

YÜKSEK LİSANS 2016

FARMAKOLOJİ ve TOKSİKOLOJİ

Barış TAŞDEMİR



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ve TOKSİKOLOJİ
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
VFT-2016-0001

**RATLARDA İNDOMETAZİNLE OLUŞTURULAN
GASTRİK ÜLSER ÜZERİNE SİLİMARİNİN
KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Barış TAŞDEMİR
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Murat BOYACIOĞLU

AYDIN-2016

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ve TOKSİKOLOJİ
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
VFT-2016-0001**

**RATLARDA İNDOMETAZİNLE OLUŞTURULAN GASTRİK
ÜLSER ÜZERİNE SİLİMARİNİN KORUYUCU
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Barış TAŞDEMİR
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Murat BOYACIOĞLU**

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-14035 proje numarası ile desteklenmiştir

AYDIN-2016

KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Barış TAŞDEMİR tarafından hazırlanan “Ratlarda İndometazinle Oluşturulan Gastrik Ülserin Üzerine Silimarinin Koruyucu Etkilerinin Araştırılması” başlıklı aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:/...../.....

*(Ünvanı, Adı Soyadı) (Başkan):	(Üniversite)	(İmza Üye (Tez Danışmanı):
.....
Üye :
Üye :

ONAY:

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsününtarih vesayılı oturumunda alınannolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet CEYLAN

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tezimin deney aŐamalarının kurulumu ve uygulanması ile istatistik değerlendirmelerde yardımlarını esirgemeyen ve her zaman destek olan danıŐmanım Yrd. Doç. Dr. Murat BOYACIOğLU'na teŐekkürlerimi bir borę bilirim. Ayrıca Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı BaŐkanı Prof. Dr. Cavit KUM başta olmak üzere, Prof. Dr. Ferda AKAR, Doç. Dr. Selim SEKKİN ve Yrd. Doç. Dr. Ümit KARADEMİR'e gösterdikleri ilgi ve sabır nedeniyle, tezimin laboratuvar analizlerinde bana yardımcı olan AraŐ Gör. Hande Sultan YALINKILIÇ başta olmak üzere tüm yüksek lisans ve doktora öğrencilerine teŐekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL ONAY.....	i
TEŞEKKÜR	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
RESİMLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Steroid Yapıda Olmayan Anti İnflamatuvar (NSAI) İlaçlar	3
2.1.1. NSAI'ların Genel Etki Şekilleri	3
2.1.2. NSAI'ların İstenmeyen Etkileri	3
2.1.3. NSAI'ların Deneysel Ülser Modellerinde Kullanımları	4
2.2. İndometazin Kimyasal Yapısı ve Ülser Modellerinde Kullanımı	5
2.3. Silimarinin Kimyasal Özellikleri ve Kullanım Alanları	6
2.4. Lansoprazol ve Kullanım Alanları	8
3. GEREÇ VE YÖNTEM	11
3.1. Gereç	11
3.1.1. Cihazlar	11
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	11
3.1.3. Hayvan Materyali	12
3.2. Yöntem	15
3.2.1. Gastrik Ülser Oluşturulması ve Mide Örneklerinin Alınması	15

3.2.2. Dokulara ait Makroskopik ve Mikroskopik Değerlendirme	16
3.2.3. Mide Dokusu Oksidan ve Antioksidan Parametre Analizi	17
3.2.3.1. Dokuların homojenizasyonu	17
3.2.3.2. Total protein analizi	18
3.2.3.3. Süperoksit dismutaz (SOD) analizi	18
3.2.3.4. Katalaz (CAT) analizi	19
3.2.3.5. İndirgenmiş glutasyon (GSH) analizi	19
3.2.3.6. Malondialdehit (MDA) analizi	19
3.2.3.7. Miyeloperoksidaz (MPO) analizi	20
3.2.4. İstatistiksel Değerlendirme	20
4. BULGULAR	21
4.1. Canlı Ağırlık	21
4.2. Makroskopik Bulgular	21
4.3. Oksidan ve Antioksidan Parametre Analizlerine ait Bulgular	24
5. TARTIŞMA	27
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	33
KAYNAKLAR	34
EKLER.....	41
ÖZGEÇMİŞ	42

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

CAT:	Katalaz
GSH:	Glutasyon
<i>H. pylori:</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
H ₂ :	Histamin-2 reseptörü
H ₂ O ₂ :	Hidrojen peroksit
LD ₅₀ :	Lethal Doz 50
MDA:	Malondialdehit
mg:	Miligram
mmol:	Milimol
MPO:	Miyeloperoksidaz
NOAK:	Non-opioid ağrı kesici
NSAI:	Non-steroid antinflamatuar
P:	Probability (Olasılık)
PG:	Prostoglandin
SOD:	Süperoksit dismutaz
O ₂ ^{•-} :	Süperoksit anyonunu
U:	Ünite

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Silimarin kimyasal molekül yapısı	8
Şekil 2. Antiülseratif alanın hesaplanış formülü	16

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. <i>Silybum marianum</i> (Deve dikeni) çiçeklenme öncesi dönem	7
Resim 2. <i>Silybum marianum</i> (Deve dikeni) çiçeklenme dönemi	7
Resim 3. Araştırmada kapsamında kullanılan Wistar albino ratlar ve deneysel gruplar	13
Resim 4. Deneysel hayvanlara gavajla ilaç uygulanmasına ait görüntü	15
Resim 5. Mide dokuları ülser alanlarının milimetrik kâğıt ile ölçülmesi	17
Resim 6. İndometazin ile indüklenmiş sıçanlarda mide dokularına ait makroskobik görünüm	23

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Deney grupları ve Uygulanan ilaçlar.....	12
Tablo 2. Deney grupları ve Uygulanan ilaçlar.....	14
Tablo 3. Çalışma Kurgusu	14
Tablo 4. Çalışma öncesi deneysel gruplara ait canlı ağırlıkların karşılaştırılması ..	21
Tablo 5. Sıçanlarda indometazin ile oluşturulan gastrik ülser üzerine farklı dozlarda uygulanan silimarinin ülser alanı ve anti-ülseratif etkisi	22
Tablo 6. İndometazin ile indüklenmiş sıçan mide dokusu oksidan ve antioksidan parametre düzeyleri	26

ÖZET

RATLARDA İNDOMETAZİNLE OLUŞTURULAN GASTRİK ÜLSER ÜZERİNE SİLİMARİNİN KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Taşdemir B. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji ve Toksikoloji Programı Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2016.

Silimarin doğal polifenolik yapılı flavonoid antioksidan bir madde olup, serbest radikallere ve reaktif oksijen türlerine karşı etkili olduğu bildirilmiştir. Uzun yıllardan beri hepatoprotektif olarak kullanılmaktadır. İndometazin, nonsteroidal anti-inflammatuar bir ilaç olup mide dokusunda oksidatif hasara yol açabilir. Bu amaçla indometazin ile indüklenmiş mide ülseri modelinde silimarinin koruyucu etkinliği araştırıldı. Çalışma kapsamında 42 adet erkek Wistar-albino rat kullanıldı ve sıçanlar kontrol, indometazin, lansoprazol, silimarin 25, 50 ve 100 mg/kg olacak şekilde 6 gruba ayrıldı (n=7). Gastrik ülser 25 mg/kg indometazin ile indüklendi ve farklı dozlarda (25, 50 ve 100 mg/kg) silimarinin koruyucu etkinlik düzeyi araştırıldı. Silimarinin koruyucu etkinliği ülser tedavisinde günümüzde çok sık kullanılan lansoprazol (30 mg/kg) ile karşılaştırıldı. Mide dokusu superoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi ile malondialdehid (MDA) ve glutatyon (GSH) seviyesi analiz edildi. Mide dokusu aynı zamanda makroskopik olarak ülseratif alanlar yönünden de değerlendirildi. Diğer gruplarla karşılaştırıldığında, silimarin 100 mg/kg dozunda antiülseratif etkiler yaptığı görülmüştür. Aynı dozdaki silimarin mide dokusu MDA seviyesi ve MPO aktivitesini azalttığı, CAT hariç diğer antioksidan enzim aktivitesini arttırdığı görüldü. Bu sonuçlar, indometazin kullanılarak oluşturulmuş mide ülseri ile ilişkili oksidatif strese silimarinin koruyucu bir rolünün olabileceğini gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Silimarin, gastrik ülser, indometazin, antiülseratif etki, oksidan/antioksidan parametre.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF RATS ON INDOMETHACIN WITH INDUCED GASTRIC ULCER PROTECTIVE EFFECT OF SILYMARIN

**Taşdemir B. Adnan Menderes University Health Sciences Institute Of Pharmacology
And Toxicology Program M.Sc. , Aydın, 2016 .**

Silymarin is a natural antioxidant polyphenolic flavonoid structure, it has been reported to be effective against free radicals and reactive oxygen species. For many years it has been used as a hepatoprotective drug. Indomethacin is indol derivate nonsteroidal anti-inflammatory drug and can promote oxidative damage in gastric tissue. The purpose of this study was to investigate the protective effects of silymarin on indomethacin-induced gastric ulcer model. Forty-two male Wistar albino rats were divided into 6 groups (n=7); control, indomethacin (25 mg/kg), lansoprazole (30 mg/kg), silymarin 25, 50 and 100 mg/kg group. Gastric ulcers were induced by oral administration of indomethacin (25 mg/kg), and then different doses (25, 50, and 100 mg/kg) of silymarin were administered by oral gavage. Ulcer protective activity of silymarin was compared with lansoprazole (30 mg/kg). Activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and myeloperoxidase (MPO) as well as malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) levels were determined in stomach tissue. Gastric tissue was also assessed in terms of macroscopic as ulcerative areas. Compared with other groups, silymarin 100 mg/kg was showed antiulceratif effects. The same dose of silymarin significantly decreased high MDA level and MPO activity, and increased activity of antioxidant enzymes in tissue (except CAT). These results indicate that silymarin might have a protective effect against indomethacin-induced gastric ulcer as well as oxidative stress in rat.

Key Words: Silymarin, gastric ulcer, indomethacin, antiulceratif effect, oxidant/antioxidant parameters.

1. GİRİŞ

Sindirim sistemi sorunları dikkate alındığında ülser en sık rastlanılan hastalıklardan biridir. Ülser, etiyojisinde birçok faktörün rol oynadığı bir hastalık olup; mide ve duodenumda mukus, bikarbonat, prostaglandin (PG) sentezi gibi mukozal koruma mekanizmaları ile mukozaya zarar verebilen asit-pepsin arasındaki dengenin bozulması sonucu ortaya çıkar. Asit sekresyonu ve koruyucu mukoza bariyerindeki bozukluklara ilave olarak genetik yatkınlık, stres, travma, sepsis, hemorajik şok, yanıklar (Curling ülseri), pulmoner ve karaciğer hastalıkları, rezerpin, epinefrin, steroidler, *H. pylori* ve *Herpes simplex* virüs (Tip I/HSV-1) ülseri tetikleyen faktörler arasında yer alır. İnsanlarda ayrıca içinde yaşadığı sosyal koşulların yetersizliği, yaşamın getirdiği zorlamalar (stres, depresyon, sigara kullanımı, sınav kaygısı ve psikosomatik bozukluklar) ruhsal durumun olumsuz etkilenmesine neden olmakta bu durum da midenin fizyolojik faaliyetlerini olumsuz etkilemektedir. Bunun sonucunda artan stres hormonları (kortizol gibi) asit salgısının düzensizliklerine yol açarak mide ülserleriyle sonuçlanabilmektedir (Guyton, 1986; Lockrey ve Lima, 2011).

Veteriner hekimliği alanında da birçok hayvan türünde mide ülserleriyle karşılaşmak mümkündür. Örneğin rat, kedi, köpek, sığır, domuz, koyun ve tavuklarda da görüldüğünü bilinmektedir. Ülser, hayvanlar arasında en yaygın olarak kedi, köpek gibi evcil hayvanlarda görülmektedir. Kedi ve köpeklerde en sık görülme nedenleri arasında; yabancı cisim yutma, yalama sonucu midede oluşan bezoarlar (tüy yumakları), çevresel stres faktörleri, dengesiz yağ, karbonhidrat ve protein içeren besin maddelerinin alınması, bakteriyel, viral ve paraziter hastalıkların seyri sırasında görüldüğü bildirilmiştir (Turgut ve Ok, 2001). Ayrıca tavuk ve domuzlarda da çevresel stres ve beslenme faktörlerinin gastrik hasara neden olduğu ifade edilmiştir. Mezbahalarda domuzlarda yapılan post mortem et kontrollerinde ortalama % 6 oranında gastrik ülserasyonlara rastlanıldığı bildirilmiştir (Swaby ve Gregory, 2012). Deve kuşlarında görülen gastrik impaksiyon yabancı cisimlerin ve parlak cisimlerin gıda sanılarak yutulması sonucu meydana gelir (Komnenou ve ark, 2013). Diğer yandan sığırlarda iklim, yaş, süttten kesme, beslenme ve paraziter enfeksiyonlarda gastrik hasar oluşturabilir (Sullivan ve Yool, 1998; Chattopadhyay ve ark, 2006).

Ülserlerin etiyolojisinde *H. pylori* den sonra ikinci neden ağrı kesici olarak kullanılan ilaçlardır. Bilinçsiz veya kronik kullanımlarında faydaları yanında birçok olumsuz etkiye de sahip olan bu ilaçlar, mide mukozasında hasara yol açabilirler. Bu ilaçların kullanımına bağlı peptik ülserasyon genelde semptomsuzdur. Uzun süreli ağrı kesici kullanan bireylerin yaklaşık yarısında peteşi ve erozyon gibi süperfisiyal gastrik lezyonlar bulunur ve bunların % 15-45'inde endoskopik olarak gösterilebilen asemptomatik ülserasyonlar saptanır. Bununla birlikte bir yıl boyunca ağrı kesici kullanan hastaların % 1-4'ünde ciddi gastrointestinal komplikasyonlar olduğu görülmüştür (Levine ve ark, 1991).

Günümüzde yaygın olarak kullanılan ağrı kesici ilaçlar için değişik sınıflandırmalar bulunmaktadır. Genel anlamda etki şekilleri ve moleküler yapısına göre olan bu sınıflandırmada; narkotik yapıda olanlar (kodein, morfin ve afyon), adjuvan analjezikler ve narkotik yapıda olmayanlar (non opioid) şeklindedir. Non-opioid ağrı kesiciler (NOAK) grubu steroid yapıda olanlar ve olmayanlar olarak iki gruba ayrılır. Steroid yapıda olmayan anti inflamatuvar (NSAI) ilaçlar günümüzde en çok kullanılan ağrı kesici ilaç grubudur. Bunlar ağrı kesici etkileri yanında yangı önleyici ve ateş düşürücü etkileri de vardır. Ayrıca romatoid artrit tedavisinde kullanılmaktadırlar ve kanın pıhtılaşmasını da engellenmektedirler. Merkezi sinir sistemini baskılamamaları ve bağımlılık yapmamaları gibi üstünlükleri bulunmaktadır. Bu grubun en tanınmış üyesi aspirin olup diğer üyeleri arasında; diflusinal, benorilay, fenilbutazon, parasetamol, fenbufen, flurbifen, ibuprofen, ketaprofen, naproksen, indometazin, sulindak, mefenamik asit, piroksilam, tenoksilam, tolmetin, nabumetin sayılabilir (Kaya, 2009; Süzer, 2008).

Bu çalışmanın amacı indometazin ile gastrik ülser oluşturulmuş ratlarda, antioksidan olarak kullanılan silimarinin mide dokusuna yönelik koruyucu etkileri ve mide dokusunda oksidatif stres metabolizması üzerine olan etkilerini değerlendirmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Steroid Yapıda Olmayan Anti İnflamatuvar (NSAI) İlaçlar

2.1.1. NSAI'ların Genel Etki Şekilleri

Bu grup ilaçlar ağrı kesici etkilerini prostoglandin (PG) sentezini engelleyerek göstermektedirler. Yangılı durumlarda PG, bradikinin, histamin, serotonin gibi yerel hormonlar salgılanmaktadır. Bu hormonlar ağrı oluşumundan sorumludurlar. NSAI'lar *siklooksijenaz* (COX) etkinliğini engelleyip, PG sentezini azaltırlar. Böylece ağrı kesici, ateş düşürücü ve yangı önleyici etkiye neden olurlar (Vane, 1971).

NSAI ilaçların diğer bir özelliğide ateş düşürücü etkileridir. Bu özelliklerini endojen ve egzojen maddelerin hipotalamustaki ısı kontrol merkezini etkilemelerini engelleyerek sağlarlar. Hipotalamustaki bu merkezde araşidonik asitten PG sentezini engelleyerek vücut ısısını düşürdükleri kabul edilmektedir (Kaya, 2009, Süzer, 2008).

Yangı önleyici etkileri ise yangılı bölgelerde oluşan bazı tepkimelerin (lokal ısı artışı, lökosit göçü, kızarıklık ödem ısı artışı gibi) PG ve Tromboksan (TxA₂) kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Bu maddelerin sentezinin azaltılması yangısal tepkimelerin azalmasına neden olmaktadır. Ayrıca yangılı bölgelerde hücrelerde lizozomal zarlarda hasar görmektedir. Bu grup ilaçlar lizozomal zarların dayanıklılığını arttırarak yangı önleyici etki yaparlar (Kurumbail, 2001; Süzer, 2008).

2.1.2. NSAI'ların İstenmeyen Etkileri

Bu grup ilaçların uzun süre ve yüksek dozda kullanımlarında bazı istenmeyen etkileri olabilmektedir. Bunlar;

- İlacın türü, dozu, süresi gibi faktörlere bağlı olarak en çok yan etki gösterdikleri organlardan biride mide-barsak (özellikle duodenum) dokusudur. En yaygın görülen yan etkisi kusma ve bulantıdır. Ülsere varabilecek ölçüde mide ve barsak hasarına yol açabilirler. Bu etkileri mide mukozası üzerine koruyucu etkileri olan PG'lerin (PGE₂, PGG₂) sentezinin önlenmesi sonucudur (Kurumbail, 2001; Süzer 2008).

- Diğer bir istenmeyen etkisi ise tromboksan sentetazın etkinliğinin engellenmesi sonucu trombositlerin bir araya gelmesini ve kümeleşmesini engelleyerek kanın pıhtılaşmasını geciktirebilirler. Nadir olarak da aplastik anemi, trombositopeni, agranülositozise neden olabilirler (Brooks, 2000; Ardoın ve ark, 2006).

- Uterus hareketlerini arttıran PG sentezinin azalmasıyla, uterus hareketi yavaşlayabilir.

- PG'lere bağımlı böbrek görevlerini bozabilirler. Etkileri akut böbrek yetmezliği yapacak kadar etkili olabilir. Bu etkileri daha çok renin-anjiyotensin sistemleri bozuk hastalarda dikkat çeker.

- Vücutta su tutulmasına ve ödem eğiliminin artmasına yol açarlar.

- Araşidonik asidin büyük ölçüde lipoksijenazlara maruz kalması neticesinde astım nöbetlerini arttırırlar.

- Bunların dışında NSAİ ilaçlar deri döküntüsü, ürtiker, ışığa duyarlılık, gibi yan etkilere de neden olabilirler (Mathews, 2002; Kaya, 2009).

2.1.3. NSAİ'ların Deneysel Ülser Modellerinde Kullanımları

Bu grup ilaçlar mide üzerine bazı olumsuz etkileri olduğu ve bunu da PGE₂ sentezini azaltarak, mide koruyucu etkilerin ortadan kalkması sonucu oluştuğu belirlenmiştir. PG sentezi azalması nötrofil aktivastonunu arttırır ve doku hasarını şiddetlendirir. Bunun dışında bu maddelerin serbest oksijen radikallerini de arttırdıkları görülmüştür. Özellikle indometazin ve aspirin başta olmak üzere, meloksikam, ibuprofen, tolfenamik asit gibi ilaçlar uygulanarak deneysel gastrit oluşturulmaktadır (Kayaalp, 2012).

Şener ve ark (2001) bildirdiğine göre asetil salisilik asit (200 mg/kg dozda) ratlara oral yoldan gavaj ile verilmesi sonucu gastrik hasar ve ülser oluşmaktadır. Oluşan bu hasar melatonin, famotidin ve omeprazol ile başarılı bir şekilde tedavi edilebilmiştir. Yine aynı konuda Kourounakis ve ark (2001) diklofenak, tolfenamik asit, indometazin ve ibuprofen gibi ilaçların deri altı enjeksiyonu ile gastrik hasar oluşturulabileceğini belirtmişlerdir.

NSAİ maddelerin yapmış olduğu gastrik hasar ve ülserasyonlar, antioksidan maddeler (vitamin C, vitamin E, curcumin, melatonin ve likopen) ve flavonoidler (silimarin, quersetin, naringin) kullanılarak azaltılabilmektedir (Borrelli ve ark, 2000).

NSAİ maddelerin dışında uygulanması sonucu gastrik hasar oluşturabilen kimyasal ajanlar mevcuttur. Bunlar; etanol, NaCl, HCl, NaOH olup değişik miktarlarda oluşturulan çözeltilerinin gavaj yoluyla verilmesi sonucu ülser veya gastrik mukozal hasar oluşturulabilir (Al-Moutairy ve Tariq, 1996).

Bunların yanı sıra; açlık (18 saat süreyle), soğukta bekletme (+4 °C bekletme), sıcakta kısa süreli bekletme ve yanık stresi (10 saniye süreyle 80 °C sıcak suda bekletme), strese maruz kalma, zorunlu yüzmeye tabi tutma ve iskemi reperfüzyon gibi metodlar da kullanılmaktadır (Yoshikawa ve ark, 1990).

2.2. İndometazin Kimyasal Yapısı ve Ülser Modellerinde Kullanımı

İndometazin ($C_{19}H_{15}ClN_1O_4$) metilli bir indol asetik asit türevi NSAİ grubu ilaçtır. Beyaz-sarı renkte, kristalize, suda çözünmeyen, alkolde 20 mg/ml dozda çözünen bir tozdur. İlacın pK_a değeri 4,5'dir. Ağızdan alındığında sindirim kanalından hızlı ve tam emilir. Aç karınla alındığında plazma doruk düzeyine (T_{max}) 2-3 saatte ulaşır. Plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanır. Eklem kesesine yüksek oranda girer. İdrar ve dışkıyla atılır (Kaya, 2009).

İndometazinin salisilatlara benzer şekilde güçlü ağrı kesici, yangı önleyici, ateş düşürücü etkileri vardır. Etkisi aspirinden yaklaşık 10 kat daha güçlüdür. Ağrı kesici etkilerini hem merkezi hem de yerel olarak gösterir. PG sentezini güçlü bir şekilde engeller. Etkisi hem COX-1 hem de COX-2 inhibasyonu sonucu ortaya çıkar. Lökositler hareketliliği de azaltabilirler. Güçlü etikli olan bu ilacın olumsuz yan etkilerinden dolayı kullanım alanı sınırlıdır. Romatoid artrit ve eklem rahatsızlıklarında kullanım alanı bulur (Kayaalp, 2012).

Sindirim sistemi etkileri fazla olan bu ilaç, bulantı, kusma karın ağrısı, sürgün, ülser hatta kanama gibi istenmeyen etkilere neden olabilmektedir. Bu etkileriyle nedeniyle aspirinden çok daha fazla istenmeyen etkisi vardır. Örneğin köpeklerde 2-5 mg/kg doz

aralığında bir kez verilmesinde bile midede mukozal hasar ve kanama yaptığı bilinmektedir (Kaya, 2009).

İlacın kullanımında ortalama %35-50 oranları arasında istenmeyen etki görülebilir. İndometazinin bahsedilen bu istenmeyen etkileri nedeniyle tedavi yanında deneysel ülser modellerinde kullanım fikrini doğurmuştur (Burke ve ark, 2006). İndometazin kullanarak ülser modeli oluşturmak amacı ile çok sayıda hayvan denemeleri yapılmıştır (Chattopadhyay ve ark, 2006; Odabaşoğlu ve ark, 2008). En uygun gastrik ülser modeli; indometazinin 24 saat aç bırakılan ratlara 25 mg/kg veya 48 mg/kg dozlarda verilmesiyle oluşturulduğu bildirilmiştir (Chattopadhyay ve ark, 2006; Ganguly ve ark, 2006; Odabaşoğlu ve ark, 2008).

2.3. Silimarinin Kimyasal Özellikleri ve Kullanım Alanları

Silybum marianum L., Deve dikenini (Resim 1. ve 2.), *Asteraceae* familyasına ait bir bitki olup, karaciğer ve safra kanalları hastalıkları ile karaciğer toksikasyonlarında 2000 yıldan beri kullanılmaktadır (Flora ve ark, 1998; Fraschini ve ark, 2002). *Silybum marianum* L. tohumlarının ekstraktlarından elde edilen silimarin kimyasal olarak; silibinin (80%, w/w) ve diastereoisomerleri olan izosilibinin ve dehidrosilibinin, daha az miktarlarda da silidianin ve silikristin gibi flavonoid stereoizomerlerinin karışımından oluşmaktadır (Ding ve ark, 2001). Silimarin doğal ve güçlü bir polifenolik flavonoid antioksidan olup, serbest radikallere ve reaktif oksijen türlerine karşı etkili olduğu bildirilmiştir (Comoglio ve ark, 1990). Silimarinin antioksidatif etkisi dışında, anti-inflamatuvar, antifibrotik, antilipid peroksidatif, karaciğerde rejenerasyon ve hücre membranlarının geçirgenliğini düzenleyici gibi biyolojik fonksiyonları da bulunmaktadır (Rastogi ve ark, 2000; Radko ve Cybulski, 2007). Bu özellikleri ile karaciğer hastalıklarının tedavisinde kullanılan silimarinin, diğer organ ve dokular üzerinde de koruyucu etkisinin olduğu bildirilmiştir (Varzi ve ark, 2007; Sabik ve ark, 2009).



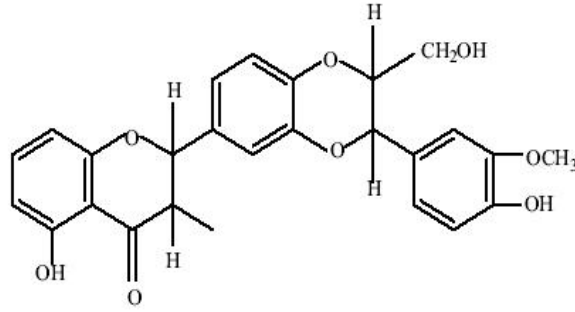
Resim 1. *Silybum marianum* L. (Deve dikeneni) çiçeklenme öncesi dönem (Kaya 2008).



Resim 2. *Silybum marianum* L. (Deve dikeneni) çiçeklenme dönemi (Kaya 2008).

Silimarinin antioksidan olarak membran permeabilitesini düzenleyici bir rol üstlendiği, hücre içi glutatyon (GSH) seviyesini artırdığı (Valenzuela ve Garride, 1994) ve lipit peroksidasyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir (Bosisio ve ark, 1992). Ratlarda yapılan çalışmalarda silimarinin antioksidan olarak 25-200 mg/kg doz aralığında intragastrik sonda ile kullanılabilceği ifade edilmiştir (Shin ve ark, 2013). Silimarin düşük toksisiteli bir bileşiktir. Toksisitesi veriliş yolu ve hızıyla ilişkili olup, ratlarda akut toksisite çalışmalarında, yavaş intravenöz yolla öldürücü-letal doz (LD₅₀) değerinin 10 g/kg olduğu bildirilmiştir (Lecomte, 1975).

Silimarinin sodyum tuzları şeklinde hazırlanmış solusyonlarının oral yolla verilmesiyle erkek ratlarda 825 mg/kg dişi ratlarda ise 920 mg/kg olduğu saptanmıştır. (Desplaces ve ark, 1975). Bu durum toksisitesinin düşük olduğunun bir göstergesidir. Silimarin kimyasal molekülü Şekil 1.'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Silimarin kimyasal molekül yapısı (Kocaman ve Dabak, 2015).

2.4. Lansoprazol ve Kullanım Alanları

Proton pompası inhibitörleri 1988 yılında grubun ilk üyesi olan omeprazol ile kullanılmaya başlanmış olup daha sonraki yıllarda lansoprazol kullanılmıştır. Bu ilaçlara günümüzde yenileri (pantoprazol, esomeorazol, dekslansoprazol) eklenmiş olup antibiyotiklerden ve statinlerden sonra en çok reçete edilen üçüncü sıradaki ilaç grubudur. Mide ile ilgili karşılaşılan hastalıklardan mide ülseri ve gastroözefagal reflü gibi hastalıkların ortadan kaldırılmasında mide asidinin nötralizasyonu büyük öneme sahiptir. Bu hastalıkların ortadan kaldırılmasında proton pompası inhibitörlerinin kullanılması tedavide bir devrim yaratmıştır. Bu ilaçlar mide asidini güçlü ve spesifik olarak baskırlar. Ortadan kalkan asit ortamı lezyonların hızlı bir şekilde iyileşmesine olanak sağlamaktadır (Uygun, 2013).

Gastrik asit hem istirahatte hem de gıda alınması ile paryetal hücrelerin bazolateral yüzeyindeki, asetilkolin, gastrin ve histaminlerin kendi spesifik reseptörlerine bağlanması sonucu, nörokrin, parakrin ve endokrin uyarıyı takiben salınır. Asit salınımında asetilkolin, gastrin ve histamin stimulan etkili iken, PGE₂ ve somatostatin inhibitör etkilidir. Asit salınımında stimulan etkili olanlar hücre içi 2. habercilerin oluşumunu tetikler. Daha sonra paryetal hücrelerde protein kinazın etkisi ile proton pompası aktive olur. Böylece intrasellüler hidrojen iyonları karşılıklı olarak ekstrasellüler potasyum iyonları ile değişir.

Midede bulunan paryetal hücreler, zarlarında bulunan asit ve proton pompası (H^+/K^+ ATPaz) vasıtasıyla asit üretirler. Bu pompanın etkinliğini engeleyen ilaçlar (omeprazol, lansoprazol, pantoprazol gibi) kullanılarak asit sekresyonu azaltılabilir. Lansoprazol midede asit salgılayan hücrelerde salgı granüllerine protonlanarak etkinlik göstermektedir (Schubert ve ark, 2008; Yang ve Metz, 2010).

Lansoprazol ağızdan alındıktan sonra % 80 biyoyararlanım gösterir. Yarı ömrü ($t_{1/2}$) 1,5 saat kadardır. Besinle birlikte alınması emilimini düşürmektedir. Bu ilaçların etki gösterebilmesi için pariyetal hücrelerde birikim göstermesi gerekir (3-5 gün). İlaç sadece mide asit salgısını azaltır. Mide hacminde, hareketlerinde ve diğer salgılarda değişiklik yapmazlar. Asit salgısı pompadaki dönüşümsüz yaptıkları hasardan kaynaklandığı için ilacın kesilmesi sonrasında etkileri 4-5 gün daha sürmektedir. Lansoprazolün asit salgılarını önleyici etkileri yaygın kullanılan histamin (H_2) reseptör blokörlerinden çok daha kuvvetlidir. Oniki parmak barsağı ülserlerindedeki 4 hafta süreyle kullanımları %90' lara varan başarı sağlar (Kaya, 2009).

Kullanım alanları arasında gastro ozeftagal reflü, peptik ülser, eroziv özofajit, *H. pylori* eradikasyonu, non-steroid anti-inflamatuvar ilaçlara bağlı gastrik ülser riskinin azaltılması, non-ülser dispepsi, yoğun bakım hastalarında gastrointestinal kanama riskinin azaltılması ve Zollinger-Ellison sendromu sayılabilir. Yararlı etkileri olan bu ilacın bazı zararlı etkileri de bulunmaktadır. Bu yan etkilerden kısa süreli olanları ilacı kullananların %1-5'inde görülmekte olup; baş ağrısı, ishal, kabızlık, mide bulantısı ve deri döküntüsüdür. Uzun süre kullanımında ise mide asidini baskılaması nedeniyle daha ciddi etkiler yapabilir. Bu etkileri; neoplaziler, enfeksiyonlar (*Clostridium difficile*, kolera, shigella ve salmonella enfeksiyonları gibi), bakteriyel kolit, toplum kaynaklı pneumoniler, besin maddelerinin sindirimini ve emiliminin bozulması (Vitamin B₁₂, demir, kalsiyum, fosfor ve magnezyum gibi), bazı ilaçların emiliminin bozulması (ketokonazol, demir preparatları, varfarin, digoksin, fenitoin gibi), kemik kırıkları ve interstitiyel nefritisdir (Uygun, 2013).

Silimarinin etanolle ve soğuk stresiyle indüklenmiş ülser modellerinde gastroprotektif etkilerinin olduğu ortaya konulmuştur (Alarcon ve ark, 1992; Shin ve ark, 2013). Ancak yapılan literatür taramalarında indometazin ile gastrik ülser oluşturulmuş sıçanlarda silimarinin koruyucu etkinliği ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu amaçla bu çalışmada indometazin ile gastrik ülser oluşturulmuş sıçanlarda, doğal ve

güçlü flavonoid antioksidan olan silimarinin mide dokusu süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve miyeloperoksidaz (MPO) aktiviteleri ile glutatyon (GSH) ve malondialdehid (MDA) seviyelerine olan etkileri araştırılmıştır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Cihazlar

Çalışma kapsamında Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalında bulunan; spektrofotometre (Shimadzu UV-1601, Kyoto, Japan), buz dolabı/derin dondurucu (Samsung RL62ZBSW), soğutmalı santrifüj (Hettich Zentrifugen, Mikro 200 R, Almanya), teflon başlıklı homojenizatör (IKA Overhead Stirrer, Almanya), ısıtmalı manyetik karıştırıcı (IKA RH Basic 2 ve Nüve MK 418), vorteks (Nüve NM110 ve IKA MS3 Basic), dikey tüp karıştırıcı (P Selecta) hassas terazi (Shimadzu AX 120), su banyosu (Memmert WNB 10), dijital pH metre (Denver model 225), etüv (Nüve FN 500), dispenserler (Ependorf, Scorex, Brand), farklı boyutlarda deney tüpü, balon joje ve beher glas (Isolab), ependorf tüpü (1,5 ml'lik, Isolab), cerrahi makas, pens, cerrahi eldiven (Beybi), polietilen insülin enjektörü (Ayset) ile çeşitli laboratuvar gereçlerinden yararlanıldı. Ayrıca dokuların muhafaza işlemi için Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda bulunan -80 °C'den (NU 9668E, Nuaire, Japonya) yararlanıldı.

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmanın deneysel bölümünde kullanılan silimarin (Sigma Katalog No: S0292), lansoprazol (Sandoz İlaç) ve indometazin (Endol kapsül, Deva ilaç) suda çözdürülerek uygulandı. Dokuların homojenizasyonunda potasyum dihidrojen fosfat (Sigma 04243), sodyum fosfat dibazik (Sigma S-9763), sodyum klorür (Sigma S-9625) ve potasyum dihidrojen fosfat (Merck 104936) kullanılarak fosfat tampon hazırlandı. Diğer kimyasallar Sigma-Aldrich ve Merck'ten temin edildi (Tablo 1).

Tablo 1. Mide dokusunun oksidan ve antioksidan parametrelerinin analizinde kullanılan kimyasallar.

Kimyasal adı	Analiz	Marka-Kod
EDTA	GSH	Sigma E-9884
Glutasyon	GSH	Merck 104090
Metafosforik asit	GSH	Merck 100546
DTNB	GSH	Sigma D-8130
Sodyum Sitrat	GSH	Sigma S-4641
Hidrojen peroksit	CAT	Merck-108597
Sodyum fosfat dibazik dihidrat	Fosfat Tampon	Sigma-71643
Trikloro asetik asit	MDA	Sigma S-27242
Tiobarbiturik asit	MDA	Sigma T-5500
Hidroklorik asit	MDA	Sigma 30721
Ksantin oksidaz	SOD	Sigma X-1875
Ksantin	SOD	Sigma X-0626
Nitroblue tetrazolium	SOD	Sigma N-6876
Kloroform	SOD	Merck 102444
Etanol	SOD	Merck 100986
Amonyum sülfat	SOD	Merck 101217
Bakır klorür	SOD	Merck 818247
Sodyum karbonat	SOD	Sigma S-7795
Sığır Albümini	SOD	Sigma A-7906
Heksadesil trimetil amonyum bromür	MPO	Sigma H-9151
O-dianisidine dihidroklorid	MPO	Sigma D-3252

SOD: Süperoksit dismutaz, CAT: Katalaz, GSH: Glutasyon, MDA: Malondialdehid, MPO: Miyeloperoksidaz.

3.1.3. Hayvan Materyali

Çalışmada hayvan materyali olarak ağırlıkları 255-410 gram arasında 4 aylık toplam 42 adet erkek Wistar albino sıçan kullanıldı. Deneysel çalışma Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu'nun 02.09.2013 tarih ve 2013/065 sayılı onayı ile gerçekleştirildi. Sıçanlar Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Üretim ve Deneysel Araştırma Laboratuvarından temin edildi.

Deneyisel amaçla kullanılan sıçanlar 22-24 °C oda sıcaklığında 12 saat aydınlık 12 saat karanlıkta kalacak şekilde kafeslerde (Tip-3 kafes) tutuldu. Sıçanlara çalışma süresince standart sıçan yemi ve çeşme suyu *ad libitum* verildi (Resim 3).



Resim 3. Araştırmada kapsamında kullanılan Wistar albino ratlar ve deneysel gruplar (n=7).

Çalışma öncesi, sırası ve sonrasında deney hayvanlarının bakımına ilişkin yürürlükteki yasal uygulamalara özen gösterildi. Sıçanlar rastgele altı gruba ayrıldı (n=7). Deneysel gruplar; Grup-1 negatif kontrol (tamamen sağlıklı), Grup-2 pozitif kontrol (indometazin 25 mg/kg), Grup-3 lansoprazol 30 mg/kg + indometazin 25 mg/kg, Grup-4 silimarin 25 mg/kg + indometazin 25 mg/kg, Grup-5 silimarin 50 mg/kg + indometazin 25 mg/kg, Grup-6 silimarin 100 mg/kg + indometazin 25 mg/kg olarak isimlendirildi (Tablo 2). Kontrol grubu hariç diğer tüm deneysel gruplar ilaç uygulamasından 24 saat önce aç bırakıldı. İndometazin uygulamasından 5 dk önce silimarin veya lansoprazol verildi. Çalışma kurkusu Tablo 3.'de özetlenmiştir.

Tablo 2. Deney grupları ve uygulanan ilaçlar.

Grup Adı	Uygulanan İlaç
Grup-1	-
Grup-2	25 mg/kg İndometazin
Grup-3	30 mg/kg Lansoprazol + 25 mg/kg İndometazin
Grup-4	25 mg/kg Silimarin + 25 mg/kg İndometazin
Grup-5	50 mg/kg Silimarin + 25 mg/kg İndometazin
Grup-6	100 mg/kg Silimarin + 25 mg/kg İndometazin

Tablo 3. Çalışma kurgusu.

Gruplar					
Grup-1	Grup-2	Grup-3	Grup-4	Grup-5	Grup-6
14 günlük adaptasyon					
Su kısıtlaması olmadan 24 saatlik açlık periyodundan sonra					
Hiçbir uygulamanın olmadığı sağlıklı kontrol grup	25 mg/kg dozda indometazin gavaj yoluyla verildi	Lansoprazol	gavaj yoluyla	gavaj yoluyla	gavaj yoluyla
		30 mg/kg dozda gavaj yoluyla verildi	25 mg/kg dozda silimarin uygulandı	50 mg/kg dozda silimarin uygulandı	100 mg/kg dozda silimarin uygulandı
		5 dakika sonra 25 mg/kg dozda indometazin aynı yolla uygulandı			
6 saatlik bekleme süresinin sonunda ötenazi işlemi gerçekleştirildi					

Çalışmaya 2 hafta süreli adaptasyon süreci sonrasında başlandı. Bu süre zarfında sıçanlara verilecek olan kimyasal maddelerin miktarları hesaplandı. Sıçanlara oral yolla verilen ilaçlar kimyasal özelliklerine uygun çözücülerde eritilerek uygulandı. 16 G kalınlığında eğri gavaj (Harvard Apparatus) kullanılarak ilaçlar uygulandı (Resim 4.).



Resim 4. Deneysel hayvanlara gavajla ilaç uygulanmasına ait görüntü.

3.2. Yöntem

3.2.1. Gastrik Ülser Oluşturulması ve Mide Örneklerinin Alınması

Bu çalışmada gastrik ülser modeli Guidobono ve ark (1997) ile Odabaşoğlu ve ark (2008)'nin bildirdikleri yöntemle gerçekleştirildi. Tüm kimyasallar distile su içerisinde oral gavaj yoluyla 1 ml/100 g canlı ağırlık hesabıyla verildi. İndometazin, lansoprazol, silimarin 25, 50 ve 100 gruplarında ülser; 25 mg/kg indometazin ile indüklendi. Lansoprazol grubunda ise 30 mg/kg dozda lansoprazol ve 25 mg/kg dozda indometazin verildi. Silimarin 25 mg/kg, 50 mg/kg ve 100 mg/kg dozda üç ayrı gruba uygulandı. Kontrol grubu sıçanlarına ise aynı hacimde distile su verildi. Sıçanlar ilaç uygulamasından 24 saat öncesinde aç bırakıldı (Kontrol grubu hariç). İndometazin uygulamasından 5 dk önce belirtilen dozlarda silimarin veya lansoprazol verildi.

Sıçanlara ilaç uygulamasından 6 saat sonra 50 mg/kg ketamin (Ketasol, Richter Pharma AG) ve 5 mg/kg ksilazin (Xylazinbio, Bioveta) uygulanmıştır. Uyutulan sıçanlar servikal dislokasyon ile ötenazi edildi.

Hayvanlara ait mide dokuları makroskopik değerlendirme için disseke edildi. Mide örnekleri % 0,9'luk izotonik sodyum klorür (Polifleks, Polifarma) solüsyonuyla yıkandıktan sonra ülserasyon alanları milimetrik kâğıt ve büyüteç yardımıyla ölçüldü. Silimarinin mide ülseri üzerine koruyucu etkinliği, lansoprazol grubundan elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldı. Nguelefack ve ark (2005)'nin belirlemiş olduğu yöntemle her bir sıçana ait ülser alanı (mm²) belirlendi ve anti-ülseratif etki (%) aşağıda yer alan formüle göre hesaplandı (Şekil 2.).

$$\text{Anti-ülseratif etki (\%)} = \frac{\text{kontrol grubu ülser alanı} - \text{tedavi grubu ülser alanı}}{\text{kontrol grubu ülser alanı}} \times 100$$

Şekil 2. Anti-ülseratif alan hesaplama formülü.

3.2.2. Dokulara ait Makroskopik ve Mikroskopik Değerlendirme

Mide dokusu, meydana gelen ülseratif alanlar (siyah renkli kanama alanları) ve erozyonun derecesine göre değerlendirildi. Bilindiği gibi rat midesi muskuler alan ve glandüler alan olmak üzere iki farklı anatomik alandan oluşmaktadır. Ülseratif alanlar glandüler kısımda yer almaktadır. Glandüler mukoza üzerindeki ülseratif alanların tüm mide yüzeyine göre kapladığı oran hesaplanmıştır (Nguelefack ve ark, 2005; Guha ve ark, 2010). Milimetrik kâğıt kullanılarak uygulanan bu yöntemle her bir örneğin ülser alanları (siyah alanlar) tek tek ölçülmüştür. Resim 5'de milimetrik kâğıtla mide dokusunda ülser alanları hesaplanması gösterilmiştir.



Resim 5. Mide dokuları ülser alanlarının milimetrik kâğıt ile ölçülmesi.

2.2.3. Mide Dokusu Oksidan ve Antioksidan Parametre Analizi

2.2.3.1. Dokuların homojenizasyonu

Ötenazi işleminden sonra 0,5 g doku örneği tartılarak % 10'luk 150 mM fosfat tamponla (pH 7.4) yıkandı. Kurutma işleminin ardından doku örneği yine fosfat tamponla (% 10) homojenizatörde 2000 devir ve 1 dk süreyle homojenize edildi. Homojenatlar +4 °C'de 12000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatantlar analiz edilinceye kadar - 80 °C'de bekletildi.

3.2.3.2. Total protein analizi

Total protein analizi oksidan/antioksidan parametrelerin hesaplanmasında kullanılan ara parametredir. Total protein analizi Biüret metoduna göre Archem Diagnostic Ind. Ltd., Türkiye marka total protein kiti kullanılarak gerçekleştirildi. Ependorflara her bir örnek için total protein kiti içerisindeki total protein solüsyonundan 1 ml eklendi. Vortekslenen süpernatantlardan her bir ependorfa 10 µl eklendi. Spektrofotometrede okumak için 2 adet kör ve 1 adet standart hazırlandı. Körlere 1 ml total protein solüsyonu ve 10 µl distile su koyulurken, standart için 1 ml total protein solüsyonu ve 10 µl kit içerisindeki standart eklendi. Vortekslleme işleminin ardından tüm tüpler 30 °C ve 10 dk süreyle etüvde inkübe edildi. Ardından spektrofotometrede kuartz kuvvetlerde köre karşı 546 nm dalga boyunda okuma yapıldı. Sonuçlar SOD, CAT, GSH, MDA ve MPO hesaplanmalarında kullanıldı.

3.2.3.3. Süperoksit dismutaz (SOD) analizi

SOD aktivitesi Sun ve ark'nın (1988) yöntemine göre ölçüldü. Ksantin, ksantin oksidaz enzimi vasıtasıyla ürik aside dönüştürülürken meydana gelen süperoksit radikalleri nitro blue tetrazolium varlığında reaksiyona girerek formazon boyası oluştururlar. SOD enzimi süperoksit radikallerini hidrojen peroksite (H₂O₂) dönüştürdüğü için formazon oluşumu azalır ve buna bağlı olarak absorbans da azalır. SOD analizinde reaktif karışımı için 20 ml 10 kat sulandırılmış ksantin stok çözeltisi, 10 ml EDTA, 10 ml NBT, 6ml Na₂CO₃, 3 ml sığır albümini eklenip karıştırıldı. Reaktif karışımı 49 ml olarak hazırlandı. Vortekslenen süpernatantlardan 0.5 ml ependorflara aktarılarak üzerine 250 µl etanol ve 150 µl kloroform eklenerek +4 °C'de 12000 rpmde 10 dakika santrifüj yapıldı. Cam tüplere 1225 µl reaktif karışımı ve 250 µl örnek ilave edildi. Spektrofotometrede kör için ise 1225 µl reaktif karışımı üzerine 250 µl distile su ilave edildi. Vortekslenen tüplerin üzerine 25 µl ksantin oksidaz eklenerek 25 °C'de su banyosunda 20 dakika inkübe edildi. Ardından 0,5 ml CuCl₂ ilave edilerek spektrofotometrede kuartz kuvvetlerde köre karşı 532 nm dalga boyunda okunarak hesaplama yapıldı ve sonuçlar U/mg doku protein olarak gösterildi.

3.2.3.4. Katalaz (CAT) analizi

Katalaz aktivitesi Aebi (1984) tarafından tarif edilen yöntem ile ölçüldü. CAT enzim aktivitesi, H₂O₂'in 240 nm'de H₂O'ya dönüşümü sırasında absorbanstaki azalmanın ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Absorbanstaki gözlenen azalma hızı CAT enzim aktivitesi ile doğru orantılıdır. 1/15 mmol/l (pH:7.0) fosfat tampon ve numune içeren küvetlerden birine H₂O₂ eklenmesiyle 240 nm absorbanstaki H₂O₂'deki azalma 1 dakika boyunca spektrofotometrede kuantitatif olarak kaydedildi. Elde edilen değerler sonucu katalaz enzim aktivitesi hesaplanarak k/mg doku protein olarak ifade edildi.

3.2.3.5. İndirgenmiş glutasyon (GSH) analizi

GSH ölçüm ortamındaki disülfid bir kromojen olan DTNB (5,5'-ditiyobis, 2-nitrobenzoik asit) ve sülfhidril gruplu bileşikler tarafından kolayca indirgenir. GSH bu kompleks oluşumunu katalizlediği için oluşan rengin şiddeti ile GSH aktivitesi arasında doğru orantı vardır. GSH seviyesi spektrofotometrik olarak Tietze (1969)'e göre analiz edildi. Analiz için kör, standart ve numune tüpleri hazırlandı. Standart tüpe 200 µl standart, numune tüpüne 200 µl örnek konulduktan sonra her iki tüpe 1.8 ml saf su ve 3 ml presipitasyon solüsyonu ilave edildi. Kör tüpe ise 0.4 ml saf su ve 0.6 ml presipitasyon solüsyonu konuldu. Hazırlanan karışımlara süzme işlemi uygulandıktan sonra süzülen kısımlardan 2 ml süpernatant alındı ve üzerine 8 ml fosfat solüsyonu ve 1 ml eklendikten sonra 412 nm'de okundu ve sonuçlar mg/g doku olarak hesaplandı.

3.2.3.6. Malondialdehit (MDA) analizi

MDA analizi, serbest radikallerin hücre zarında oluşturduğu lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olan MDA düzeyini belirlemek için kullanılan bir yöntemdir. Yöntemlerin çoğu MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile verdiği reaksiyonu temel alır. MDA analizi Ohkawa (1979) ve arkadaşlarının metoduna göre MDA'nın asidik ortamda TBA ile oluşturduğu rengin 532 nm'de optik dansitesinin ölçülmesi prensibine dayanarak yapıldı. Vortekslenen süpernatantlardan kapaklı cam tüplere 750 µl aktararak üzerlerine 1,5 ml stok solüsyondan (100 ml distile suda 15 g trikloroasetik asit, 0.37 g TBA ve % 30'luk HCl) eklenerek vortekslenen tüpler 20 dakika 100 °C'de kaynatıldı.

Soğutma işleminin ardından tüpler 3000 rpmde 10 dakika santrifüj edildi. Ardından spektrofotometrede kuartz kuvetlerde köre karşı 532 nm dalga boyunda havaya karşı okuma yapıldı. Elde edilen absorbans katsa $1.56 \times 10^5 / \text{M/cm}$ katsayısı ile çarpılarak, MDA konsantrasyonu nmol/mg doku protein olarak hesap edilmiştir.

3.2.3.7. Miyeloperoksidaz (MPO) analizi

Miyeloperoksidaz (MPO) dokuların oksidan konumunu etkileyen nötrofil infiltrasyon indeksi olarak bilinen bir enzimdir (1). Nötrofil lökositlerinde bol miktarda bulunur ve inflamasyona uğramış dokularda nötrofil birikimini göstergesi olarak kabul edilmektedir. MPO tarafından oksitlenen H_2O_2 'in O-dianisidin hidroklorid ile redüklenmesi ve bu redüklenmiş ürünün 460 nm'de absorbansının ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Bu amaçla dokular 1 gr tartılarak % 0,5 hekzadesil trimetil amonyum bromid içeren 10 ml 50 mM, pH: 6 potasyum fosfat tamponu içerisinde homojenizatörle 1 dk süreyle, buz banyosu içerisinde, homojenize edildi. % 10'luk homojenizatlar $+4 \text{ }^\circ\text{C}$ 12000 g'de 10 dakika süreyle santrifüj edildi. Elde edilen supernatantlar 460 nm'de spektrofotometrede ölçüldü ve sonuçlar mmol/dk/mg doku protein olarak hesaplandı (Bradley ve ark, 1982). Absorbans değişimi doku ağırlıklarına bölündü ($\Delta\text{A}/\text{dakika}/\text{gram}$ doku) ve dilüsyon faktörü ile çarpılan sonuçlar mmol/dk/mg protein olarak hesaplandı.

3.2.4. İstatistiksel Değerlendirme

Elde edilen parametrelerin dağılımı Shapiro-Wilk, varyans homojenitesi Levene's testi ile belirlendi. Gruplar arasındaki istatistiksel değerlendirmeler, verilerin normal dağılıma uygunluğuna göre Kruskal-Wallis veya one-way ANOVA ile belirlendi.

Gruplar arasındaki farklılıkların belirlenmesinde Duncan's testi veya Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Veriler SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, version 11.5) programında değerlendirilmiş ve $P < 0.05$ önemli olarak kabul edilmiştir (Conover, 1980).

4. BULGULAR

4.1. Canlı ağırlık

Çalışmaya başlamadan iki hafta önce ortama adaptasyonu sağlanan ratlardan oluşturulan deneysel gruplarda, canlı ağırlıklar arasında anlamlı fark saptanmadı (Tablo 4).

Tablo 4. Çalışma öncesi deneysel gruplara ait canlı ağırlıkların (g) karşılaştırılması (n=7).

Gruplar	Canlı ağırlık (g)
Kontrol (-)	334,28 ± 22,42
İndometazin (25 mg/kg)	335,00 ± 18,99
Lansoprazol (30 mg/kg)	321,42 ± 26,65
Silimarin (25 mg/kg)	330,00 ± 21,57
Silimarin (50 mg/kg)	327,85 ± 25,35
Silimarin (100 mg/kg)	325,00 ± 16,69
<i>P</i>	AD

AD: Anlamlı değil.

4.2. Makroskobik Bulgular

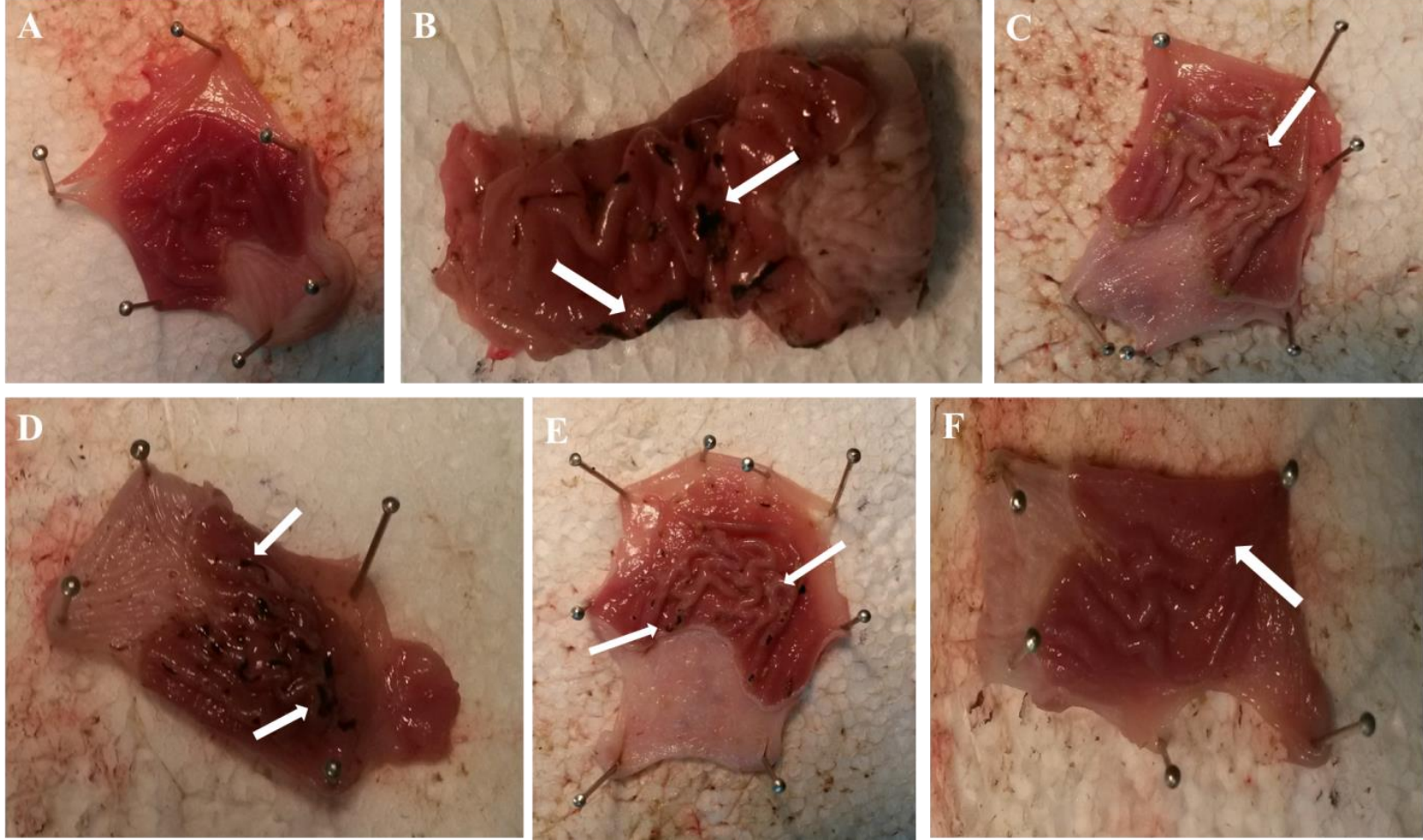
Mide örneklerinin nekropsi sonucunda milimetrik kâğıtla ölçülmesi ile deneysel gruplara ait mide ülser alanları ve grupların anti-ülseratif etkileri Tablo 5’de özetlenmiştir. İndometazin uygulanan grubun ülser alanı $33.42 \pm 2.53 \text{ mm}^2$ olup diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($P<0.001$). Silimarin 25 ve 50 mg/kg dozlarda verildiğinde gruplarda mide ülser alanı sırasıyla 18.71 ± 1.24 , $14.00 \pm 0.78 \text{ mm}^2$ olarak belirlenmiştir. Mide ülser alanları karşılaştırıldığında 100 mg/kg silimarin verilen grubun alanı ($3.71 \pm 1.01 \text{ mm}^2$) diğer gruplara göre anlamlı ölçüde düşük olduğu görülmüştür ($P<0.001$).

Tablo 5. Sıçanlarda indometazin ile oluşturulan gastrik ülser üzerine farklı dozlarda uygulanan silimarinin ülser alanı ve anti-ülseratif etkisi.

Gruplar	Doz	Ülser alanı (mm ²)	Anti-ülseratif etki (%)
Kontrol	distile su	0.0 ± 0.0 ^d	-
İndometazin	25 mg/kg	33.42 ± 2.53 ^a	0.0
Lansoprazol	30 mg/kg	0.0 ± 0.0 ^d	100
Silimarin	25 mg/kg	18.71 ± 1.24 ^b	44.01
Silimarin	50 mg/kg	14.00 ± 0.78 ^c	58.11
Silimarin	100 mg/kg	3.71 ± 1.01 ^d	88.88
<i>P</i>		***	

a, b, c, d Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.
*** $P < 0.001$.

Çalışmada en belirgin ülser odakları indometazin grubunda bulunan hayvanların midelerinde görüldü. Bu grupta mide mukozası genellikle hiperemik olup, birçok alanda değişen büyüklüklerde koyu kırmızı-siyah renkte fokal ya da çizgisel alanlar şeklinde kanamalar gözlemlendi. Kanamaların görülmediği alanlarda ise mide mukozası şişkin ve ödemliydi. Kontrol grubunda ve lansoprazol gruplarında ise dikkati çeken herhangi bir makroskobik bulgu veya ülserasyon alanına rastlanmamıştır. Silimarin verilen gruplarda ise doza bağımlı olarak artan bir anti ülseratif etki gözlemlenmiştir. İndometazin ile indüklenmiş sıçanlarda mide dokularına ait makroskobik görünüm ve kanama odakları Resim 6'da verilmiştir.



Resim 6. İndometazin ile indüklenmiş sıçanlarda mide dokularına ait makroskobik görünüm. **A.** Kontrol grubu. **B.** İndometazin grubu (25 mg/kg) **C.** Lansoprazol grubu (30 mg/kg) **D.** 25 mg/kg silimarin grubu. **E.** 50 mg/kg silimarin grubu. **F.** 100 mg/kg silimarin grubu. Oklar, fokal veya çizgisel kanama alanlarını göstermektedir.

4.3. Oksidan ve Antioksidan Parametre Analizlerine ait Bulgular

Antioksidan aktivite SOD, CAT, GSH düzeyleri hesaplanarak değerlendirilmiştir. SOD değerleri incelendiğinde indometazin grubunda 2.90 ± 0.36 U/mg/protein düzeyinde iken, silimarin 25, 50 ve 100 gruplarında sırasıyla 7.75 ± 0.66 , 9.29 ± 0.82 ve 10.54 ± 1.48 olarak bulunmuştur. Aynı değerler kontrol ve lansoprazol gruplarında sırasıyla 7.46 ± 0.66 ve 7.82 ± 0.55 U/mg protein olarak bulunmuştur. SOD düzeyleri karşılaştırıldığında silimarin en önemli etkisini 100 mg/kg uygulanan grupta göstermiştir.

CAT enzimi yönünden değerlendirildiğinde kontrol, indometazin, lansoprazol gruplarında sırasıyla 1.92 ± 0.29 , 2.60 ± 0.18 ve 1.57 ± 0.35 k/mg/protein olarak bulunmuştur. Silimarin 25, 50 ve 100 mg/kg'lık gruplarda sırasıyla 2.47 ± 0.37 , 2.34 ± 0.43 , 2.33 ± 0.15 k/mg/protein olarak bulunmuştur. Bu enzim açısından değerlendirildiğinde, silimarinin istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı belirlenmiştir.

GSH enzimi ise kontrol, indometazin ve lansoprazol gruplarında sırasıyla; 41.76 ± 6.23 , 14.90 ± 2.99 ve 38.18 ± 3.52 mg/g protein olarak bulunmuştur. Silimarinin 25, 50 ve 100 mg'lık grupları ise sırasıyla GSH düzeyleri 11.37 ± 3.35 , 24.02 ± 4.98 , 49.23 ± 7.68 mg/g proteindir. Elde ettiğimiz bulgulara göre Silimarin 50 ve 100 mg/kg'lık doz gruplarında anlamlı bir biçimde koruyucu etki göstermektedir ($P < 0,001$).

MDA değerleri incelendiğinde ise kontrol, indometazin ve lansoprazol gruplarında sırasıyla 41.99 ± 6.93 , 92.55 ± 13.67 ve 37.36 ± 4.08 nmol/mg protein olarak bulunmuştur. Silimarin 25, 50 ve 100 mg'lık gruplarda ise sırasıyla 69.21 ± 7.17 , 50.04 ± 6.83 ve 33.43 ± 2.69 nmol/mg protein olarak ölçülmüştür. Elde ettiğimiz bulgulara göre silimarin gruplarında 50 mg/kg'lık grupta kısmi, 100 mg'lık grupta anlamlı bir koruyucu etki görülmektedir ($P < 0,01$).

MPO enzimi değerlendirildiğinde; kontrol, indometazin ve lansoprazol gruplarında sırasıyla 15.06 ± 2.85 , 91.75 ± 35.00 , 26.51 ± 7.97 mmol/mg protein olarak bulunmuştur. Bu gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($P < 0.01$) bulunmuştur. Silimarin 25, 50 ve 100 mg/kg'lık gruplarda ise sırasıyla 64.93 ± 2.09 , 57.68 ± 4.30 , 32.59 ± 14.27 mmol/mg proteindir. Silimarin ve indometazin grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır MPO güçlü oksidan enzimlerden olup hipoklorik asit üretimini katalizler.

İndometazin ile indüklenmiş deneysel ülser çalışmamızda elde edilen oksidan ve antioksidan parametre bulguları Tablo 6.'da özetlenmiştir.

Tablo 6. İndometazin ile indüklenmiş sıçan mide dokusu oksidan ve antioksidan parametre düzeyleri.

Grup	Parametre				
	SOD (U/mg protein)	CAT (k/mg protein)	GSH (mg/g protein)	MDA (nmol/mg protein)	MPO (mmol/dk/mg protein)
Kontrol (distile su)	7.46 ± 0.66 ^b	1.92 ± 0.29	41.76 ± 6.23 ^a	41.99 ± 6.93 ^c	15.06 ± 2.85 ^b
İndometazin (25 mg/kg)	2.90 ± 0.36 ^c	2.60 ± 0.18	14.90 ± 2.99 ^c	92.55 ± 13.67 ^a	91.75 ± 35.00 ^a
Lansoprazol (30 mg/kg)	7.82 ± 0.55 ^b	1.57 ± 0.35	38.18 ± 3.52 ^{a,b}	37.36 ± 4.08 ^c	26.51 ± 7.97 ^b
Silimarin (25 mg/kg)	7.75 ± 0.66 ^b	2.47 ± 0.37	11.37 ± 3.35 ^c	69.21 ± 7.17 ^{a,b}	64.93 ± 2.09 ^a
Silimarin (50 mg/kg)	9.29 ± 0.82 ^{a,b}	2.34 ± 0.43	24.02 ± 4.98 ^{b,c}	50.04 ± 6.83 ^{b,c}	57.68 ± 4.30 ^a
Silimarin (100 mg/kg)	10.54 ± 1.48 ^a	2.33 ± 0.15	49.23 ± 7.68 ^a	33.43 ± 2.69 ^c	32.59 ± 14.27 ^b
<i>P</i>	***	AD	***	**	**

SOD: Süperoksit dismutaz, CAT: Katalaz, GSH: Glutasyon, MDA: Malondialdehid, MPO: Miyeloperoksidaz.

^{a, b, c} Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

AD: Anlamlı değil, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

5. TARTIŞMA

Gastrik ülser sindirim sistemi problemleri arasında önemli bir yere sahiptir. Nedenleri değişik sebeplere bağlı olmakla birlikte İnsanlarda tüm yaşamları boyunca ülsere yakalanma oranları erkeklerde % 11-14 iken kadınlarda bu oran % 8-11 arasındadır. Önceleri asitle ilişkilendirilmiş bu hastalık asit ortamın ortadan kalkmasıyla düzelebileceğine inanılmıştır. Normal bir midede asit ve pepsinin (agresif faktörler) zararlı etkisi ile koruyucu faktörler (defansif faktörler: mukus, bikarbonat sekresyonu, mide epitel hücrelerinin bütünlüğü, yenilenmesi ve kanlanması) arasında denge vardır. Bu denge agresif faktörler lehine bozulduğunda ülser oluşur. Son yıllarda kaydedilen gelişmelere rağmen bugün hala ülser patogeneğinde açıklanamamış sorular bulunmaktadır (Kılıçarslan ve ark, 2011).

Tarihsel süreç içerisinde, hücresel ve moleküler çalışmaların artmasıyla, asit salınım mekanizmalarının ve dolayısıyla ülserin aydınlatılmasında ilerleme sağlanmıştır. Midede paryetal hücrelerde bulunan histamin reseptörlerine karşı antagonist (H_2 reseptör antagonistleri) geliştirilmesi asit-peptik hastalıkların tedavisinde yeni gelişmelere neden olmuştur (Kato, 1976).

Bazı araştırmacılar da mide mukozasında proton pompasını saptamışlardır (Forte ve ark, 1973). Bu pompanın bulunuşu asit sekresyonunun hücresel düzeyde azaltılmasında önemli olduğundan ülserlerle ilgili tedavide büyük mesafe kat edilmesine neden olmuştur. Özellikle *H. pylori*'nin rol almadığı NSAİ kaynaklı ülserlerin tedavilerinde etkili olmuştur. Proton pompası inhibitörlerinin (lansoprazol, omeprazol) bulunuşu ülser tedavilerinde çok büyük mesafe kat edilmesine neden olmakla birlikte bu ilaçların uzun süre kullanılmaları bazı sorunlara neden olabilir. Mide asidi bakterilere karşı bariyer etkisi yarattığı için bu asit ortamın ortadan kaldırılması ülseri tedavi etse de mikrobiyal sindirim sistemi hastalıklarına (salmonellosis, şigellozis, kolera ve clostridial enfeksiyonlar), kolite, besin maddelerindeki vitamin B₁₂, kalsiyum, demir, fosfor, magnezyumun yeterli düzeyde emilmemesine neden olabilmektedir. Bu etkiler çok ciddi olup proton pompası inhibitörlerinin uzun süre (1 yıl ve üzeri) kullanımında sorunlar yaratabilmektedir (Uygun, 2013).

Ülserlerin uzun süreli tedavilerinde asit salınımı güçlü bir şekilde baskılayan ilaçların kullanımına alternatif olabilecek yöntemler, gastroprotektif ajanlar ve bitkisel flavonoidlerin kullanımı son yıllarda üzerinde durulan konulardan biridir (Borrelli ve ark,

2000). Bu çalışmada mide ülserlerinde klasik yöntemlerine alternatif olabilecek koruyucu yöntemlerin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Mevcut literatür verileri ışığında silimarin bu amaçla kullanılmıştır.

Klasik tedaviler dışında alternatif tedaviler ve gastroprotektif etkili maddelerin kullanılmasıyla ilgili; *H. pylori*'e bağlı ülserlerde Esmæili ve ark (2012) soya fasülyesi okaliptüs ve kekik yağı tedavisi yönünde çalışmaları mevcuttur. Bu maddeleri tedavide etkili olabileceği görülmüştür. *H. pylori* tarafından oluşturulmuş gastritisin tedavisinde sofora adlı bitki (*Sophora alopecuroides*) alkaloidlerinin yararlı sonuçlar verdiği bildirilmiştir (Tian ve ark, 2014).

Ülserlerin *H. pylori*'den sonra en çok görülme nedenleri arasında NSAİ maddeler sayılabilir. Dolayısıyla bu maddelerin kullanımı sonucu oluşan ülserlerin tedavisi yönünde de araştırmalar hız kazanmıştır. NSAİ maddelerle indüklenmiş ülserasyon modelinde Amazon ormanlarında yetişen *Picrolemma sprucei* adlı bitkide bulunan isobrucein B adlı maddenin lökositlerin etkilerini azaltarak gastro-protektif etki yaptığı bildirilmiştir (Vieira ve ark, 2014). İnulin içeriği yüksek olan *Vernonia kotschyana* adlı bitkinin gastritis ve gastro-duodenal ülserde koruyucu ve tedavi edici özellikleri nedeniyle Afrika kıtası ülkelerinden Mali'de kullanıldığı tespit edilmiştir (Germano ve ark, 1996). Etil alkolle oluşturulmuş gastritiste koruyucu etki yapan ve Brezilya'da yetişen *Caesalpinia pyramidalis* adlı bitkinin anti-inflamatuar etkilerinden dolayı kullanıldığı bildirilmektedir (Diniz ve ark, 2015).

Yapılan çalışmalarda indometazin ile indüklenmiş mide ülserinin patogenezisinde reaktif oksijen türleri (ROT) ve lipid peroksidasyon oluşumu ile GSH azalmasının önemli rol onadığı ve bu değişikliklerin mide mukozası hücrelerinde oksidatif hasardan sorumlu olduğu bildirilmiştir (Ganguly ve ark, 2006; Park ve ark, 2013).

Ratlarda indometazinle indüklenmiş ülserasyon modellerinde kudret narı (*Momordica charantia* L, *cucurbitacea*) olarak da bilinen meyvenin yağlı ekstresinin (5 ml/kg ve 10 ml/kg dozda) antiülseratif etkiler sağladığı vurgulanmıştır (Dengiz ve ark, 2005). Yine indometazinle indüklenmiş ülserasyon modelinde selenyumun koruyucu etkilerinin araştırıldığı çalışmada 100 µg/kg dozda selenyum kullanımının ülser oluşumunu azalttığı; serbest oksijen radikalleri ve lipid peroksidasyonu düşürdüğü belirtilmiştir (Hwan ve ark, 2011).

Hücrede antioksidan sisteme katılarak koruyucu etki yaratan bazı maddeler (silimarin, likopen ve selenyum gibi) ülser tedavilerinde gastroprotektif amaçla kullanılabilir. Mide mukozasında oluşan hasarı hücre düzeyinde elimine etmek, oksidan/antioksidan dengenin, antioksidan lehine değiştirilmesi önem arz eder. Organizmanın oksidan olarak tanımlanan serbest radikallere karşı savunma sisteminde öncelikle hücrelerdeki enzim sistemleri (SOD, CAT, GSH-P_x) ve enzimatik olmayan sistemler (vitamin A, E, C, glutasyon, beta karotenler) rol alırlar (Fraschini ve ark, 2002).

Silimarin doğal ve güçlü polifenolik flavonoid antioksidan olup geniş biyolojik etkileri bulunmaktadır. Bu bileşikler mide üzerine koruyucu etkilerini PGE sentezini arttırmaları (Alcaraz ve Houlst, 1985), mast hücrelerinde *histidin dekarboksilaz* inhibisyonuyla histamin salımını azaltmaları (Bronner ve Landry, 1985) ve hücrede oluşan serbest radikalleri ortadan kaldırmaya yardımcı olmalarıyla sağlarlar (Mourelle ve ark, 1989; Comoglio ve ark 1990).

Daha önce silimarinin, indometazinle indüklenmiş ülser modelinde kullanıldığına dair bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Ancak silimarin kullanılarak ratlarda etanolle indüklenmiş ülserasyon ve gasritisin koruyucu etkileri yönünden incelenmiş olup gastroprotektif etkileri olduğu gösterilmiştir (Jung ve ark, 2013). Ayrıca bazı araştırmalarda ratlarda soğuk stresiyle oluşturulmuş ülser modelinde silimarinin enzimatik peroksidasyon ve lökotrien sentezini azaltarak ülserden koruyucu etkinlik sağladığını tespit etmiştir (Alarcon ve ark, 1992).

Etkin bir antioksidan olan silimarinin ratlarda indometazin ile oluşturulan deneysel gastrik ülser modeli üzerindeki etkisinin ve olası etki mekanizmalarının, makroskobik ve dokuda oksidan/antioksidan dengeye olan etkisi araştırılması hedeflenmiştir. Kullanılan ülser modeli ve ilaç dozları daha önceki araştırmacıların belirlediği protokollere uygun şekilde tatbik edilmiştir (Chattopadhyay ve ark, 2006; Odabaşoğlu ve ark, 2008).

Ülser alanları makroskobik yönden ele alındığında, bu çalışmada yüksek doz silimarin (100 mg/kg) uygulanan grubun sonuçları ($3,71 \pm 1,01 \text{ mm}^2$), kontrol grubu ($0,0 \pm 0,0 \text{ mm}^2$) ve lansoprazol grubu ($0,0 \pm 0,0 \text{ mm}^2$) ile karşılaştırıldığında, antiülseratif etkileri yönünden istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($P>0.05$). Bu durum silimarinin söz konusu dozda koruyucu etkileri olduğunu doğrulamaktadır. Lansoprazol kullanılan grupta antiülseratif etkiler % 100 iken, silimarin yüksek doz (100 mg/kg verilen grup)

verildiğinde bu etki % 88.88 gibi yüksek bir orandadır (Tablo 4.). Daha önceki çalışmalarda alkol ve soğuk kullanılarak indüklenmiş ülser çalışmalarında, silimarin göstermiş olduğu gastroprotektif etkileri indometazin tarafından meydana gelebilecek zararlı etkilere karşı da göstermektedir. Silimarinin bu koruyucu etkileri midede PG sentezini artırması (Alcaraz ve Houlst, 1985) ve serbest radikal temizleme yeteneğine sahip güçlü bir antioksidan olduğunu bildirmektedir (Velmurugan ve ark, 2004). Deneysel gruplara ait sıçanların mide örneklerinin makroskobik olarak incelendiği bu çalışmada, en yaygın ve şiddetli bulgular yalnızca indometazin uygulanan grupta saptandı. Bu bulgular indometazin ile oluşturulan mide ülseri modelinin incelendiği çalışmalarla uyumluluk göstermektedir (Guha ve ark, 2010; Zaki ve Mohamed, 2014).

SOD, aerobik organizmalarda serbest radikallerin neden olduğu oksidatif hasarın önlenmesinde önemli bir antioksidan olarak rol oynar. Hücre içi süperoksit radikal miktarını azaltır. Şöyle ki, güçlü bir reaktif radikal olan süperoksit anyonunu ($O_2^{\cdot-}$) daha zayıf bir reaktif olan H_2O_2 'e dönüştürür. H_2O_2 ise CAT ve glutatyon peroksidaz (GSHPx) aracılığı ile suya dönüşür. Subhash ve ark (2007) likopenin SOD aktivitesini stimüle ettiğini rapor etmişlerdir. Farklı çalışmalarda *Nigella sativa* ve selenyum ilavesinin mide dokusu SOD ve GSHPx aktivitelerini artırdığı belirtilmiştir (El-Masry ve ark, 2010; Kim ve ark, 2011). Bu çalışmada da, indometazin grubuyla karşılaştırıldığında, SOD aktivitesi ($P<0.001$) ve GSH seviyeleri ($P<0.001$) kontrol, lansoprazol ve silimarin 100 grubunda yüksek bulunmuştur. Mide dokusu SOD aktivitesindeki bu anlamlı artış, indometazin kaynaklı oksidatif strese bağlı ortaya çıkan $O_2^{\cdot-}$ 'nin aşırı üretimi olabilir.

Ksenobiyotiklerin en önemli detoksifikasyon yollarından biri GSH ile olan konjugasyonlarıdır. GSH, H_2O_2 'in detoksifikasyonunda önemli rol oynar. Hücreyi korumak amaçlı artmış olan GSH aktivitesi, aşırı $O_2^{\cdot-}$ üretimi veya peroksidlerden kaynaklanıyor olabilir. GSH-redüktaz okside glutatyonu GSH'a dönüştürür. Nikotinamid adenin dinukleotid fosfat hidrojen (NADPH) bu reaksiyonda elektron verici olarak rol alır. Bu çalışmada indometazinin NADPH'ı baskıladığı düşünülebilir. Literatürler mide dokusu GSH seviyesinin ülserle ilgili olarak düştüğünü, antioksidanların ve medikal bitki ekstraktlarının mide dokusu GSH seviyesinde önemli rol oynadığını bildirmektedir (Chattopadhyay ve ark, 2006; Lee ve ark, 2014). Bu çalışmanın sonuçları, daha önce yapılan araştırmaların sonuçları ile uyum göstermektedir. Mide dokusu GSH seviyesinin

azalmasının nedeni indometazin kaynaklı oksidan/antioksidan dengenin bozulmasına bağlı olabilir.

Hücre peroksizomlarında yer alan CAT enzimi H₂O₂'i moleküler su ve oksijene dönüştürür. Mide dokusunda indometazinin neden olduğu CAT aktivitesindeki artış 100 mg/kg silimarin ve lansoprazol ile önlenmiş olmasına rağmen, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Artan CAT aktivitesi hızla üretilen süperoksit radikallerinden kaynaklanıyor olabilir ya da hücre bütünlüğünü GSH korumuş olabilir. Ancak çalışmamızda CAT aktivitesi yönünden gruplar arasında fark bulunamaması, ilgili ajanların indometazin uygulamasından 5 dakika önce oral yolla verilmesi sonucunda, midede absorpsiyon öncesinde reaksiyona girmeleri ve sonuçta etkisiz hale gelmesi ile açıklanabilir. Çalışmamızdan farklı olarak, önceki çalışmalarda indometazin uygulamasına bağlı olarak mide dokusu CAT aktivitesinin arttığı bildirilmiştir (Odabaşoğlu ve ark, 2008; Polat ve ark, 2011).

MDA lipid peroksidasyonunun önemli belirteçlerinden olup hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonuna, zar özelliklerinin değişmesine neden olmakta ve oksidatif hasar sonucunda yükselmektedir. MDA açısından değerlendirildiğinde 25 mg/kg dozda silimarin uygulanan grup ile indometazin grubunda istatistiksel fark olmadığı görülmektedir. Bu durum düşük doz verilen grupta MDA yönünden koruyucu etkilerin olmadığını göstermektedir. Aynı şekilde 50 mg/kg dozda silimarin uygulanan grupta da koruyucu etkiler yeterli düzeyde değildir. Beklenen koruyucu etkinlik uygulanan dozla doğru orantılı bir biçimde arttığı ve en iyi etkinin 100 mg/kg dozda silimarin uygulanan gruplarda olduğu görülmektedir ($P<0.01$). Bu veriler silimarinin lipid peroksidasyonu ve hücre hasarı önlemede doza bağlı etkisi olduğunu göstermektedir. İndometazin ile oluşturulmuş ülser modelinde, okside olmuş serbest radikal gidericisi olan kurkuminin lipid peroksidasyonunu azalttığı bildirilmiştir (Swarnakar ve ark, 2005).

MPO güçlü oksidan kaynaklardan biri olup hücrede hipoklorik asit üretimini katalizlemektedir. MPO'nun aynı zamanda gastrik hücrelerde ülserasyon derecesini değerlendirmek için bir gösterge olduğu da ifade edilmiştir (Guha ve ark, 2010; Antonisamy ve ark, 2014). Bu çalışmada silimarinin 100 mg/kg uygulandığı grubun lansoprazol ve kontrol gruplarıyla kıyaslandığında aralarında istatistiksel fark bulunamamıştır ($P<0.05$). Aynı modelin baz alındığı diğer çalışmalarda da benzer sonuçlar

elde edilmiştir (Halıcı ve ark, 2011; Perez ve ark, 2013). Bu durum MDA sonuçları ile paralellik göstermektedir.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Silimarin grupları kendi aralarında ele alındığında (25, 50 ve 100 mg/kg) koruyucu etkilerin doza bağılı olarak arttığı görülmüş, en yüksek koruyucu etkinliğin 100 mg/kg dozda sağlandığı belirlenmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar silimarinin doza bağılı olarak anlamlı bir koruyucu etki yarattığı yönündedir.

Tüm oksidan ve antioksidan parametreler ile makroskobik veriler ele alındığında, bu çalışmada silimarinin indometazinle indüklenmiş ülser modelinde koruyucu etkinliğe sahip olduğu ancak bu etkinin doza bağılı olarak oluştuğu; düşük dozda (25 mg/kg) bu etki sınırlı iken, yüksek dozda (100 mg/kg) uygulandığında koruyucu etkinin arttığı saptanmıştır. Silimarinin 100 mg/kg dozda indometazinle indüklenmiş gastrik ülserde koruyucu etkisi olduğu sonucuna varılmıştır. Bu nedenle silimarin indometazin veya diğer NSAİ ilaçların neden olduğu mide hasarının önlenmesinde yararlı olabilir. Ayrıca silimarinin zararlı yan etkilerinin olmaması, vücut tarafından iyi tolere edilmesi ve ucuz olması nedeniyle de elde edilen sonuçların insan ve hayvan sağlığı açısından oldukça önemli olacağı sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

- Aebi H.** Catalase *in vitro* assay methods, *Methods in Enzymology* 1984, 105, 121-126.
- Alarcon L, Martin MJ, Marhuenda E.** Gastric anti-ulcer activity of silymarin, a lipoxygenase inhibitor in rats. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics* 1992, 44, 929-931.
- Alcaraz MJ, Hoult JR.** Actions of avonoids and the novel anti-inflammatory avone, hypolaetin-8-glucoside, on prostaglandin biosynthesis and inactivation. *Biochemical Pharmacology* 1985, 34, 2477-2482.
- 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(6), 1165-1171.
- Antonisamy P, Dhanasekaran M, Ignacimuthu S, Durairandiyan V, Balthazar JD, Agastian P, Kim JH.** Gastroprotective effect of epoxy clerodane diterpene isolated from *Tinospora cordifolia* Miers (Guduchi) on indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Phytomedicine* 2014, 21, 966-969.
- Ardoin SP, Sundy JS.** Update on nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Current opinion in rheumatology* 2006, 18, 221-226.
- Borrelli F, Angelo AI.** The plant kingdom as a source of anti-ulcer. *Remedies Phytotherapy Research* 2000, 14, 581-591.
- Bosisio E, Benelli C, Pirola O.** Effect of flavanoligands of *Silybum marianum* L. on lipid peroxidation in rat liver microsomes and freshly isolated hepatocytes. *Pharmacological Research* 1992, 25, 147-154.
- Bradley PP, Priebat DA, Christensen RD, Rothstein G.** Measurement of cutaneous inflammation: Estimation of neutrophil content with an enzyme marker. *The Journal of Investigative Dermatology* 1982, 78, 206-209.
- Bronner C, Landry Y.** Kinetics of the inhibitory effect of avonoids on histamine secretion from mast cells. *Agents Actions* 1985, 16, 147-151.
- Brooks PM.** NSAIDs. In: Klippel JH, Dieppe PA (eds), *Textbook of Rheumatology*. 2 nd ed. London, Harcourt Publisher Ltd, 2000, s 1-6.
- Burke A, Smyth E, FitzGerald GA.** Analgesic-antipyretic agents; pharmacotherapy of gout. In: Brunton LL (ed) *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. USA, The McGraw-Hill Companies, 2006, s 695-696.

- Chattopadhyay I, Bandyopadhyay U, Biswas K, Maity P, Banerjee RK.** Indomethacin inactivates gastric peroxidase to induce reactive-oxygen-mediated gastric mucosal injury and curcumin protects it by preventing peroxidase inactivation and scavenging reactive oxygen. *Free Radical Biology and Medicine* 2006, 40, 1397-1408.
- Comoglio A, Leonarduzzi G, Carni R, Busolin D, Basaga H, Albano E, Tomasi A, Poli G, Morazzoni P, Magistretti MJ.** Studies on the antioxidant and free radical scavenging properties of IdB 1016 a new flavanolignan complex, *Free Radical Research Communications* 1990, 11, 109-115.
- Conover WJ.** Practical Nonparametric Statistics 2 nd ed, John Wiley&Sons, New York, 1980, 229-239.
- Dengiz GÖ, Gürsan N.** Ratlarda indometazinle oluflturulan ülser modeline kudret narının etkileri *The Turkish Journal of Gastroenterology* 2005, 16 (2), 85-88.
- Desplaces A, Choppin J, Vogel G.** The effect of silimaryn on experimental phalloidine poisoning. *Arzneimittelforschung* 1975, 25, 89-96.
- Diniz PB, Ribeiro AR, Estevam CS, Bani CC, Thomazzi SM.** Possible mechanisms of action of Caesalpinia pyramidalis against ethanol-induced gastric damage. *Journal of Ethnopharmacology* 2015, 20 (168), 79-86.
- Ding T, Tian S, Zhang Z, Gu D, Chen Y, Shi Y, Sun Z.** Determination of active component in silymarin by RP-LC and LC/MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2001, 26, 155-161.
- Esmaili D, Mobarez AM, Tohidpour A.** Anti-helicobacter pylori activities of shoya powder and essential oils of thymus vulgaris and eucalyptus globulus. *The Open Microbiology Journal* 2012, 6, 65-69.
- El-Masry TA, Elahwelb AM, Emara AM.** Study on treating ethanol-induced gastric lesions with omeprazole, *Nigella sativa* oil, or both. *Toxicological and Environmental Chemistry* 2010, 92, 1765-1782.
- Flora K, Hahn M, Rosen H, Benner K.** Milk thistle (*Silybum marianum*) for the Therapy of liver disease. *The American Journal of Gastroenterology* 1998, 93, 139-143.
- Forte JG, Forte TM, Heinz E.** Isolation of plasma membranes from Ehrlich ascites tumor cells. Influence of amino acids on $(Na^{++}K^{+})$ -ATPase and K^{+} -stimulated phosphatase. *Biochimica et Biophysica Acta* 1979, 298(4), 827-841.
- Fraschini F, Dermartini G, Esposti D.** Pharmacology of Silymarin. *Clinical Drug Investigation* 2002, 22, 51-65.

- Ganguly K, Kundu P, Banerjee A, Reiter RJ, Swarnakar S.** Hydrogen peroxide-mediated downregulation of matrix metalloproteinase-2 in indomethacin-induced acute gastric ulceration is blocked by melatonin and other antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine* 2006, 41, 911-925.
- Germano MP, de Pasquale R, Iauk L, Galati EM, Keita A, Sanogo R.** Antiulcer activity of *Vernonia kotschyana* sch. bip. *Phytomedicine* 1996, 2(3), 229-233.
- Guha P, Dey A, Chatterjee A, Chattopadhyay S, Bandyopadhyay SK.** Pro-ulcer effects of resveratrol in mice with indomethacin-induced gastric ulcers are reversed by L-arginine. *British Journal of Clinical Pharmacology* 2010, 159, 726-734.
- Guidobono F, Pagani F, Ticozzi C, Sibilia V, Pecile A, Netti C.** Protection by amylin of gastric erosions induced by indomethacin or ethanol in rats. *British Journal of Clinical Pharmacology* 1997, 120, 581-586.
- Guyton AC.** Textbook of Medical Physiology, Physiology of Gastrointestinal Disorders. 7th ed, Saunders Company, Philadelphia, 1986, s 798-805.
- Halıcı M, Küfrevioğlu OI, Odabaşoğlu F, Halıcı Z, akır A, Aslan A.** The ethanol-water extract of *Ramalina capitata* has gastroprotective and antioxidative properties: an experimental study in rats with indomethacin-induced gastric injuries. *Journal of Food Biochemistry* 2011, 35, 11-26.
- Hwan KJ, Kim BW, Kwon HJ.** Curative Effect of Selenium Against Indomethacin-Induced Gastric Ulcers in Rats. *Microbial Biotechnology* 2011, 21(4), 400-404.
- Jung HS, Lee CW, Oha SJ, Yun J, Lee K, Park SK, Kim HM, Han SB, Kim Y, Kim HC, Kang J.** Protective effect of silymarin against ethanol-induced gastritis in rats: Role of sulfhydryls, nitric oxide and gastric sensory afferents. *Food and Chemical Toxicology* 2013, 55, 353-357.
- Kato Y.** Histamin H₂ receptor and H₂ antagonist. *Kokubyo Gakkai Zasshi* 1976, 43(2), 189-90.
- Kaya S.** Tıbbi Botanik ve Tıbbi Bitkiler (1. baskı), Medisan Yayınevi, Ankara, 2008.
- Kaya S.** Veteriner Farmakoloji (5. baskı), cilt 2, Kaya S, Pirini İ, Ünsal A, Traş B, Bilgili A, Akar F (eds) Medisan Yayınevi, Ankara, 2009.
- Kayaalp OS.** Peptik Ülser Tedavisinde Kullanılan İlaçlar. In: Ozdemir O, Topal G, Yıldırım A, Kayaalp O (eds), Akılcı Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji (13. baskı), Pelikan Kitabevi, Ankara, 2012, 1409-1422.
- Kılıçarslan H, Kalyon S, Yenice N.** Peptik ülser etyopatogenezi, *Okmeydanı Tıp Dergisi* 2011, 27(2), 65-69.

- Kim JH, Kim BW, Kwon HJ, Nam SW.** Curative effect of selenium against indomethacin-induced gastric ulcers. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 2011, 21, 400-404.
- Kocaman N, Dabak DÖ.** Hepatoprotektif bir ajan: Silymarin. *Firat Tıp Dergisi* 2015, 20(3), 128-132.
- Kommenou AT, Georgiades GK, Savvas I, Dessiris A.** Surgical treatment of gastric impaction in farmed ostriches. *Journal of veterinary medicine. A, Physiology, pathology, clinical medicine* 2003, 50(9), 474-477.
- Kourounakis PN, Tsiakitzis K, Kourounakis AP, Galanakis D.** Reduction of gastrointestinal toxicity of NSAIDs via molecular modifications leading to antioxidant anti-inflammatory drugs. *Toxicology* 2000, 144, 205-210.
- Kurumbail R, Kiefer JR, Marnett LJ.** Cyclooxygenase enzymes: Catalysis and inhibition. *Current Opinion in Structural Biology* 2001, 11 (6), 752-760.
- Lecomte J.** Pharmacologic properties of silybin and silymarin. *Revue Medicale De Liege* 1975, 30, 110-104.
- Lee IC, Baek HS, Kim SH, Moon C, Park SH, Kim SH, Shin IS, Park SC, Kim JC.** Effect of diallyl disulfide on acute gastric mucosal damage induced by alcohol in rats. *Human and Experimental Toxicology* 2014, 34(3), 227-239.
- Levine RA, Nandi J, King RL.** Nonsalicylate nonsteroidal antiinflammatory drugs augment pre-stimulated acid secretion in rabbit parietal cells: Investigation of the mechanisms of action. *Gastroenterology* 1991, 101(3), 756-765.
- Lockrey, G., Lima, L.** Peptic ulcer disease in older people. *Journal of Pharmacy Practice and Research* 2011, 41, 58-61.
- Mathews KA.** Non-steroidal anti-inflammatory analgesics: a review of current practice. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 2002, 12, 89-97.
- Mourelle M, Muriel P, Favari L, Franco T.** Prevention of CCL4-induced liver cirrhosis by silymarin. *Fundamental and Clinical Pharmacology* 1989, 3, 183-191.
- Nguelefack, TB, Feumebo CB, Ateufack G, Watcho P, Tatsimo S, Atsamo D, Tane P, Kamanyi A.** Anti-ulcerogenic properties of the aqueous and methanol extracts from the leaves of *Solanum torvum* Swartz (Solanaceae) in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2005, 119, 135-140.
- Odabaşoğlu F, Halici Z, Cakir A, Halici M, Aygun H.** Beneficial effects of vegetable oils (corn, olive and sunflower oils) and α -tocopherol on anti-inflammatory and

gastrointestinal profiles of indomethacin in rats. *European Journal of Pharmacology* 2008, 591, 300-306.

Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry* 1979, 95, 351-358.

Park, S.H., Hong, H., Han, Y.M., Kangwan, N., Kim, S.J., Kim, E.H., Hahm, K.B. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) sparing effects of glucosamine hydrochloride through *N*-glycosylation inhibition; strategy to rescue stomach from NSAID damage. *Journal of Physiology and Pharmacology* 2013, 64, 157-165.

Perez Y, Oyarzabal A, Mas R, Molina V, Jimenez S. 2013. Protective effect of D-002, a mixture of beeswax alcohols, against indomethacin-induced gastric ulcers and mechanism of action. *Journal of Natural Medicines* 2013, 67, 182-189.

Polat B, Albayrak Y, Süleyman B, Dursun H, Odabaşoğlu F, Yiğiter M, Halıcı Z, Süleyman H. Antiulcerative effect of dexmedetomidine on indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Pharmacological Reports* 2011, 63, 518-526.

Radko L, Cybulski W. Application of silymarin in human and animal medicine. *Journal of Pre-Clinical Research* 2007, 1, 22-26.

Rastogi R, Srivastava AK, Srivastava M, Rostogi AK. Hepatocurative effect of picroliv and silymarin aflatoxin B₁ induced hepatotoxicity in rats. *Planta Medica* 2000, 66, 709-713.

Sabik LME, El-Rahman SSA. Alpha-tocopherol and ginger are protective on cyclophosphamide-induced gonadal toxicity in adult male albino rats. *Basic and Applied Pathology* 2009, 2, 21-29.

Schubert ML, Peura DA. Control of gastric acid secretion in health and disease. *Gastroenterology* 2008, 134, 1842-1860.

Shin JH, Lee CW, Oh SJ, Yun J, Lee K, Park SK, Kim HM, Han SB, Kim Y, Kim HC, Kang JS. Protective effect of silymarin against ethanol-induced gastritis in rats: Role of sulfhydryls, nitric oxide and gastric sensory afferents. *Food and Chemical Toxicology* 2013, 55, 353-357.

Subhash K, Bose C, Agrawal BK. Effect of short term supplementation of tomatoes on antioxidant enzymes and lipid peroxidation type-II diabetes. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 2007, 22, 95-98.

Sullivan M, Yool DA. Gastric disease in the dog and cat. *The Veterinary Journal* 1998, 156, 91-106.

- Sun Y, Oberley LW, Li Y.** A simple for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry* 1988, 34, 497-500.
- Süzer Ö.** Tedavinin Farmakolojik Temeli, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, 2009.
- Swaby H, Gregory NG.** A note on the frequency of gastric ulcers detected during post-mortem examination at a pig abattoir. *Meat Science* 2012, 90(1), 269-271.
- Swarnakar S, Ganguly K, Kundu P, Banerjee A, Maity P, Sharma AV.** Curcumin regulates expression and activity of matrix metalloproteinases 9 and 2 during prevention and healing of indomethacin-induced gastric ulcer. *Journal of Biological Chemistry* 2005, 280, 9409-9415.
- Şener MG, Paskaloğlu K, Arbak S, Hurdag C, Ayanoglu DG.** Protective effect of famotidine, omeprazole and melatonin against acetylsalicylic acid-induced gastric damage in rats. *Digestive Diseases and Sciences* 2001, 46(2), 318-30.
- Tian A, Xu T, Liu K, Zou Q, Yan X.** Anti-helicobacter pylori effect of total alkaloids of sophora alopecuroides in vivo. *Chinese Medical Journal* 2014, 127(13),2484-2491.
- Tietze F.** Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: applications to mammalian blood and other tissues. *Annals of Biochemistry* 1969, 27, 502-22.
- Turgut K, Ok M.** (2001) Kedi Köpek Gastroenterolojisi, Semptomdan Teşhis, Bahçivanlar Basım Yayın, 2001, s 153-164.
- Uygun A.** (2013) Uzun süre proton pompa inhibitörleri (PPI) kullanılacaksa, hangi PPI tercih edilmelidir? GATA Gastroenteroloji Bilim Dalı Etlik, Ankara <http://guncel.tgy.org.tr/journal/44/pdf/100108.pdf> (16.09.2015).
- Valenzuella A ve Garride A.** Biochemical bases of the pharmacological action of the flavonoid silymarin and of its structural isomer silibinin. *Biological Research* 1994, 27, 105-112.
- Vane JR.** Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature New Biology* 1971, 231, 235-237.
- Varzi HN, Esmailzadeh S, Morovvatti H, Avizeh R, Shahriari A, Givi ME.** Effect of silymarin and vitamin E on gentamicin-induced nephrotoxicity In Dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 2007, 30, 477-481.
- Velmurugan B, Santhiya ST, Nagini S.** Protective effect of sallylcysteine and lycopene in combination against N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine-induced genotoxicity. *Polish Journal of Pharmacology* 2004, 56, 241-245.

Vieira SM, Silva RL, Lemos HP, Amorim RC, Silva EC, Reinach PS, Cunha FQ, Pohlit AM, Cunha TM. Gastro-protective effects of isobrucein B, a quassinoid isolated from *Picrolemma sprucei*. *Fitoterapia* 2014, 95, 8-15.

Yang YX, Metz DC. Safety of proton pump inhibitor exposure. *Gastroenterology* 2010, 139(4), 1115-1127.

Yoshikawa T, Naito Y, Ueda S, Oyamada H, Takemura T, Yoshida N, Sugino S, Kondo M. Role of oxygen-derived free radicals in the pathogenesis of gastric mucosal lesions in rats. *Journal of Clinical Gastroenterology* 1990, (1), 65-71.

Zaki SM, Mohamed EA. Effect of glucocorticoids on indomethacin-induced gastric ulcer in the adult male albino rat-histological, morphometric and electron microscopy study. *Archives of Medical Science* 2014, 10, 381-388.

EKLER

Ek 1: Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu (ADÜ_HADYEK)




T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(ADÜ-HADYEK)




Aydın, 2 Eylül 2013

Oturum : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2013 Yılı VII. Oturumu
Sayı : 64583101/2013/065
Proje Başlığı : Ratlarda indometazin ile oluşturulan gastrik ülser üzerine silimarinin koruyucu etkisinin araştırılması
Protective effect of silymarin on indomethacin induced gastric ulcer in rats
Proje Yürütücüsü : Murat BOYACIOĞLU
Proje Ekibi : Barış TAŞDEMİR
Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:
İnsan embriyosu ve fötüsü kullanılması
İnsan embriyosu ve fötüsü dokularının kullanılması
Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması
Hayvan Çalışması : İnsanlarda araştırma
İnsan olmayan primatların kullanılması
Transgenik hayvanların kullanılması
Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.

Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır.


Prof. Dr. İbrahim CEMAL
(Üye)

izinli
Vet. Hek. Ufuk SAYIN
(Üye)


Doç. Dr. Tahsin DOST
(Başkan)


Yrd. Doç. Dr. Cengiz ÜNSAL
(Üye)


Dr. Nurten ATALAY
(Üye)


Şevket AKYOL (Raportör)

izinli
Doç. Dr. Yücel KOCA
(Üye)


Vet. Hek. Serdar AKTAŞ
(Üye)

Bu çalışmada Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu ile çalışılmıştır.

ÖZGEÇMİŞ

Soyadı, Adı : Barış TAŞDEMİR
Uyruk : T.C.
Doğum yeri ve tarihi : Tokat / 1979
Telefon : Barış TAŞDEMİR
E-mail : baris.tasdemir@fresenius-kabi.com
Yabancı Dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Lisans	Atatürk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü	2002

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2005-2007	ADEKA İlaç Firması	Ürün uzmanı
2007-2010	Abdi İbrahim	Ürün uzmanı
2010-2015	Fresenius-Kabi İlaç Firması	Ürün uzmanı