçümü için eritrositler soğuk SF ile 3 kez yıkandı. CAT aktivitesi Aebi'nin yöntemine göre ölçüldü (54). KH_2PO_4 (Potasyum fosfat) 0,681 gr tartılıp 100 mL suda çözüldü. Na_2HPO_4 (Sodyum fosfat) 0,71 gr tartılıp 100 mL suda çözdürüldü. Potasyum fosfat solüsyonundan 2 hacim, sodyum fosfat solüsyonundan 3 hacim eklendi. Böylece pH'sı 7 olacak şekilde 50mM'lık fosfat tamponu elde edildi. 30 mM'lık H_2O_2 (Hidrojen Peroksit) solüsyonundan (%30 'luk H_2O_2) 0,34 ml alınıp üzeri 100 mL 50mM'lık fosfat tamponu ile tamamlandı. 100 mikrolitre serum, 900 mikrolitre distile su ile karıştırılıp 1mL 1/10'luk dilüe serum elde edildi. Her örnek için her defasında kör hazırlandı. Spektrofotometrik quartz tüpüne 1mL dilüe serum koyulup üzerine 0,5 mL 50mM'lık fosfat tamponu eklendi. CAT tayini için 240 nm dalga boyunda maksimum absorbands veren hidrojen peroksitin azalan absorbandsı ölçülerek, CAT aktivitesi belirlenir. Kör ile spektrofotometrede absorbands sıfırlandı. Sonra aynı serumdan yine 1mL alınıp quartz tüpüne koyularak üzerine 0,5

mL 30 mM'lık hidrojen peroksit eklendi. Spektrofotometrede sıfır, birinci ve ikinci dakikalarda azalan absorbans değerleri not edildi. Bu işlem her örnek için yapıldı. Hesaplama 1 dakikalık lineer absorbans azalmasının değerleri temel alındı. Sonuçlar K/gr Hb olarak kaydedildi.

6.3. Oksidan enzim ölçümü

6.3.1. Nitrik oksid ölçümü

NO, çok kısa yarı ömürlü olduğu için hızla metabolitleri olan nitrit ve nitrat'a dönüşür. Griess yöntemi ile bu metabolitlerin düzeyi ölçülerek NO düzeyi saptanabilir. Ölçüm için ilk basamakta 1 µM, 2,5 µM, 5 µM, 10 µM ve 25 µM düzeylerinde seyreltilerek hazırlanan nitrat standartları ile örnekler 50'şer µL olmak üzere mikroplağa konuldu. Ardından nitrat'ın nitrit'e dönüşümü için 12 mM'lık β-NADPH'dan ve 100 Ü/L'lik nitrat redüktaz enziminden 25'er µL eklenerek 37 °C'de 30 dk inkübe edildi. Sürenin bitiminde 50'şer µL Griess A ve Griess B reaktifi eklendi ve 10 dk oda ısısında inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından tüm örneklerin ve standartların optik dansiteleri, enzim bağlı immunosorbent yöntem (ELISA – Enzym-Linked ImmunoSorbent Assay) ile Diagnostics Pasteur (Anthos Labtec, Avusturya) cihazında 540 nm dalga boyunda okundu (55). Nitrat standartları kullanılarak hazırlanmış kalibrasyon eğrisine göre serum NO değerleri µmol/L olarak hesaplandı (Şekil - 8).



Şekil - 8. Nitrat kalibrasyon eğrisi.



7. İstatistiksel analiz

Tüm verilerin istatistiksel analizleri ve tanımlayıcı özellikleri değerlendirildi. Verilerin ortalama ve standart hataları hesaplanarak sayısal değerleri ile birlikte verildi. İstatistiksel analiz için parametrik testlerden Kruskal-Wallis H ve Mann-Whitney-U testleri kullanıldı. Non parametrik değerlendirmeler ise çalışmamızda kullanılmamıştır. Tüm istatistiksel testlerin analizinde SPSS programı kullanıldı (SPSS 10.0 for windows; Chicago, IL, USA). İstatistik anlamlılıkta p değerinin 0,05'den küçük olması anlamlı olarak kabul edildi.



BULGULAR

Stres ülserlerinin gelişimini engellemede etkili olduğunu düşündüğümüz CAPE'in, bu etkinliğin altında yatan mekanizmalarını araştırdığımız çalışmada, elde ettiğimiz bulgular aşağıda sunulmuştur.

1. Deneklerin ağırlıkları

Çalışma sonunda kontrol grubundaki deneklerde vücut ağırlığının arttığı, stres ve CAPE grubundaki deneklerde ise azaldığı görüldü. Deneklerin çalışma öncesi ve sonrasındaki vücut ağırlıkları ile ortaya çıkan ağırlık farkları gram cinsinden Tablo - 4'te gösterilmektedir.

Bu tabloda kontrol grubundaki verilere karşın stres ve CAPE grubundaki sıçanların daha fazla kilo kaybettikleri gösterildi. Strese sunuk bırakılan ve birlikte CAPE tedavisi uygulanan gruptaki sıçanların, sadece strese sunuk bırakılan sıçanlardan daha az kilo kaybetmeleri dikkat çekicidir.

Tablo - 4: Deneklerin çalışma öncesi ve sonrasında vücut ağırlıkları

Gruplar	Denek no	Deney öncesi ağırlık (gram)	Deney sonu ağırlık (gram)	Ağırlık farkı (gram)
Kontrol	K1	178	185	+7
	K2	205	209	+4
	K3	220	221	+1
	K4	188	200	+12
	K5	190	200	+10
	K6	196	201	+5
	K7	220	225	+5
	K8	201	207	+6
	K9	204	210	+6
	K10	226	228	+2
Stres	S1	200	168	-32
	S2	225	194	-31
	S3	235	200	-35
	S4	210	179	-31
	S5	210	191	-19
	S6	233	213	-20
	S7	225	211	-14
	S8	215	200	-15
	S9	241	226	-15
	S10	202	192	-10
CAPE	C1	223	206	-17
	C2	223	204	-19
	C3	226	210	-16
	C4	210	194	-16
	C5	207	184	-23
	C6	226	213	-13
	C7	224	209	-15
	C8	186	167	-19
	C9	236	230	-6
	C10	200	188	-12

2. Makroskopik bulgular

2.1. Ülser indeksi

Deney sonunda stres grubundaki sıçanların hepsinde midelerinin glandüler kısmında ciddi hemorajik ülserler görüldü. Bu ülserler toplu iğne başı büyüklüğünde peteşiler ya da yaklaşık 1 ile 20 mm uzunluğunda bant şeklinde hemorajik lezyonlardı (Şekil - 9). CAPE grubundaki 10 adet sıçanın 2'sinde hiç lezyon görülmedi. Diğer 8 sıçanın midelerindeki lezyonlar ise yaklaşık 1 ile 4 mm uzunluğunda ve yuvarlak mukozal peteşiler şeklinde idi (Şekil - 10). Kontrol grubunda makroskopik ve diseksiyon mikroskopik gastrik lezyonlara rastlanmadı (Şekil - 11).



Şekil – 9. Stres grubundaki bir deneğin mide görünümü.



Şekil - 10. CAPE grubundaki bir deneğin mide görünümü.



Şekil - 11. Kontrol grubundaki bir deneğin mide görünümü.



Gruplardaki sıçanların Üİ'leri Tablo - 5'te gösterilmiştir. Stres etkilenimindeki sıçanlarda ortalama Üİ değeri 12.62 ± 3.78 mm iken, CAPE grubundaki sıçanlarda ortalama değeri 0.84 ± 1.03 mm olarak bulundu. Stres grubundaki sıçanlarda minimum Üİ değeri 6.8 mm, CAPE grubundaki sıçanlarda ise minimum Üİ değeri 0.0 mm olduğu görüldü. Bu gruplardaki sıçanların maksimum değerleri de sırasıyla 19.4 mm ve 3.2 mm olarak hesaplandı. Tüm gruplardaki (kontrol, stres, CAPE) ortalama Üİ'leri arasındaki fark istatistiksel olarak ileri derecede anlamlıdır ($p=0.000$).

Tablo - 5: Grupların ortalama ülser indeksleri*

	Kontrol	Stres	CAPE
	0.0	12.0	0.0
	0.0	11.0	0.2
	0.0	14.6	1.8
	0.0	10.2	0.0
Deneklerin Üİ'leri (mm)	0.0	8.6	3.2
	0.0	6.8	1.2
	0.0	13.2	0.2
	0.0	19.4	0.2
	0.0	13.4	0.4
	0.0	17.0	1.2
Ortalama Üİ (mm)	0.00	12.62 ± 3.78	0.84 ± 1.03
Minimum – maksimum değer	0.0 – 0.0	6.8 – 19.4	0.0 – 3.2

* $p=0.000$ (tüm gruplarda)



2.2. İnhibisyon yüzdesi

CAPE'in stres ülserini engellemedeki etkinliği, inhibisyon yüzdesi ile hesaplandı. CAPE'in stres ülseri gelişimini engellemede %93.34 oranında etkili olduğu saptandı (Tablo - 6).

Tablo - 6: İnhibisyon yüzdesi ve CAPE'in etkinlik düzeyi*

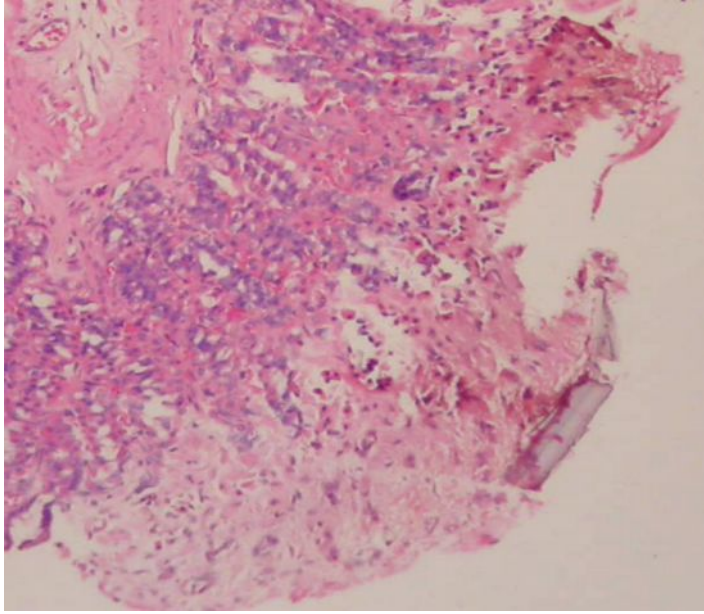
Gruplar	Ortalama Üİ (mm)	İnhibisyon yüzdesi (%)
Kontrol	0.0	--
Stres	12.62 ± 3.78	--
CAPE	0.84 ± 1.03	93.34

Veriler ortalama ± SD olarak verilmiştir.

*p=0.000 (tüm gruplarda)

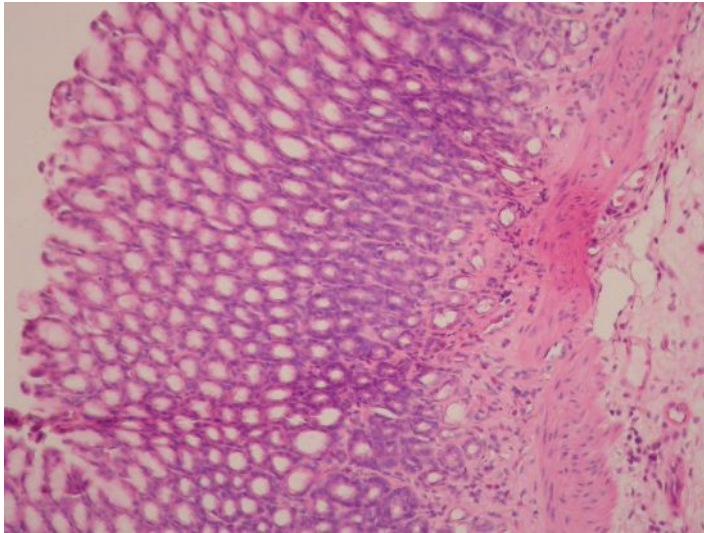
3. Mikroskopik bulgular

Histopatolojik olarak H&E ile boyanan tüm mide kesitleri incelendi. Kontrol grubundaki sıçanların midelerinde belirgin histopatolojik değişikliğe rastlanmadı. CAPE grubundaki sıçanların midelerinde bazı alanlarda hafif düzeyde eroziv değişiklikler olduğu görüldü. Bu lezyonlar midenin mukoza tabakasında sınırlı idi. CAPE grubunda hafif düzeyde mukozal vasküler konjesyonlara rastlandı. Stres grubundaki sıçanlarda ise gastrik mukozal bütünlüğün bozulduğu ve epitel hücrelerinin döküldüğü görüldü. Mukozal vasküler konjesyonlar oldukça dikkat çekici idi. Konjesyone olan bu damarlara eritrosit ekstravazasyonları olduğu ve destriktif lezyonların submukoza'ya kadar uzandığı görüldü. Yine stres grubundaki bazı deneklerin midelerinin submukoza tabakalarında fibrin birikimi olan alanlara rastlandı (Şekil 12-14).



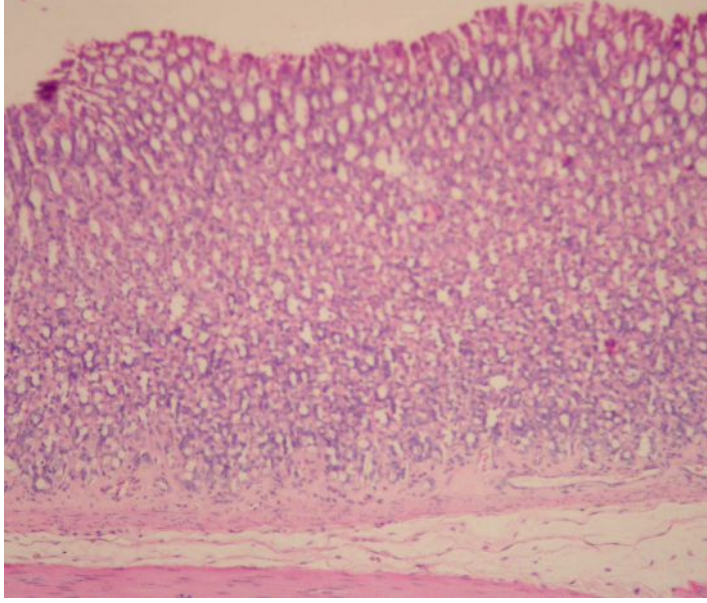
Şekil 12. Stres grubu. H&E ile boyama X 100 büyütme.

Mide mukozasının bütünlüğü bozulmuştur. Epitel hücre kaybı, vasküler konjesyon ve eritrosit ekstravazasyonları dikkat çekicidir. Mukozal nötrofil infiltrasyonu izlenmektedir.



Şekil 13. CAPE grubu. H&E ile boyama X 100 büyütme.

Mukozal bütünlük korunmuş halde izlenmektedir. Vasküler yapıların normal olduğu ve eritrosit ekstravazasyonu olmadığı görülmektedir.



Şekil 14. Kontrol grubu. H&E ile boyama X 100 büyütme.
Normal histolojik mide tabakaları izlenmektedir.

3.1. Mukozal hasarın değerlendirilmesi

Grupların gastrik mukozal hasar skorları ve ortalama mukozal hasarları Tablo – 7’de gösterilmiştir.

Kontrol grubunda mukozal kayıp olmadığı görüldü. CAPE grubunda ortalama mukozal hasarın 0.6 ± 0.5 skor olarak hesaplandı. Stres grubunda ise bu skorun $2,8 \pm 0.7$ olduğu görüldü. CAPE grubundaki mukozal hasarın stres grubuna oranla ileri derecede anlamlı olarak ($p=0.000$) azaldığı saptandı.



Tablo - 7: Mukozal hasarın gruplar içindeki dağılımı

Denekler	Kontrol	Stres	CAPE
1	0	+++	+
2	0	+++	+
3	0	+++	0
4	0	++	0
5	0	+++	0
6	0	++	+
7	0	++++	+
8	0	++	0
9	0	++	+
10	0	++++	+
Ortalama mukozal hasar (skor)	0	2.8 ± 0.7	0.6 ± 0.5*

Veriler ortalama ± SD olarak verilmiştir.

* p=0.000 Stres grubu ile karşılaştırıldığında

4. Biyokimyasal bulgular

4.1. Doku malondialdehit değerlendirilmesi

Lipid peroksidasyon göstergesi olan malondialdehit (MDA) mide dokusu örneklerinde çalışıldı. Çalışma sonunda tüm gruplardaki sıçanların MDA değerleri Tablo - 8’de gösterilmiştir. Kontrol, stres ve CAPE gruplarında sırasıyla ortalama 75.17 ± 6.14 , 147.09 ± 21.02 , 107.42 ± 10.56 nmol/g yaş doku MDA olduğu bulundu (Şekil - 15). Kontrol ve stres grubu karşılaştırıldığında, stres grubunda MDA değerlerinin ileri derecede anlamlı olarak yüksek olduğu ($p=0.000$), kontrol ve CAPE grubu karşılaştırıldığında, CAPE grubunda MDA değerlerinin anlamlı olarak yüksek olduğu ($p=0.009$) görüldü. Stres ve CAPE grubu karşılaştırıldığında, CAPE grubunda MDA değerlerinin stres grubuna göre daha düşük olduğu görülmesine karşın her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0.143$).



Tablo - 8: Gruplardaki doku MDA ve ortalama MDA değerleri

	Kontrol	Stres	CAPE
	74.52	162.47	105.21
	54.79	110.68	76.99
	88.77	146.85	106.30
	101.92	287.12	109.59
MDA (nmol/g yaş doku)	74.52	104.11	74.52
	54.72	108.49	120.55
	43.84	126.03	128.22
	98.63	81.10	69.04
	99.73	240.00	184.11
	60.27	104.11	99.73
Ortalama doku MDA değerleri (nmol/g yaş doku)	75.17 ± 6,14	147.09 ± 21.02	107.42 ± 10.56*

Veriler ortalama ± SEM olarak verilmiştir.

* p=0.143 Stres grubu ile karşılaştırıldığında

4.2. Eritrosit katalaz değerlendirilmesi

Deney sonunda tüm gruplardaki sıçanların eritrosit CAT değerleri Tablo - 9'da gösterilmiştir. Kontrol, stres ve CAPE gruplarında sırasıyla ortalama CAT değerleri 25.16 ± 2.16 , 12.05 ± 1.20 , 20.01 ± 1.42 K/gr Hb olarak bulundu (şekil - 16). Kontrol ve stres grubu karşılaştırıldığında, stres grubunda CAT değerinin anlamlı olarak düşük olduğu ($p=0.001$) görüldü. Kontrol ve CAPE grubu karşılaştırıldığında, CAPE grubunda CAT değerinin anlamlı olarak düşük olduğu görüldü ($p=0.043$). Stres ve CAPE grubu karşılaştırıldığında, stres grubunda CAT değerinin anlamlı olarak düşük olduğu görüldü ($p=0.001$).



Tablo - 9: Gruplardaki eritrosit CAT ve ortalama CAT değerleri

	Kontrol	Stres	CAPE
	23.03	18.15	11.17
	26.35	17.10	16.93
	22.86	24.95	10.47
	35.60	17.80	16.05
CAT (K/gr Hb)	31.93	27.22	16.93
	22.51	24.78	9.42
	27.92	17.10	9.95
	29.49	12.39	13.09
	21.11	20.94	4.89
	10.82	19.72	11.69
Ortalama eritrosit CAT değerleri (K/gr Hb)	25.16 ± 6.14	12.05 ± 1.20*	20.01 ± 1.42**

Veriler ortalama ± SEM olarak verilmiştir.

* p=0.001 Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında

** p=0.043 Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında

4.3. Nitrik oksid değerlendirilmesi

Deney sonunda tüm gruplardaki sıçanların serum NO değeri olarak total nitrit + nitrat değerleri Tablo - 10'da gösterilmiştir. Kontrol, stres ve CAPE gruplarında sırasıyla ortalama NO değerleri 4.51 ± 0.26 , 9.12 ± 0.63 , 8.96 ± 0.93 $\mu\text{mol/L}$ olarak bulundu (şekil - 17). Kontrol grubunda total nitrit + nitrat değerlerinin, CAPE ve stres gruplarına oranla ileri derecede anlamlı olarak düşük olduğu görüldü ($p=0.000$). Stres ve CAPE grubu karşılaştırıldığında ise, total nitrit + nitrat değerlerinin CAPE grubunda daha düşük olmasına karşın, her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0.481$).



Tablo - 10: Gruplardaki NO ve ortalama NO değerleri

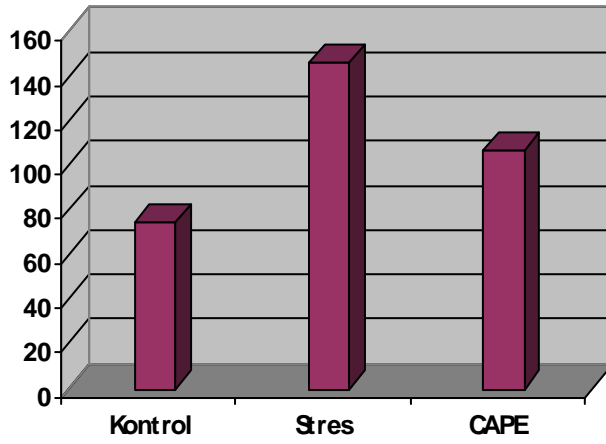
	Kontrol	Stres	CAPE
	5.63	7.97	8.13
	5.31	11.25	7.81
	5.00	10.78	8.59
	4.22	9.38	9.06
NO ($\mu\text{mol/L}$)	5.31	7.50	8.59
	3.75	11.25	7.19
	4.53	7.50	7.66
	3.44	8.91	9.16
	3.28	5.47	6.41
	4.69	11.25	17.03
Ortalama NO değerleri ($\mu\text{mol/L}$)	4.51 \pm 0.26	9.12 \pm 0.63*	8.96 \pm 0.93**

Veriler ortalama \pm SEM olarak verilmiştir.

* p=0.000 Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında

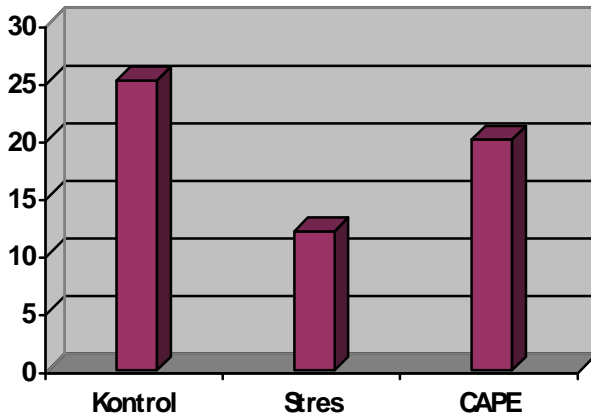
** p=0.000 Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında

MDA (nmol/g yaş doku)



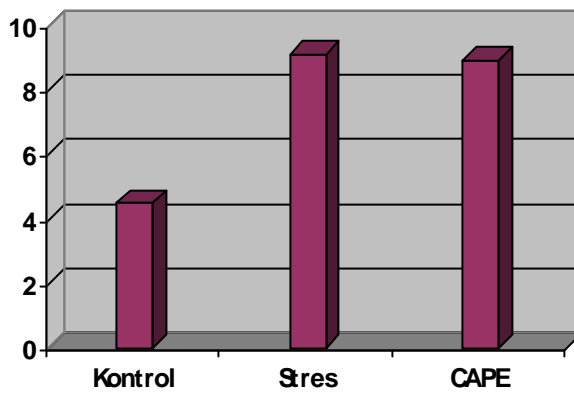
Şekil – 15. Gruplardaki ortalama doku MDA değerleri.

CAT (K/gr Hb)



Şekil – 16. Gruplardaki ortalama eritrosit CAT değerleri.

NO ($\mu\text{mol/L}$)



Şekil – 17. Gruplardaki ortalama NO değerleri.



TARTIŞMA

Stres sözcüğü en geniş anlamda birey-çevre etkileşiminde kişinin uyumunu ve biyolojik dengesini bozan uyaranlar bütünü olarak tanımlanmaktadır. Stres, organizmada fizyolojik dengeyi etkileyen birtakım olaylara neden olmaktadır. Vücuttaki tüm sistemler (özellikle de gastrointestinal sistem) stresten değişik düzeylerde etkilenmektedirler.

Stresin neden olduğu hastalıklardan birisi de gastrik ülserdir. Gastrik ülser stres kaynaklı olursa, stres ülseri olarak tanımlanmaktadır. Stres ülserine neden olan başlıca stres faktörleri olarak yanık, travma, sepsis, geçirilmiş büyük ameliyat, renal yetmezlik, vaskülit atakları ve şok sayılmaktadır (27). Bu gibi stres faktörü olan durumlarda midenin genellikle korpusunda, mukozal yüzeyel erozyon veya muskularis mukozaya kadar uzanabilen derin lezyonlar görülebilmektedir.

Yapılan bir klinik araştırmada, yoğun bakım ünitelerinde takip edilen hastaların mide sıvıları incelenmiş ve %8-25 oranında kanama saptanmıştır. Kanamalı hastaların ise %10'una cerrahi müdahale yapılması gerekmiştir. Risk altındaki hasta gruplarına stres ülseri profilaksisi uygulanmış, bunun sonucu mortalite oranının belirgin olarak azaldığı saptanmıştır (29).

Günümüze dek stres ülserinin etyopatogenezine yönelik birçok çalışma yapılmıştır. İlk olarak 1772 yılında Hunter stresin ülser gelişiminde rol oynadığını belirtmiştir. 1853 yılında Virchow tarafından ülseratif lezyonların gelişiminde lokal iskemilerin rol oynadığı öne sürülmüştür. 1913'te von Bergman ve 1932'de Cushing, hastalarda beyin ameliyatlarından sonra akut mide ve duodenum ülseri oluştuğunu göstererek nöropsişik etkenlere dikkati çekmişlerdir (29,56). 1936 yılında Selye ve arkadaşları tarafından stres ülseri ve hipotalamus-hipofiz-adrenal eksen arasında önemli bir ilişki olduğu belirtilmiştir (57). Takip eden dönemde çeşitli beyin-bağırsak peptitleri ya da gastrointestinal nöropeptitlerden bahsedilmiş ve bunların stres ülseri gelişiminde önemli oldukları vurgulanmıştır (2). Yapılan bir çalışmada; inhibitör etkiye sahip bir nöropeptit olan somatostatin'in asit sekresyonunu inhibe edici, mukus yapımını artırıcı ve PG sentezini artırıcı etkisi olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte gastrik



asit sekresyonunu inhibe eden çeşitli maddelerin somatostatin sekresyonunu artırarak etki gösterdikleri öne sürülmüştür (3). Bir diğer nöropeptit olan leptin'in, mideden kolesistokinin etkisiyle salındığı ve bazı ajanlara karşı gastrik defansa neden olduğu belirtilmiştir. Bu etkinin CCK_B reseptörlerine, vagal aktivite ve duysal sınırlara bağlı olabileceği ve meydana gelen hiperemik lezyonların muhtemelen NO ile oluştuğu öne sürülmüştür (2). Başka bir nöropeptit olan bombesin'in serebrospinal sıvıya enjekte edildiğinde gastrik asit sekresyonunu inhibe ettiği belirlenmiştir. Ayrıca bombesin'in endojen gastrin salınımını artırarak gastrik mukozal defansta rol oynadığı ve bu etkiyi iNOS inhibisyonuyla önlediği gösterilmiştir (5).

1965 yılında Thayer ve arkadaşlarının (6) yapmış oldukları bir çalışmada, stresin vagal uyarıyı tetikleyerek gastrik asit salgısını artırdığı ve gastrik asit'in ülseratif lezyonlara neden olduğu ileri sürülmüştür. İzleyen yıllarda Davenport ve arkadaşları gastrik asit'in, asit geri emilimini engelleyerek midenin mukozal komponentini bozduğunu göstermişlerdir (58). Andersson ve arkadaşları (59) tarafından yapılan deneysel bir çalışmada vagal uyarı sonucu enterokromafin benzeri hücrelerden salınan histamin'in gastrik asit sekresyonunu artırarak stres ülserine neden olduğu bildirilmiştir. Birçok çalışmada strese bağlı kanamaların intragastrik asiditenin azaltılmasıyla hızlıca gerilediği belirtilmiştir (10,60,61).

Glavin ve Szabo (62) tarafından yapılan deneysel bir çalışmada gastrik mukozal hasar gelişiminde etkili olabilecek faktörler ve etki mekanizmaları incelenmiştir. Ülser gelişiminde hidroklorik asit, pepsin, gastrin gibi nedenlerin yanında serbest radikaller, lökotrienler, nikotin, etanol, proteaz ve dismotilitenin etken faktörler olabileceği belirtilmiştir. Midenin koruyucu faktörleri olarak ta vazodilatör etkili NO, sülfidril, gangliosid, PG, dopamin, mukus, bikarbonat, CAT, interlökinler ve poliaminler'in önemli rol oynadıkları saptanmıştır. Mukus yapımının azalması ya da mukus içeriğini oluşturan mukoprotein, üronik asit ve mukopolisakkarit yapılarının yetersizliği durumunda ülser gelişiminin hızlandığı belirtilmiştir. Aynı çalışmada PG, adenosin, dopamin, gastrin, histamin, kalsiyum ve opiat reseptörlerinin asit salınımında önemli oldukları bildirilmiştir. Bu nedenle dopamin reseptör agonistleri ve kalsiyum kanal antagonistleri gibi ajanların stres ülseri gelişimini önlemede etkili olabileceği düşünülmüştür.



İlerleyen dönemlerde stres ülseriyle mast hücre degranülasyonu arasındaki fizyopatolojiyi araştıran çalışmalar yapılmıştır. Bir çalışmada mast hücre degranülasyonu ile açığa çıkan lökotrienlerin stres ülserinin iyileşmesini geciktirdiği gösterilmiştir (63). Lökotrien antagonistleri ile stres ülseri gelişiminin önlendiği belirtilmiştir. Kalia ve arkadaşları (64) tarafından yapılan deneysel bir çalışmada stres esnasında kolinerjik sistemin aktive olduğu ve bu aktivasyonun mast hücrelerini aktive ettiği belirtilmiştir. Yapılan bir çalışmada mast hücre degranülasyonu ile ortaya çıkan serotonin'in arteriollerde vazokonstrüksiyona, histamin'in ise venüllerde vazodilatasyona neden olduğu belirtilmiştir (65). Bu olaylarla birlikte eritrosit diapedezi sonucu gastrik mukozal mikrohemorajilerin geliştiği gösterilmiştir. Ohta ve arkadaşları (66,67) tarafından yapılan çalışmalarda ise mast hücre degranülasyonu ile gastrik kan akımının azaldığı, buna bağlı olarak reaktif oksijen radikallerinin açığa çıktığı belirtilmiştir. Reaktif oksijen radikallerinin etkisiyle mikrovasküler endotelyumda meydana gelen hasarın gastrik mukozal lezyonları oluşturduğu vurgulanmıştır. Birçok çalışmada mast hücre degranülatörlerinin stres ülserini engellemedeki etkileri incelenmiştir. Bu çalışmalarda ketotifen, çinko bileşikleri, sodyum kromoglikate, fosfotidilkolin, vazodaktif intestinal peptid gibi çeşitli ajanlar kullanılmış ve bunların stres ülserini önlemede yeterli düzeyde etkili oldukları gösterilmiştir (49,68-70). Bu ajanların; mast hücre degranülasyonu sonucu gelişen doku hasarını ve özellikle de mukozal kanamaları engelledikleri belirtilmiştir.

Stres ülseri etyolojisinde inflamatuvar sürecin önemli rolü olduğu belirtilmektedir. Yapılan bir deneysel çalışmada akut gastrik lezyonların gelişiminde ksantin-ksantin oksidaz sistemiyle birlikte aktive olan nötrofillerin inflamatuvar süreçte rol aldığı gösterilmiştir (71). Brzozowski ve Watanabe birbirilerinden ayrı olarak yaptıkları çalışmalarda proinflamatuvar sitokinlerden IL-1 β ve TNF- α 'nın stresle birlikte mide dokusunda arttığını göstermişlerdir (72,73). Brzozowski ve arkadaşları antiinflamatuvar etkileri de bulunan omeprazol ve ranitidin verilen tedavi grubunda mide dokusundaki IL-1 β artışının diğer gruplardan daha az olduğunu saptamışlardır. Watanabe ve arkadaşları ise ülser reküransinde TNF- α ve özellikle de IL-1 β artışının önemini vurgulamışlardır. Handa ve arkadaşları (74) tarafından yapılan deneysel bir çalışmada, stres sonucu gastrik epitel hücrelerinde oluşan değişiklikler incelenmiştir. Gastrik dokuda TNF- α 'nın bir nötrofil kemoatraktanı



olan CINC-1 düzeyini artırdığı gözlenmiştir. Ayrıca TNF- α stimülasyonu ile reaktif oksijen radikalleri ve NF-kB'nin aktive olduğu gösterilmiştir. Bir diğer çalışmada strese bağlı hasarlı bölgede nötrofil infiltrasyonu ile konjesyon oluştuğu ve mikrovasküler iskemi meydana geldiği belirtilmiştir. İskemi sonrası reperfüzyon sonucu ise SOR oluşumunun arttığı saptanmıştır (75). Jia ve arkadaşları (76) tarafından yapılan deneysel stres ülseri çalışmasında NF-kB'nin bifazik aktivasyon gösterdiği belirlenmiştir. NF-kB'nin çalışmanın 45 ve 360. dakikasında pik yaptığı görülmüştür. Western blot analizi yapılarak IkappaBalpna ve IkappaBbeta'nin degradasyonu sonucu NF-kB'nin aktive olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte NF-kB'nin hızlı ve kalıcı aktivasyonu ile TNF- α , IL-1 β , CINC-1 ve ICAM-1 mRNA'nın gastrik mukozada 15 ve 30. dakikalarda arttığı saptanmıştır. Stresten 30 ve 90. dakika sonra ise iNOS mRNA gen ekspresyonunun arttığı ve bu artışın stresin sonuna kadar devam ettiği görülmüştür. Sonuç olarak ta NF-kB aktivasyonunun gastrik mukozada proinflatuar gen over-ekspresyonunu artırarak stres ülserde önemli rol oynadığı belirlenmiştir. Yapılan başka bir çalışmada NF-kB ve AP-1 aktivasyonunun SOR ile tetiklendiği bir yolak olabileceği belirtilmiş ve SOR/NF-kB yolağı olarak tanımlanmıştır (77). Aynı çalışmada SOR/NF-kB yolağının TNF- α , IL-1 ve CINC-1'i artırdığı, AP-1'in de Egr-1, C/EBP veya Stat3 geni gibi genlerin transkripsiyonunu sağladığı gösterilmiştir.

Stres ülser oluşumunda özellikle serbest radikal hasarının majör etken olabileceği belirtilmektedir. Konuyla ilgili yapılan çalışmalarda, strese bağlı gastrik mukozal hasar ve kanamalı erozyonların gelişiminde serbest radikallerin önemli rolü olduğu gösterilmiştir (7,10).

Serbest radikaller hücrenin tüm komponentlerini etkileyebilir ancak lipidler, proteinler ve nükleik asitler birinci hedefdir. Bu toksik maddelerin başlıcaları süperoksid anyonu ve hidroksil radikalidir. Süperoksid anyon üretimi olayın başlangıcını oluşturur. Süperoksid anyon SOD ile hidrojen perokside çevrilir. Hidrojen peroksid glutatyon peroksidaz enzimi ile parçalanır. Hidroksil radikali başlıca iki reaksiyonla üretilir. Birincisi hidrojen peroksidin süperoksid radikali ile direkt redüksiyonunu içerir ve demir tarafından katalize edilir (Haber-Weiss reaksiyonu). Diğeri ise demir ile hidrojen peroksidin reaksiyonu sonucu hidroksil



radikali üretimidir (Fenton reaksiyonu). Hidroksil radikali süperoksid radikale göre daha uzun yarı ömürlüdür ve daha toksiktir. Bu radikaller epiteliyal bazal membranın temel komponentlerinden olan hiyalürinik asidin parçalanmasına ve lizozomal enzimlerin serbest kalmasına yol açarak hasara neden olur (8,45,46).

Serbest radikallerin stres ülseri gelişimi üzerine etkileri ile ilgili yapılan bir çalışmada, özellikle hidroksil radikallerinin mide dokusunda artış gösterdiği belirlenmiştir (10). Hidroksil radikallerinin proteinlerle etkileşip enzimleri inaktif hale getirerek polisakatlari depolimerize ettiği saptanmıştır. Ayrıca protein ve nükleotid sentezinin inhibe olduğu, membran kolesterol ve yağ asitlerinin serbest radikallerle reaksiyona girerek peroksidasyona uğradığı gösterilmiş ve bu reaksiyonlar ile membran yapısının bozulduğu bildirilmiştir (8).

Strese bağlı mukozal hasarda mide mikrosirkülasyonunda da önemli değişiklikler olduğu belirtilmektedir. Özellikle iskemi sonrası mukozadaki koruyucu mekanizmaların zedelendiği belirtilmektedir. İskemi sonrası meydana gelen reperfüzyon sonucu SOR ortaya çıkmaktadır. Konuyla ilgili olarak patofizyolojik araştırma yapan Guth (78) stresin erken döneminde kan akımının azaldığını, bunun gastrik asit sekresyonunu azaltarak hücre koruyucu etkinlik oluşturduğunu belirtmiştir. Geç dönemde ise mikrosirkülasyonda vazokonstrüksiyona bağlı iskemi olduğunu ve buna bağlı olarak da gastrik mukozal hasar oluştuğunu ileri sürmüştür. Khadzhev ve arkadaşları (65) tarafından yapılan bir deneysel stres ülseri çalışmasında sıçanların mide dokuları incelenmiş, arterioler spazm ve venöz konjesyon sonucu perivasküler ödem, eritrosit diapedezi ve mikrohemoraji geliştiği saptanmıştır. Gastrik mukozadaki kan akımında azalma olduğunda, dokunun oksijen kullanımını ve ATP üretimini sınırladığı görülmüştür. Enerji değişikliğinin membrandaki iyon gradientlerini bozduğu ve bunun da Ca^{+2} iyonunun dağılım bozukluğuna neden olduğu bilinmektedir. Artan sitozolik Ca^{+2} konsantrasyonu ksantin dehidrogenaz formunun XO'a dönüşümüne neden olan bir proteazı aktive eder. Diğer taraftan hücre içi ATP azalması ile birlikte AMP artışı meydana gelir. AMP ise, adenozin, inozin ve hipoksantin'e dönüşerek serbest radikal üretimine kaynak oluşturur (62,71).



Stres ülser etyopatogeneziyle ilgili yapılan yukarıda bahsettiğimiz çalışmalar değerlendirildiğinde; genel olarak oksidatif strese bağlı bir iskemi-reperfüzyon süreci yaşandığı, buna bağlı ortaya çıkan serbest radikallerin gastrik mukozal bütünlüğü bozduğu söylenebilir. Yine bu süreçte mast hücre degranülasyonunun ve NF-kB aktivasyonunun rol aldığı, bunu özellikle proinflamatuvar sitokinlerin salınımını artırma yoluyla gerçekleştirdiği düşünülebilir. Sonuç olarak stres ülser etyopatogenezinden majör olarak SOR ve nötrofil infiltrasyonu sorumludur.

Bunlara paralel olarak stres ülserini önleme ile ilgili yapılan birçok çalışmada antiinflamatuvar ve antioksidan etkili ajanlar araştırılmıştır. Santucci ve arkadaşları (79) indometazinle oluşturulan mide mukoza hasarını önlemede antiinflamatuvar etki gösteren ve bir metilksantin derivativesi olan pentoksifilin kullanmışlar, tedavi grubunda bu ajanın TNF- α düzeyini azaltarak nötrofil migrasyonunu ve mukoza hasarını önlediğini saptamışlardır. Bregonzio ve arkadaşları (80) tarafından yapılan bir çalışmada tedavi grubuna anjiotensin II AT₁ reseptör antagonisti olan candesartan verilmiş ve strese bağlı oluşan gastrik mukozal hasarın anlamlı olarak önlediği belirtilmiştir. AT₁ reseptör antagonisti'nin bu etkiyi TNF- α ve ICAM-1 ekspresyonunu azaltarak sağladığı, böylece nötrofil infiltrasyonunu engellediği belirtilmiştir. Salim (81) tarafından yapılan bir deneysel ülser çalışmasında antioksidan ajan olarak allopürinol ve dimetil sülfoksid kullanılmıştır. Allopürinol, süperoksid radikalının oluşumunda rol oynayan XO enzimini inhibe ederek, dimetil sülfoksid ise ortamdan hidroksil radikallerini temizleyerek antioksidan etki gösterir. Bu çalışmada antioksidan ajanların ülser oluşumunu azalttığı saptanmıştır. Güzel ve arkadaşları (82) yapmış oldukları deneysel bir stres ülseri çalışmada E vitamininin gastrik mukozal bariyeri güçlendirdiğini bildirmişlerdir. E vitamini lipid peroksidasyonunu inhibe edip, serbest radikal süpürücü etki göstererek stres ülserin gelişmesini engellemiştir. Al-Moutary ve arkadaşlarının (83) yaptığı çalışmada; tedavi grubundaki sıçanlara antioksidan selenyum ve E vitamini verilmiş, bu ajanların ülser oluşumunu kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda azalttığı saptanmıştır. Bülbüller ve arkadaşları (52) tarafından yapılan deneysel stres ülser çalışmasında tedavi gruplarına pentoksifilin ve L-triptofan verilmiş ve stres ülserinin azaldığı saptanmıştır. Esansiyel bir aminoasit olan L-triptofan'ın, gastrik mukozayı SOR'ne karşı koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir. Yapılan başka bir



çalışmada Çin’de yetiştirilen bir çay çeşidinin içeriği olan ginkgo biloba isimli maddenin de antioksidan ve sitoprotektif özellik göstererek ülser önleyici etkisi olduğu belirtilmiştir (84). Ohta ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda antioksidan ve antiinflamatuvar özelliğe sahip ebselen, selenyum-organik bileşikleri ve oren-gedoku-to adı verilen ajanlar kullanılmış, bu ajanların akut gastrik mukozal lezyonları önemli oranda önledikleri bildirilmiştir (70,85). Diğer bir çalışmada benzimidazol türevi olan lansoprazol’ün mukus sülfidril bileşenlerini artırarak antioksidan etki gösterdiği belirlenmiştir. Buna bağlı gastrik kan akımını artırıcı özellik göstererek akut gastrik mukozal lezyonlara karşı koruyucu olduğu saptanmıştır (30). Literatürde birçok antioksidan ve antiinflamatuvar etkili ajanların stres ülserini önlemedeki etkileri değerlendirilmiş olmakla birlikte antioksidan ve antiinflamatuvar etkili CAPE’in stres ülseri gelişimini engellemedeki etkilerini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Yapılan birçok deneysel çalışmada CAPE’in kuvvetli antioksidan etkileri olduğu gösterilmiştir (17,33,35,36,86). CAPE antioksidan etkisini XO enzimini inhibe ederek ve doza bağlı serbest radikalleri bağlayarak gerçekleştirmektedir (16,37).

XO enzimi lipid peroksidasyonunda rol oynayan oksidan bir enzimdir ve en önemli serbest oksijen kaynaklarından (16,71). Vücutta özellikle iskemi esnasında, ATP’den hipoksantin oluşur, ardından hipoksantin, ksantin’e indirgenir. İskemi esnasında bol miktarda sentezlenen ksantin ise, reperfüzyon ile ortama oksijen sağlanması sonrası XO’nın katalizlediği bir reaksiyonla ürik asit’e çevrilir. Bu reaksiyon esnasında ortaya superoksid radikali çıkar ve bu radikal dokulara zararlı etki gösteren hidroksil anyonuna çevrilir.

Yapısında iki adet antioksidan özelliğe sahip hidroksil grubu taşıyan CAPE doza bağlı SOR toplayıcı olarak etki göstermektedir. CAPE’in serbest radikal toplayıcı özelliğini araştıran çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Yılmaz ve arkadaşları tarafından streptozosin’le oluşturulan diabetik sıçan karaciğerinde SOD ve CAT aktiviteleri araştırılmıştır. CAPE tedavisi verilen grupta SOD ve CAT’ın azaldığı saptanmıştır. CAPE’in SOR süpürücü etkisinden dolayı SOD ve CAT



aktivitelerindeki artışı engellediğini öne sürmüşlerdir (87). Koltuksuz ve arkadaşları tarafından yapılan deneysel bir çalışmada ince bağırsak iskemi-reperfüzyon hasarını önlemede CAPE'in etkisi araştırılmıştır. CAPE'in SOR oluşumunu önlediği ve lökosit infiltrasyonunu inhibe ederek dokuyu hasardan koruduğu bildirilmiştir (13). Böbrek iskemi-reperfüzyon hasarı oluşturulan bir çalışmada CAPE'in, E vitamininden daha etkili bir şekilde iskemi-reperfüzyon hasarını baskıladığı ve lipid peroksidasyonunu SOR oluşumunu azaltarak engellediği gösterilmiştir (16,88). Bizim çalışmamızda CAPE grubunda CAT değerinin stres grubuna göre anlamlı olarak yüksek ($p=0.001$), kontrol grubuna göre ise anlamlı olarak düşük ($p=0.043$) olduğu görüldü. CAPE burada lipid radikallerini engelleyerek ya da fenton reaksiyonu sonrası OH radikali oluşum basamağı zincirini bloke ederek E vitaminine benzer şekilde etki göstermiş ve eritrosit CAT seviyesini yükseltmiş olabilir (Şekil – 5). Ayrıca CAPE SOR tutucu etkisiyle de eritrosit CAT aktivitesindeki aşırı yükselmeyi engellemiş olabilir.

Literatürde mide mukoza hasarı ve mide dışı doku hasarı oluşturulan deneysel modellerde antioksidan enzimlerin düzeyleri hakkında değişik sonuçlar vardır. Gastrit oluşturulan sıçanlarda SOD, GSH-Px ve CAT enzim düzeylerinin azaldığını (89) veya arttığını (90,91) belirten çalışmalar vardır. Bir çalışmada 30 gün süreyle 10 mg/kg/gün dozunda aspirin verilen insanların eritrositlerinde CAT ve GSH-Px enzim aktivitelerinin arttığı gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada 440 mg/kg/gün aspirin verilen guinea domuzlarının kalp dokuları incelendiğinde SOD azalmış, GSH-Px değişmemiştir. CAT enzim düzeyi artmış ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (92). İndometazin'le gastrit yapılan bir deneysel çalışmada CAT enzim aktivitesi yüksek bulunmuştur (91). Fesharaki ve arkadaşları tarafından yapılan bir deneysel gastrik ülser çalışmasında, gastrik dokuda SOD ve GSH-Px gibi antioksidan enzim aktivitelerinin azaldığı ve bu değişikliklere paralel olarak gastrik mukozal hasar ve hemorajinin geliştiği bildirilmiştir (89). Özetle CAT aktivitesi farklı çalışmalarda aynı deneysel model uygulamalarında farklı sonuçlarla karşımıza çıkmaktadır. Bizim çalışmamızda soğukta immobilizasyonla stres ülseri oluşturulan sıçanlarda CAT seviyesinin azaldığı saptanmıştır. Doğal bir antioksidan olan CAT'ın aslında oksidatif strese karşı artması beklenmektedir. Ancak bazen stres yanıtının fazla olduğu durumlarda antioksidanların yeterli düzeylere ulaşamadığı da



bilinmektedir. CAT hidrojen peroksit konsantrasyonunun aşırı arttığı durumlarda aktivite gösterir. Hidrojen peroksidin düşük olduğu durumlarda ise GSH-Px gibi diğer enzimler devreye girer. Yaptığımız çalışmada CAPE tedavisi verdiğimiz grupta CAT değerlerinin kontrol grubuna göre düşük olduğu görülmüştür ($p=0.043$). Bununla birlikte eritrosit CAT aktivitesi stres grubuna göre CAPE grubunda daha yüksek bulunmuştur ($p=0.001$).

MDA lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve doku hasarının göstergesi olarak kullanılmaktadır. Stres ülserde meydana gelen doku hasarının lipid peroksidasyonu sonucu oluştuğu söylenmektedir. Yoshikawa ve arkadaşları tarafından yapılan deneysel bir çalışmada SOR kaynaklarından olan XO'ın aktivasyonu ile hücre membranı içinde yer alan poliansature yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu açığa çıkan MDA değerinin gastrik dokuda önemli düzeyde arttığı gösterilmiştir (47,93). Yapılan bir deneysel stres ülseri çalışmasında lipid peroksidasyonu doku MDA değerlerine bakılarak değerlendirilmiştir (49). MDA değerlerinin fosfotidilkolin tedavisi verilen grupta, stres grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olduğu bulunmuştur. Kwiecien ve arkadaşları (94) tarafından yapılan bir çalışmada reaktif oksijen radikalleri ile mide dokusunda MDA değerlerinin arttığı saptanmıştır. Bizim çalışmamızda kontrol ve stres grubu karşılaştırıldığında, stres grubunda MDA değerlerinin anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır ($p=0.000$). Stres ve CAPE grubu karşılaştırıldığında ise, ortalama MDA değerinin CAPE grubunda stres grubuna göre daha düşük olduğu saptandı ($p=0.143$). Çalışmamızdaki bu bulgularla stres ülseri gelişiminde lipid peroksidasyonunun etkin rol oynadığı ve CAPE'in lipid peroksidasyonunu engelleyerek etki göstermiş olabileceği düşünüldü.

NO serbest radikal grubundan oksidan bir maddedir. NO'in süperoksit ile reaksiyona girmesi ile peroksinitrit oluşur (45). Artan NO, inflamasyonu ve doku hasarını uyarır. Ayrıca hücre içi glutatyonla reaksiyona girerek, glutatyon düzeylerini azaltır ve hücrede oksidatif hasara karşı duyarlılığa yol açar. Böylece kendi sitotoksik etkisine ilaveten, serbest radikallerle reaksiyona girerek sitotoksiteyi artırır. Bu etkileriyle NO, stresle uyarılan ülserdeki gastrik mukozal lezyon patogeneğinde önemli faktörlerden biridir. NO sentezinde iNOS ve cNOS enzimleri



rol alır. Yapılan bir çalışmada iNOS tarafından üretilen NO'nin gastrik mukozada sitotoksik etkileri olduğu belirtilmiş; cNOS tarafından üretilen NO'nin ise sitoprotektif olduğu gösterilmiştir (95). Stres ülserde ilk 6 saatlik dönemde, gastrik mukozal iNOS aktivitesinde dramatik bir artış, cNOS aktivitesinde ise azalma olduğu saptanmıştır. cNOS aktivitesinde azalmayla birlikte, iNOS aktivite artışının sonucu NO'nin gastrik mukozal lezyon gelişimine önemli katkı sağladığı belirtilmiştir. Başka bir çalışmada bombesin'in endojen gastrin salınımını artırarak gastrik mukozal defansta rol oynadığı ve bu etkiyi iNOS inhibisyonuyla önlediği gösterilmiştir (5). Buna karşılık Calatayud ve arkadaşları deneysel stres ülser modelinde NO salınımının artmasıyla akut gastrik mukozal lezyonların gelişiminin engellendiğini savunsalar da bu konuda tam bir görüş birliği sağlanmamıştır (96).

CAPE, katabolik etkili NOS (iNOS) enzimini bloke edip NO seviyesini azaltarak antioksidan etki göstermektedir (97). Bizim çalışmamızda NO değeri stres grubu ve CAPE grubunda, kontrol grubuna göre ileri derecede anlamlı olarak yüksek saptanmıştır ($p=0.000$). Stres grubu ile CAPE grubu karşılaştırıldığında ise, NO değeri CAPE grubunda daha düşük olmasına karşın, her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0.481$). Stres grubunda NO değerlerindeki belirgin artış, stres sırasında midede bir iskemi-reperfüzyon süreci yaşandığını göstermektedir. Vazodilatör etkili NO'nin serum düzeyi, azalan gastrik kan akımını kompanse etmek için artıyor olabilir. Böylece oksidan bir enzim olan NO'nin gastrik mukozaya zarar verdiği ve ülseratif lezyonların gelişim sürecindeki vasküler konjesyona katkısı olduğu düşünülebilir. Nitekim çalışmamızda da; stres grubundaki sıçanların midelerinde mikroskobik olarak belirgin mukozal vasküler konjesyonlar izlenirken, CAPE grubunda ise mevcut konjesyonlara minimal düzeyde rastlandı. Bununla birlikte çalışmamızda CAPE grubunda oksidan özellikli NO, beklenenin aksine kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p=0.000$). Bunun nedeni de CAPE'in antioksidan etkisini primer olarak iNOS yoluyla değil, XO'ı inhibe etmesi yoluyla ve SOR toplayıcı etkisiyle göstermesinden kaynaklanıyor olabilir.

CAPE güçlü bir NF-kB inhibitörüdür. NF-kB immün ve inflamatuvar olayların düzenlenmesinde ve hücre yaşamında çok önemli role sahip bir transkripsiyon



faktörüdür (34). Sitokinler, nörotransmitterler ve SOR, NF-kB'yı aktive ederler. NF-kB; sitokinlerin, proteazların, adezyon moleküllerinin ve diğer inflamatuvar mediyatörlerin ekspresyonunu uyarır (13). Siklooksijenaz yolda ise; CAPE siklooksijenaz-1 (COX-1) ve siklooksijenaz-2 (COX-2)'nin enzim aktivitesini suprese eder ve COX-2 gen ekspresyonunun aktivasyonunu inhibe eder. SOR, güçlü kemotaktik potansiyelleri ile IL 1, IL 6, TNF- α gibi çeşitli inflamatuvar mediyatörlerin oluşumunu ve serbestleşmesini uyarırlar. Bu mediyatörler dokuda nötrofil infiltrasyonuna neden olur. CAPE burada NF-kB aktivasyonunu potent ve spesifik olarak inhibe ederek nötrofil birikiminini ve sistemik inflamatuvar mediyatörlerin serbestleşmesini engellemektedir (18,37). Çalışmamızda da CAPE'in stres esnasında nötrofil infiltrasyonunu engellediği gösterilmiştir. Bu etkisini de NF-kB yolağı üzerinden yapmış olabilir. Konuyla ilgili 2007 yılında yapılan bir tez çalışmasında aspirin'le oluşturulan mide mukoza hasarlanması üzerine CAPE'in ve E vitamini'nin etkileri araştırılmış, CAPE'in normal mide mukozası üzerine zararlı etkisinin olmadığı gözlenmiştir (98). Her iki ajanın da antioksidan ve NF-kB inhibe edici özellikleri bilinmektedir. CAPE'in makroskopik olarak aspirin'le oluşturulan lezyonları önemli derecede azalttığı ve aspirin'in neden olduğu antioksidan enzim aktivitelerindeki artışı anlamlı olarak düşürdüğü saptanmıştır. Aynı çalışmada, nötrofil infiltrasyonunu tayin etmede önemli bir gösterge olan myeloperoksidaz aktivitesi değerlendirilmiştir. CAPE tedavisi verilen grupta myeloperoksidaz artışı önlenmiş ve mide dokusuna nötrofil infiltrasyonu engellenmiştir. Bizim çalışmamızda histopatolojik olarak nötrofil infiltrasyonu stres grubunda belirgin olduğu, buna karşılık CAPE grubunda infiltrasyonun engellendiği saptandı. CAPE'in stres ülserini engellemede antiinflamatuvar özellikleri katkı sağlamış olabilir.

Sonuç olarak çalışmamızda; bulgularımız eşliğinde CAPE'in strese bağlı ülser gelişimini %93.34 inhibisyon yüzdesi ile etkili bir şekilde önlediği saptandı. CAPE'in stres ülseri önlemedeki etkisini antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri ile yaptığını düşünmekteyiz. Histopatolojik olarak CAPE grubunda ortalama mukozal hasarın stres grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı saptanmıştır ($p<0.009$). Yine mikroskopik incelemede CAPE grubunda ve kontrol grubunda nötrofil infiltrasyonuna rastlanmazken, stres grubunda ise yer yer ciddi nötrofil infiltrasyonu alanları olduğu görülmüştür. Mevcut bulgular CAPE'in



antiinflamatuvar etkisini göstermektedir. Ayrıca antioksidan bir enzim olan CAT aktivitesinin CAPE grubunda stres grubuna oranla yüksek, kontrol grubuna oranla ise düşük olduğu görülmüştür. Burada CAPE'in antioksidan etkisiyle CAT'ı artırmış olabileceğini ve SOR tutucu etkisiyle de CAT'daki aşırı yükselmeyi engellemiş olabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca çalışmamızda CAPE'in MDA değerlerini azalttığı bulunmuştur. Lipid peroksidasyonunda lipid radikalleri sitotoksik ürünlere dönüşmektedirler. Bu ürünlerden en önemlisi MDA'tir. Çalışmamızda CAPE'in lipid peroksidasyon zinciri üzerine olan etkisinin stres ülseri gelişiminin önlenmesinde en önemli etkenlerden biri olduğu düşünülebilir.



SONUÇLAR

I. Çalışma sonunda strese sunuk bırakılan ve birlikte CAPE tedavisi verilen grupta, stres grubuna göre daha az kilo kaybı olduğu görüldü.

II. Stres grubunda ortalama ülser indeksi 12.62 ± 3.78 mm, CAPE grubunda ortalama ülser indeksi 0.84 ± 1.03 mm olarak saptandı.

III. CAPE'in stres ülseri önlemedeki etkinlik düzeyini gösteren inhibisyon yüzdesinin %93.34 olduğu görüldü.

IV. Histopatolojik değerlendirmede, strese sunuk bırakılan ve birlikte tedavi uygulanan CAPE grubunda stres ülseri bulgularının belirgin düzeyde önlendiği saptandı.

IV. Eritrosit CAT değerleri CAPE grubunda stres grubuna göre yüksek, kontrol grubuna göre düşük bulundu.

V. Doku MDA değerleri CAPE grubunda stres grubuna oranla düşük, kontrol grubuna oranla ise yüksek bulundu.

VI. Serum NO değerleri ise CAPE ve stres grubunda, kontrol grubuna göre yüksek bulundu.

VII. Stres ülserin önlenmesi amacı ile klinikte birçok ajan kullanılmakla birlikte birçoğu istenen düzeyde etki göstermemektedir. Halen birçok ajanın deneysel stres ülseri çalışmalarında etkinlikleri ve etki mekanizmaları araştırılmaktadır.

VIII. CAPE deneysel stres ülserini antioksidan ve antiinflamatuvar etkileriyle engellemiştir.



ÖZET

Sıçanlarda gelişen stres ülserini önlemede caffeic acid phenethyl ester'in etkileri

Dr. Bircan Savran

Stres, birçok hastalığın etyopatogenezinde sorumlu tutulan önemli faktörlerden biridir. Stresin neden olduğu bu hastalıklardan biri de gastrik ülserdir. Gastrik ülser stres kaynaklı olursa, stres ülseri olarak tanımlanmaktadır. Klinik olarak kullanılan ajanların stres ülseri gelişimini önlemede istenen yeterlilikte olmaması üzerine bu konuda birçok deneysel çalışma yapılmış ve yapılmaya devam edilmektedir. Bu çalışmanın amacı antioksidan ve antiinflamatuvar bir ajan olan caffeic acid phenethyl ester'in stres ülseri üzerine olan etkilerini araştırmaktır.

Çalışmada 30 adet Wistar Albino türü sıçan kullanıldı. Sıçanlar kontrol, stres ve CAPE olmak üzere üç gruba ayrıldı. Stres ve CAPE gruplarına "soğukta immobilizasyon ile stres ülseri modeli" uygulanırken, kontrol grubuna stres modeli uygulanmadı. Stres ve CAPE gruplarına stresten üç gün önce intraperitoneal yolla günde tek doz sırasıyla izotonik solüsyonu ve 10 mikromol/kg/gün CAPE uygulandı. Deney sonunda stres uygulanan sıçanlar kardiyak ponksiyonla öldürüldü ve mideleri çıkarılıp ortalama ülser indeksleri ölçüldü. Kanda eritrosit katalaz (CAT) ve nitrik oksid (NO), mide dokusunda malondialdehit (MDA) değerlerine bakıldı.

Çalışma sonunda CAPE grubundaki sıçanların, stres grubundaki sıçanlara göre daha az ağırlık kaybettiği görüldü. Stres grubundaki tüm sıçanların midelerinde ciddi hemorajik ülserler görülürken ortalama ülser indeksleri 12.62 ± 3.78 mm ölçüldü. CAPE grubundaki sıçanlarda ise mukozal Peteşiler tarzında küçük ülserlere rastlandı ve ortalama ülser indeksleri 0.84 ± 1.03 mm ölçüldü. CAPE'in stres ülseri gelişimini engellemede %93.34 oranında etkili olduğu saptandı. Mikroskopik olarak stres grubunda belirgin ülseratif lezyonlar gözlenirken, aynı bulgulara CAPE grubunda minimal düzeyde rastlandı. CAT değerleri CAPE grubunda stres grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunurken ($p=0.001$), kontrol grubuna oranla ise anlamlı olarak düşük bulundu ($p=0.043$). MDA değerleri CAPE grubunda stres grubuna



oranla düşük bulunurken ($p=0.143$), kontrol grubuna oranla ise anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0.009$). NO değerleri ise hem CAPE, hem de stres grubunda kontrol grubuna oranla yüksek bulundu ($p=0.000$).

Sonuç olarak çalışmamızda, CAPE'in strese bağlı ülser gelişimini etkili bir şekilde önlediği saptandı. Bunun en önemli göstergesi CAPE'in inhibisyon yüzdesinin oldukça yüksek olmasıdır. Bu çalışmada elde edilen bulgulara göre CAPE gastrik mukozaya nötrofil infiltrasyonunu engellemiş ve mukozal hasarlanmayı belirgin olarak azaltmıştır. Ayrıca CAPE, CAT aktivitesini yükseltmiş ve MDA değerlerini azaltmıştır. Bu bulgularla CAPE'in, muhtemel NF-kB inhibisyonuyla antiinflamatuvar etki göstererek ve serbest oksijen radikallerinin tetiklediği lipid peroksidasyon zincirini engelleyerek stres ülserini önlemiş olabileceği düşünöldü.



SUMMARY

Effects of caffeic acid phenethyl ester in the prevention of stress ulcer in rats.

Dr. Bircan Savran

Stress is one of the important factors responsible for the etiopathogenesis of many diseases. One of the diseases caused by stress is gastric ulcer. Gastric ulcer is called as stress ulcer when occurred because of stress. Various experimental studies have been performed on this subject because clinically used agents have not been desired efficacy on stress ulcer development. Purpose of this study was the investigation of caffeic acid phenethyl ester, an antioxidant and antiinflammatory agent, effects on stress ulcer.

Thirty Wistar Albino rats were used in this study. They were divided into three as control, stress and CAPE groups. "The cold-restraint method" was applied to induce stress ulcer to the stress and CAPE groups while controls did not. Stress and CAPE groups were given isotonic solution and 10 micromol/kg/day CAPE respectively once a week intraperitoneally three days before the stress application. Rats having stress were killed by cardiac puncture at the end of the experiment, and stomachs were removed and mean ulcer indices measured. Blood erythrocyte catalase (CAT) and nitric oxide (NO) as well as stomach tissue malondialdehyde (MDA) levels were analysed.

At the end of study, it was seen that rats in CAPE group lost less weight than stress group. Severe hemorrhagic ulcers were observed in the stomach of all rats in stress group and mean ulcer indices was 12.62 ± 3.78 mm. Small ulcers like mucosal petechia were seen in CAPE group and mean ulcer indices 0.84 ± 1.03 mm. It was determined that CAPE was 93.34% effective in preventing stress ulcer. Remarkable ulcerative lesions were observed microscopically in the stress group while there were minimal ulcerative lesions in CAPE group. CAT levels were found to be significantly higher in CAPE group than stress group ($p=0.001$) while lower than controls significantly ($p=0.043$). MDA levels were low in CAPE group compared to



stress group ($p=0.143$) while high compared to controls ($p=0.009$). NO values of CAPE and stress groups were higher than those of controls ($p=0.000$).

In conclusion, it was found that CAPE effectively prevented stress-dependent ulcer development in our study. The most important sign of this was the remarkably high inhibition percentage of CAPE. According to the findings obtained from this study CAPE prevented neutrophil infiltration to gastric mucosa, and decreased mucosal damage considerably. Additionally CAPE elevated CAT activity and decreased gastric tissue MDA levels. With these results it was thought that CAPE probably prevented stress ulcer by exerting antiinflammatory effect with NF- κ B inhibition and by blocking lipid peroxidation cascade triggered by free oxygen radicals.



KAYNAKLAR

1. Spirt MJ. Stress-Related Mucosal Disease: Risk Factors and Prophylactic Therapy. *Clinical Therapeutics* 2004; 26: 197-213.
2. Büyükçöşkun Nİ. Stres ülseri ve nöropeptitler. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2002; 28: 109-113.
3. Jenkins SA, Taylor BA, Nott DM, Ellenbogen S, Haggie J, Shields R. Management of massive upper gastrointestinal haemorrhage from multiple sites of peptic ulceration with somatostatin and octreotide a report of few case. *Gut* 1992; 33: 404-407.
4. Konturek SJ, Brzozowski T, Piastucki I, Dembinski A, Radecki T, Dembinska-Kiec A, Zmuda A et al. Role of mucosal prostaglandins and DNA synthesis in gastric cytoprotection by luminal epidermal growth factor. *Gut* 1981; 22: 927-932.
5. Castaneda AA, Kim YS, Chang LK, Cui Y, Mercer DW. Nitric oxide synthase inhibition negates bombesin-induced gastroprotection. *Surgery* 2000; 128: 422-428.
6. Thayer WR, Toffler AH, Chapo G. İnhibitin of restraint ulcers in the rat by pridoxine deficiency. *Yale Journal of Biology and Medicine* 1965; 38: 257-264.
7. Hung CR and Hsu DS. Roles of Histamine Receptors and Oxyradicals in Aggravation of Acid-Induced Gastric Haemorrhagic Ulcers in Endotoxaemic Rats. *Inflammopharmacology* 1998; 6: 339-355.
8. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi* 1997; 3-4: 92-95.
9. Ishii M, Shimizu S, Nawata S, Kiuchi Y and Yamamoto T. Involvement of reactive oxygen species and nitric oxide in gastric ischemia-reperfusion injury in rats. *Digestive Diseases and Sciences* 2000; 45: 93-98.



10. Das D, Bandyopadhyay D, Bhattacharjee M, Banerjee RK. Hydroxyl radical is the major causative factor in stress-induced gastric ulceration. *Free Radic Biol Med* 1997; 23: 8-18.
11. Akbulut KG, Gönül B, Türkyılmaz A, Celebi N. The Role of Epidermal Growth Factor Formulation on Stress Ulcer Healing of the Gastric Mucosa. *Surg Today* 2002; 32: 880-883.
12. Grunberger D. Preferential cytotoxicity on tumor cells by caffeic acid phenethyl ester isolated from propolis. *Experientia* 1988; 44: 230-232.
13. Koltuksuz U, Ozen S, Uz E. Caffeic acid phenethyl ester prevents intestinal reperfusion injury in rats. *J Pediatr Surg* 1999; 34: 1458-62.
14. Koltuksuz U, Irmak MK, Karaman A. Testicular nitric oxide levels after unilateral testicular torsion/detorsion in rats pretreated with caffeic acid phenethyl ester. *Urol Res* 2000; 28: 360-63.
15. Sud'ina GF, Mirzoeva OK, Pushkareva MA, Korshunova GA, Sumbatyan V, Varfolomeev SD. Caffeic acid phenethyl ester as a lipoxygenase inhibitor with antioxidant properties. *FEBS Lett* 1993; 329: 21-24.
16. Irmak MK, Fadillioglu E, Sogut S, Erdogan H, Gulec M, Ozer M, Yagmurca M, Gozukara ME. Effects of caffeic acid phenethyl ester and alpha-tocopherol on reperfusion injury in rat brain. *Cell Biochem Funct* 2003; 21: 283-89.
17. Rossi A, Longo R, Russo A, Borrelli F, Sautebin L. The role of the phenethyl ester of caffeic acid (CAPE) in the inhibition of rat lung cyclooxygenase activity by propolis. *Fitoterapia* 2002; 73: 30-37.
18. Chen MF, Keng PC, Lin PY, Yang CT, Liao SK, Chen WC. Caffeic acid phenethyl ester decreases acute pneumonitis after irradiation in vitro and in vivo. *BMC Cancer* 2005; 158: 1-9.



19. Moore K, Persaund TVN. Klinik yönleri ile insan embriyolojisi. Editör: Yıldırım M, 6. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2002.
20. Snell RS. Klinik Anatomi. Editör: Yıldırım M, 5. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 1997.
21. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Temel Histoloji. Editör: Aytekin Y, 8. Baskı, İstanbul: Barış Kitabevi, 1998.
22. Guyton AC. Tıbbi Fizyoloji. Editör: Çavuşoğlu H, 10. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2001.
23. Robbins SL. Robbins Temel Patoloji. Editör: Çevikbaş U, 7. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2003.
24. Brown LM. Helicobacter pylori: epidemiology and routes of transmission. Epidemiol Rev 2000; 22: 283-97.
25. Blecker U, Mehta ID, Gold BD. Peidatric gastritis and peptic ulcer disease. Ind J Peidatr 1999; 66: 725-733.
26. Dalgıç B. Çocukluk çağında gastrit ve peptik ülser. Klinik pediatri 2003; 2: 26-32.
27. Blecker U, Gold BD. Gastritis and peptic ulcer disease in childhood. Eur J Pediatr 1999; 158: 541-546.
28. Erkan T. Çocuklarda gastrit ve peptik ülser. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. GIS Hastalıkları Sempozyumu; 2001 Ocak 11-12; İstanbul: Türkiye; 2001. s. 179-89.
29. Karasu Z. Stres Ülseri ve Profilaksisi. Ege Tıp Dergisi 2001; 40: 127-130.



30. Natale G, Lazzeri G, Lubrano V, Colucci R, Vassalle C, Fornai M, Blandizzi C et al. Mechanisms of gastroprotection by lansoprazole pretreatment against experimentally induced injury in rats: role of mucosal oxidative damage and sulfhydryl compounds. *Toxicol Appl Pharmacol* 2004; 195: 62-72.
31. Burdock G.A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food and Chemical Toxicology* 1998; 36: 347-363
32. Koksel O, Özdülger A, Tamer L, Cinel L, Ercil M, Değirmenci U, Ünlü S, Kanık A. Effects of CAPE on lipopolisaccharide-induced lung injury in rats. *Pulmonary Pharmacology and therapeutics* 2006; 19: 90-95.
33. Russo A, Longo R, Vanella A. Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin. *Fitoterapia* 2002; 73: 21-29.
34. Natarajan K, Singh S, Burke TR, Grunberger D, Aggrawal BB. Caffeic acid phenethyl ester is a potent and specific inhibitor of activation of nuclear transcription factor NF kappa B. *Proc Natl Acad Sci* 1996; 20: 9090–9095.
35. İlhan A, Koltuksuz U, Ozen S, Uz E, Ciralik H, Akyol Ö. The effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on spinal cord ischemia / reperfusion injury in rabbits. *Eur J Cardiothorac Surg* 1999; 16: 458-463.
36. Özyurt B, Güleç M, Özyurt H, Ekici F, Atış Ö, Akbaş A. The effect of antioxidant caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on some enzyme activities in cisplatin-induced neurotoxicity in rats. *Eur J Gen Med* 2006; 3: 167-172.
37. Fadilloğlu E, Erdogan H, Söğüt S, Kuku İ. The effects of caffeic acid phenethyl ester on DNA-turnover rates and nitric oxide level in Doxorubicin-induced myocardial injury. *T Klin Tıp Bilimleri* 2003; 23: 366-370.
38. Michaluart P, Masferrer JL, Carothers AM, Subbaramaiah K, Zweifel BS, Koboldt C, Mestre JR et al. Inhibitory effects of caffeic acid phenethyl ester on the activity



and expression of cyclooxygenase-2 in human oral epithelial cells and in a rat model of inflammation. *Cancer Res* 1999; 59: 2347-52.

39. You KM, Jong HG, Kim HP. Inhibition of cyclooxygenase/lipoxygenase from human platelets by polyhydroxylated/methoxylated flavonoids isolated from medicinal plants. *Arch Pharm Res* 1999; 1: 18-24.
40. Wang D, Xiang DB, He YJ, Li ZP, Wu XH, Mou JH, Xiao HL et al. Effect of caffeic acid phenethyl ester on proliferation and apoptosis of colorectal cancer cells in vitro. *World J Gastroenterology* 2005; 11(26), 4008-4012.
41. Lee YJ, Kuo HC, Chu CY, Wang CJ, Lin WC, Tseng TH. Involvement of tumor suppressor protein p53 and p38 MAPK in caffeic acid phenethyl ester-induced apoptosis of C6 glioma cells. *Biochem Pharmacol* 2003; 12: 2281-89.
42. Zheng ZS, Xue GZ, Grunberger D, Prystowsky JH. Caffeic acid phenethyl ester inhibits proliferation of human keratinocytes and interferes with the EGF regulation of ornithine decarboxylase. *Oncol Res* 1995; 9: 445-52.
43. Zhao WX, Zhao J, Liang CL, Zhao B, Pang RQ, Pan XH. Effect of caffeic acid phenethyl ester on proliferation and apoptosis of hepatic stellate cells in vitro. *World J Gastroenterol* 2003; 6: 1278-81.
44. Dündar Y, Aslan R. Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar. Afyon: Afyon Kocatepe Üniversitesi yayınları, 2000.
45. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza yayınları, 1995.
46. Onat T, Emerk K, Sözmén E.Y. İnsan biyokimyası, Ankara: Palme yayınları, 2002.
47. Herken H, Uz E, Özyurt H, Söğüt S, Virit O, Akyol Ö. Evidence that the activities of erythrocyte free radical scavenging enzymes and the products of lipid peroxidation



are increased in different forms of schizophrenia. *Molecular Psychiatry* 2001; 6: 66-73.

48. Lata H, Ahuja GK, Narang APS. Effect of immobilitation stress on lipid peroxidation and lipid profile in rabbits. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 2004; 19: 1-4.
49. Demirbilek S, Gürses I, Sezgin N, Karaman A, Gürbüz N. Protective effect of polyunsaturated Phosphatidylcholine pretreatment on stress ulcer formation in rats. *J Pediatr Surg.* 2004; 39: 57-62.
50. Yeşilada E, Gürbüz I, Ergun E. Effect of *Cistus laurifolius* L. Flowes on gastric duodenal lesions. *J Ethnopharmacol* 1997; 55: 201-211.
51. Noffsinger AE, Stemmermann GN, Lantz PE. *Gastrointestinal Pathology An Atlas and Text.* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999.
52. Bülbüller N, Akkuş A, İlhan Y.S, Baysal F, Özercan İ, Aygen E, Kırkıl C. L-Triptofan ve pentoksifilinin stres ülseri üzerine etkisi. *Ulus Trav Der* 2003; 9: 90-95.
53. Tüközkan N, Erdamar H, Seven I. Measurement of Total Malondialdehyde in Plasma and Tissues by High-Performance Liquid Chromatography and Thiobarbituric Acis Assay. *Fırat Tıp Dergisi* 2006; 11: 88-92.
54. Aebi H, Catalase. In: Bergmeyer HU editors. *Methods of Enzymatic Analysis.* New York: Academic Press, 1974.
55. Marzinzig M, Nussler AK, Stadler J, Marzinzig E, Barthlen W, Nussler NC, Beger HG et al. Improved Methods to Measure End Products of Nitric Oxide in Biological Fluids: Nitrite, Nitrate, and S-Nitrosothiols. *Nitric Oxide: Biology and Chemistry* 1997; 1: 177-189.
56. Yabana T, Yachi A. Stress induced vascular damage and ulcer. *Digestive Disease and Sciences.* 1988; 33: 751-761.



57. Szabo S. Understanding biologic stress for study design and interpretation of results. *Digestive Disease and Sciences* 1985; 30: 28-31.
58. Skillman JJ, Gould SA, Chung RSK and Silen W. The gastric mucosal barrier, clinical and experimental studies in critically ill and normal man, and in the rabbit. *Ann. Surg* 1970; 172: 564-84.
59. Andersson K, Hakanson R, Mattsson H, Ryberg B, Sundler F. Hyperplasia of histamine-depleted enterochromaffinlike cells in rat stomach using omeprazole and alpha-fluoromethylhistidine. *Gastroenterology* 1992; 103: 897-904.
60. Levy MJ, Seeling CB, Robinson NJ, Ranney JE. Comparison of Omeprazole and Ranitidine for Stress Ulcer Prophylaxis. *Digestive Diseases and Sciences* 1997; 42: 1255-59.
61. Konturek PC, Brzozowski T, Duda A, Kwiecien S, Lober S, Dembinski A, Hahn EG, Konturek SJ. Epidermal growth factor and prostaglandin E(2) accelerate mucosal recovery from stress-induced gastric lesions via inhibition of apoptosis. *J Physiol Paris* 2001; 95: 361-7.
62. Glavin G, Szabo S. Experimental gastric mucosal injury: laboratory models reveal mechanisms of pathogenesis and new. *The FASEB Journal* 1992; 6: 825-831.
63. Ogle CW and Cho CH. The protective mechanism of FPL55712 against stress-induced gastric ulceration in rats. *Agents and Actions* 1989; 26: 3-4.
64. Kalia N, Bardhan KD. Mast cells and gastric mucosal damage: yet another mechanism of injury?. *J Gastroenterol Hepatol* 1998; 13: 1081-83.
65. Khadzhiev OC, Lupal'tsov VI, Simonenkov AP, Klimenko NA, Tatarko SV. Microcirculatory disturbances in gastric mucosa during ulcer disease and effects of serotonin on their dynamics. *Bull Exp Biol Med* 2000; 130: 843-45.



66. Ohta Y, Kobayashi T, Ishiguro I. Role of endogenous serotonin and histamine in the pathogenesis of gastric mucosal lesions in unanaesthetised rats with a single treatment of compound 48/80, a mast cell degranulator. *Pharmacol Res* 1999; 39: 261-67.
67. Ohta Y, Kobayashi T, Inui K, Yoshino J, Nakazawa S. Protective effect of teprenone against acute gastric mucosal lesions induced by compound 48/80, a mast cell degranulator, in rats. *J Pharmacol Sci* 2003; 93: 337-46.
68. Kiraly A, Suto G, Tam B, Hermann V, Mozsik G. Vagus-mediated activation of mucosal mast cells in the stomach: effect of ketotifen on gastric mucosal lesion formation and acid secretion induced by a high dose of intracisternal TRH analogue. *J Physiol Paris* 2000; 94: 131-134.
69. Tunçel N, Erkasap N, Şahintürk V, Doğrukol D, Tunçel M. The Protective Effect of Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) on Stres-Induced Gastric Ulceration in Rats. *Ann N Y Accad* 1998; 309-323.
70. Ohta Y, Kobayashi T, Inui K, Yoshino J, Nakazawa S. Protective effect of ebselen, a seleno-organic compound, against the progression of acute gastric mucosal lesions induced by compound 48/80, a mast cell degranulator, in rats. *Jpn J Pharmacol* 2002; 90: 295-303.
71. Ohta Y and Nishida K. Protective effect of coadministered superoxide dismutase and catalase against stres-induced gastric mucosal lesions. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 2003; 30: 545-550.
72. Brzozowski T, Konturek PC, Konturek SJ, Drozdowicz D, Kwiecien S, Pajdo R, Bielanski W et al. Role of gastric acid secretion in progression of acute gastric erosions induced by ischemia-reperfusion into gastric ulcers. *Eur J Pharmacol* 2000; 398: 147-58.



73. Watanabe T, Higuchi K, Tanigawa T, Tominaga K, Fujiwara Y and Arakawa T. Mechanisms of peptic ulcer recurrence: role of inflammation. *Inflammopharmacology* 2002; 10: 291-302.
74. Handa O, Naito Y, Takagi T, Shimozawa M, Kokura S, Yoshida N, Matsui H et al. Tumor necrosis factor-alpha-induced cytokine-induced neutrophil chemoattractant-1 (CINC-1) production by rat gastric epithelial cells: role of reactive oxygen species and nuclear factor-kappaB. *J Pharmacol Exp Ther* 2004; 309: 670-76.
75. Nishida K, Ohta Y, Ishiguro I. Contribution of NO synthases to neutrophil infiltration in the gastric mucosal lesions in rats with water immersion restraint stress. *FEBS letters* 1998; 425: 243-248.
76. Jia YT, Wei D, Chen XL, Xia ZF. Activation of nuclear factor-kappaB signaling pathway in rat gastric mucosa during stress ulceration. *Zhonghua Shao Shang Za Zhi* 2006; 22: 351-54.
77. Jia YT, Wei W, Ma B, Xu Y, Liu W-J, Wang Y, Lv K-Y et al. Activation of p38 MAPK by Reactive Oxygen Species Is Essential in a Rat Model of Stress-Induced Gastric Mucosal Injury. *The Journal of Immunology* 2007; 179: 7808-7819.
78. Guth PH. Current concepts in gastric microcirculatory pathophysiology. *Yale J Biol Med* 1992; 65: 677-88.
79. Santucci L, Fiorucci S, Giansanti M, Brunori PM, Di Matteo FM, Morelli A. Pentoxifylline prevents indomethacin induced acute gastric mucosal damage in rats: role of tumour necrosis factor alpha. *Gut* 1994; 35: 909-15.
80. Bregonzio C, Armando I, Ando H, Jezova M, Baiardi G, Saavedra JM. Anti-inflamatar effect of angiotensin II AT₁ receptor antagonism prevent stress-induced gastric injury. *AJP. Gastrointest Liver Physiol* 2003; 285: 414-423.



81. Salim AS. The Relationship between Helicobacter Pylori and Oxygen-Derived Free Radicals in the Mechanism of Duodenal Ulceration. *Internal Medicine* 1993; 32: 359-364.
82. Güzel C, Kurt D, Şermet A. The effects of vitamin E on gastric ulcers and gastric mucosal barrier in stress induced rats. *Tr. J of Medical Sciences* 1998; 28: 19-21.
83. Al-Moutairy AR, Tariq M. Effect of vitamin E and selenium on hypothermic restraint stress and chemically-induced ulcers *Digestive Diseases and Sciences* 1996; 41: 1165-1171.
84. Jane C. J. Chao, Hung HC, Chen SH, Fang CL. Effects of Ginkgo biloba extract on cytoprotective factors in rats with duodenal ulcer. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 560-566.
85. Ohta Y, Kobayashi T, Nishida K, Nagata M, Ishiguro I. Therapeutic effect of Oren-gedoku-to extract on stress-induced acute gastric mucosal lesions in rats. *Phytother Res* 1999; 13: 588-92.
86. Ozyurt H, Pekmez H, Parlaktas B S, Kus I, Ozyurt B, Sarsılmaz M. Oxidative stress in testicular tissues of rats exposed to cigarette smoke and protective effects of caffeic acid phenethyl ester. *Asian J Androl* 2006; 8: 189-193.
87. Yılmaz HR, Uz E, Yücel N, Altuntas I, Ozcelik N. Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in diabetic rat liver. *Biochem Mol Toxicol* 2004; 18: 234-238.
88. Irmak MK, Koltuksuz U, Kutlu NO, Yagmurca M, Ozyurt H, Karaman A, Akyol O. The effect of caffeic acid phenethyl ester on ischemia-reperfusion injury in comparison with α -tocopherol in rat kidneys. *Urol Res* 2001; 29: 190-193.



89. Fesharaki M, Nasimi A, Mokhtari S, Mokhtari R, Moradian R, Amirpoor N. Reactive oxygen metabolites and anti-oxidative defenses in aspirin-induced gastric damage in rats: Gastroprotection by Vitamin E. *Pathophysiology* 2006; 13: 237-243.
90. Bulbuloglu E, Inanc F, Bakarıs S, Kantarceken B, Cetinkaya A, Caglar R, Ilhami TK et al. Association of adenosine deaminase, superoxide dismutase and catalase activities with *Helicobacter pylori*. *Digestive Diseases and Sciences* 2005; 50: 2296-99.
91. Odabasoglu F, Cakir A, Suleyman H, Aslan A, Bayir Y, Halici M, Kazaz C. Gastroprotective and antioxidant effects of usnic acid on indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Journal of Ethnopharm* 2006; 103: 59-65.
92. Durak I, Karaayvaz M, Cimen MYB, Avcı A, Cimen OB, Buyukkocak S, Ozturk HS. Aspirin impairs antioxidant system and causes peroxidation in human erythrocytes and guinea pig myocardial tissue. *Human and Experimental Toxicology* 2001; 20: 34-37.
93. Yoshikawa T, Minamiyama Y, Ichikawa H, Takahashi S, Naito Y, Kondo M. Role of lipid peroxidation and antioxidants in gastric mucosal injury induced by the hypoxanthine-xanthine oxidase system in rats. *Free Radic Biol Med* 1997; 23: 243-50.
94. Kwiecien S, Brozowski T, Konturek PC, Pawlik MW, Pawlik WW, Kwiecien W, Konturek SJ. The role of reactive oxygen species and capsaicin-sensitive sensory nerves in the pathomechanisms of gastric ulcers induced by stress. *Journal of Physiology and Pharmacology* 2003; 54: 423-437.
95. Nishida K, Ohta Y, Ishiguro I. Role of gastric mucosal constitutive and inducible nitric oxide synthases in the development of stress-induced gastric mucosal lesions in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 236: 275-9



96. Calatayud S, Barrachina D, Esplugues JV. Nitric oxide: relation to integrity, injury, and healing of the gastric mucosa. *Microsc Res Tech* 2001; 53: 325-35.
97. Hosnuter M, Gurel A, Babuccu O, Armutcu F, Kargı E, Isikdemir A. The effect of CAPE on lipid peroxidation and and nitric oxide levels in the plasma of rats following thermal injury. *Burns* 2004; 30: 121-5.
98. am H. Sıçanlarda Aspirin ile uyarılan gastritin nlenmesinde kafeik asit fenetil ester'in etkinliğinin araştırılması. Isparta Sleyman Demirel niv. 2007.