

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİSİ
DOKTORA PROGRAMI

RATLARDA İNDOMETAZİN İLE İNDÜKLENEN
GASTRİK ÜLSERE KARŞI BETANİNİN KORUYUCU
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

SERDAR BAYİL
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Murat BOYACIOĞLU

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-23015 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2025

KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veterinerlik Farmakoloji ve Toksikolojisi Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Serdar BAYİL tarafından hazırlanan “Ratlarda indometazinle indüklenen gastrik ülserle karşı betaninin koruyucu etkilerinin araştırılması” başlıklı tez aşağıdaki jüri tarafından doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 23.06.2025

Üye (T.D.)	: Prof. Dr. Murat BOYACIOĞLU	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Üye	: Prof. Dr. Selim SEKKİN	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Üye	: Prof. Dr. Hasan Hüseyin ORUÇ	Bursa Uludağ Üniversitesi
Üye	: Prof. Dr. Fatma KOCASARI	Burdur Mehmet Akif Ersay Üniversitesi
Üye	: Doç. Dr. Erkmey Tuğrul EPIKMEN	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün tarih ve sayılı oturumunda alınan nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez çalışmam süresince, tecrübesi ve hoşgörüsü ile bana yol gösteren değerli danışmanım Prof. Dr. Murat BOYACIOĞLU'na çok teşekkür ederim. Her konuda bana destek olan Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Cavit KUM, Prof. Dr. Ferda AKAR, Prof. Dr. Selim SEKKİN'e ve tez çalışmamın deneysel aşamasında hep yanımda olan ve desteğini esirgemeyen Araş. Gör. Mehmet Onur AK ve Yüksek Lisans Öğrencisi Eda ÇETİN'e teşekkürü bir borç bilirim.

Tezimin gerçekleştirilmesinde her türlü yardımı sağlayan Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Erkmén Tuğrul EPIKMEN'e teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her aşamasında yanımda olup beni bugünlere getiren annem ve babam Nurten-Selahattin BAYİL'e ve tez çalışmam süresince gösterdiği sabır, özveri ve destekleri için sevgili eşim Bilge BAYİL'e, oğullarım Mehmet Kayra BAYİL ve Ahmet Kaan BAYİL'e teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
RESİMLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xii
ÖZET	xiii
ABSTRACT	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Midenin Yapısı ve Fonksiyonları.....	4
2.2. Asit Salgısının Düzenlenmesi.....	6
2.3. Gastrik Ülser.....	8
2.4. Oksidatif Stres.....	10
2.4.1. Reaktif Oksijen Türleri.....	11
2.4.1.1. Hidroksil Radikali (HO•).....	12
2.4.1.2. Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂).....	13
2.4.1.3. Tekil Oksijen (¹ O ₂).....	14
2.4.1.4. Süperoksit Radikali (O ₂ ⁻).....	15
2.4.2. Antioksidanların Koruma Mekanizmaları.....	15
2.4.2.1. Enzimatik Antioksidan Yapılar.....	16
2.4.2.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD).....	16

2.4.2.1.2. Katalaz Enzimi (CAT).....	17
2.4.2.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx).....	17
2.4.2.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar.....	17
2.4.2.2.1. Glutasyon (GSH).....	17
2.4.2.2.2. Enzimatik Olmayan Diğer Antioksidanlar.....	18
2.4.3. Mide Mukozasında Oksidatif Stres.....	19
2.5. Nonsteroidal Antiinflamatuvar İlaçlar (NSAİİ).....	20
2.5.1. Nonsteroidal Antiinflamatuvar İlaçların Genel Etki Şekilleri.....	20
2.5.2. Nonsteroidal Antiinflamatuvar İlaçların Yan Etkileri.....	23
2.5.3. Nonsteroidal Antiinflamatuvar İlaçların Ülser Modellerinde Kullanımları.....	25
2.6. İndometazinin Yapısı ve Ülser Modellerinde Kullanımı.....	25
2.7. Lansoprazol ve Kullanım Alanları.....	27
2.8. Bitkilerin Gastrik Ülserdeki Etki Mekanizmaları.....	28
2.9. Yangı ve Sitokinler.....	29
2.10. Apoptozis.....	31
2.10.1. B Hücreli Lenfoma 2 (Bcl-2)	32
2.10.2. Kaspaz-3.....	32
2.11. Betanin.....	33
2.11.1. Betaninin Doğal Kaynakları	33
2.11.2. Genel Bilgiler.....	34
2.11.3. Betaninin Farmakokinetik Özellikleri.....	40
2.11.4. Betaninin Antiinflamatuvar Etkisi.....	43
2.11.5. Betaninin Antioksidan Etkisi.....	44
2.11.6. Betaninin Diğer Etkileri.....	49
3. GEREÇ VE YÖNTEM	53
3.1. Gereç	53

3.1.1. Kullanılan Cihazlar.....	53
3.1.2. Kullanılan İlaçlar ve Kimyasallar.....	53
3.1.3. Deney Hayvanları.....	55
3.1.4. Deney Grupları.....	55
3.2. Yöntem	57
3.2.1. Gastrik Ülser Oluşturulması ve Mide Örneklerinin Alınması.....	57
3.2.2. Patolojik Makroskopik Değerlendirme.....	58
3.2.3. Mide Dokusunda Oksidan ve Antioksidan Parametrelerin Analizi.....	59
3.2.3.1. Dokuların Homojenizasyonu.....	59
3.2.3.2. Total Protein Analizi.....	60
3.2.3.3. Süperoksit Dismutaz (SOD) Analizi.....	60
3.2.3.4. Katalaz (CAT) Analizi.....	61
3.2.3.5. Glutasyon (GSH) Analizi.....	62
3.2.3.6. Malondialdehid (MDA) Analizi	62
3.2.4. ELISA Analizleri.....	63
3.2.4.1. Siklooksijenaz-1 (COX-1) Analizi.....	63
3.2.4.2. Siklooksijenaz -2 (COX-2) Analizi.....	64
3.2.4.3. Tümör Nekrozis Faktör α (TNF- α) Analizi.....	66
3.2.4.4. İnterlökin 1-Alfa (IL-1 α) Analizi.....	67
3.2.4.5. İnterlökin 6 (IL-6) Analizi.....	69
3.2.4.6. Prostaglandin E ₂ Analizi.....	70
3.2.5. Patolojik İncelemeler.....	72
3.2.5.1. Histopatolojik İnceleme.....	72
3.2.5.2. İmmunohistokimyal İnceleme.....	72
3.3. İstatistik.....	74
4. BULGULAR	75

4.1. Deneysel Grupların Canlı Ağırlıkları.....	75
4.2. Patolojik Makroskopik Bulgular.....	75
4.3. Mide Dokusu Antioksidan ve Oksidan Parametre Sonuçları.....	79
4.3.1.Mide Dokusu SOD Aktivitesi.....	81
4.3.2. Mide Dokusu CAT Aktivitesi.....	81
4.3.3. Mide Dokusu GSH Düzeyi.....	81
4.3.4. Mide Dokusu MDA Düzeyi.....	82
4.4. Plazma COX-1, COX-2, TNF- α , IL-1 α , IL-6 ve PGE ₂ ELISA Sonuçları.....	83
4.4.1. Plazma COX-1 Düzeyi.....	85
4.4.2. Plazma COX-2 Düzeyi.....	85
4.4.3. Plazma TNF- α Düzeyi.....	85
4.4.4. Plazma IL-1 α Düzeyi.....	86
4.4.5. Plazma IL-6 Düzeyi.....	86
4.4.6. Plazma PGE ₂ Düzeyi.....	86
4.5. Deneysel Gruplara Ait Patolojik Bulgular.....	87
4.5.1. Deneysel Gruplara Ait Histopatolojik Bulgular.....	87
4.5.2. Deneysel Gruplara Ait İmmunohistokimyasal Bulgular.....	92
5. TARTIŞMA	99
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	109
KAYNAKLAR	110
EKLER	132
Ek 1 (ADÜ-HADYEK)	132
BİLİMSEL ETİK BEYANI	133
ÖZ GEÇMİŞ	134

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

$^1\text{O}_2$	: Tekil Oksijen
ABTS	: 3-etilbenzotiazolin-6-sülfonikasit
Bcl-2	: B Hücreli Lenfoma 2
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
CAT	: Katalaz
cGMP	: Siklik Guanozin Monofosfat
COX	: Siklooksijenaz
DPPH	: 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
DTNB	: 5,5'-ditiyobis, 2-nitrobenzoik asit
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
GSH	: Glutasyon
GST	: Glutasyon N-Transferaz
H₂O	: Su
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HCl	: Hidroklorik Asit
HCO₃⁻	: Bikarbonat İyonu
HO⁻	: Hidroksil
HO-1	: Heme Oksijenaz 1
HOCl	: Hipokloröz Asit
ICAM-1	: İnterselüler Adezyon Molekülü-1
IL-1α	: İnterlökin- 1 Alfa
IL-6	: İnterlökin-6
IP3	: İnositol Trifosfat

IL-8	: İnterlökin-8
iNOS	: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoproteinler
LOX	: Lipoksijenaz
MPO	: Myeloperoksidaz
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NBT	: Nitroblue Tetrazolium
NF-κB	: Nükleer Faktör Kappa B
NO	: Nitrik Oksit
NO₃⁻	: Nitrat
NQO1	: Kuinon Oksidoreduktaz-1
Nrf2	: Nükleer Faktör E2 ile İlişkili Faktör 2
NSAİİ	: Nonsteroidal Antiinflamatuvar İlaç
PAF	: Trombosit Aktive Edici Faktör
PG	: Prostoglandin
PGE₂	: Prostoglandin E ₂
PGI₂	: Prostatiklin
RNT	: Reaktif Nitrojen Türleri
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TBA	: Tiyobarbitürik Asit
TEAC	: Trolox Eşdeğer Antioksidan Kapasitesi
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktörü-α

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Sıçan ve insanda midenin karşılaştırmalı anatomisi.....	4
Şekil 2.	Midenin histolojik yapısı	5
Şekil 3.	Midenin fundus ve gövde kısmındaki bezlerin yapısı.....	6
Şekil 4.	Mide HCl salgılama mekanizması	7
Şekil 5.	ROT üretim ve detoksifikasyon mekanizması.....	12
Şekil 6.	H ₂ O ₂ aracılı oksidatif hasar senaryosu.....	14
Şekil 7.	COX-1 ve COX-2 üretim mekanizması.....	21
Şekil 8.	İndometazinin yapısı.....	26
Şekil 9.	İndometazin kaynaklı mide hasarında rol oynayan hücresel ve moleküler olaylar.....	27
Şekil 10.	Kırmızı pancarda bulunan biyoaktif bileşikler.....	37
Şekil 11.	Betaninin antiradikal etki mekanizması.....	39
Şekil 12.	Betaninin kimyasal yapısı.....	40
Şekil 13.	10 popüler meyve ve sebze içeceğinin 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) inhibe etme kapasitesinin (%) karşılaştırması.....	48
Şekil 14.	COX-1 standart grafiği.....	64
Şekil 15.	COX-2 standart grafiği.....	66
Şekil 16.	TNF- α standart grafiği.....	67
Şekil 17.	IL-1 α standart grafiği.....	69
Şekil 18.	IL-6 standart grafiği.....	70
Şekil 19.	PGE ₂ standart grafiği.....	71

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1.	Çeşitli betalain kaynakları	34
Resim 2.	Kırmızı pancar.....	35
Resim 3.	Deney gruplarının ADÜ Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezindeki bir görüntüsü	55
Resim 4.	Ratlara oral gavaj ile ilaç uygulaması.....	57
Resim 5.	Mide dokularındaki ülserli alanların makroskopik değerlendirilmesi.....	59
Resim 6.	Çalışma gruplarındaki ratların midelerinin makroskopik görünüşleri.....	78
Resim 7.	Herhangi bir lezyon görülmeyen mide dokusu, kontrol grubu, H.E.....	89
Resim 8.	Mide mukozasının yüzeyinde sınırlı kalan hafif şiddette dejeneratif-nekrotik değişiklikler, lansoprazol+indometazin grubu, H.E.....	90
Resim 9.	Mide mukozasında yüzey epitellerinde çok şiddetli dejeneratif/nekrotik değişiklikler, indometazin grubu, H.E.....	90
Resim 10.	Mide mukozasında yüzey epitellerinde dejeneratif/nekrotik değişiklikler, Bİ-100 grubu, H.E.....	91
Resim 11.	Mukoza epitelinde dejeneratif/nekrotik değişiklikler ile birlikte kısmi rejeneratif sahalar. Bİ-200 grubu, H.E.....	91
Resim 12.	Mukoza epitellerinde yer yer dejeneratif değişiklikler ile yüzeyde dökülmüş epitel hücreleri. Bİ-300 grubu, H.E.....	92
Resim 13.	Lezyonsuz mukoza epiteli ve negatif ya da çok zayıf immunreaksiyonlar. Kontrol grubu, anti kaspaz-3, immunohistokimya, ABC Metot.....	93
Resim 14.	Lezyonsuz mukoza epitelinde pozitif immunreaksiyonlar. Kontrol grubu, anti bcl-2, immunohistokimya, ABC Metot.....	94
Resim 15.	Derin ülser alanı ve sınır komşuluğundaki dokuda pozitif immunreaksiyonlar. İndometazin grubu, anti kaspaz-3, immunohistokimya, ABC Metot.....	94

Resim 16.	Ülser alanı ve sınır komşuluğundaki dokuda pozitif immunreaksiyonlar. İndometazin grubu, anti bcl-2, immunohistokimya, ABC Metot.....	95
Resim 17.	Mukoza yüzeyinde dejeneratif nekrotik saha komşuluğunda hafif şiddette pozitif immunreaksiyonlar. Lansoprazol+İndometazin grubu, anti kaspaz-3, immunohistokimya, ABC Metot.....	95
Resim 18.	Dejeneratif-nekrotik saha komşuluğunda tüm mukozda görülen pozitif immunreaksiyonlar. Lansoprazol+İndometazin grubu, anti bcl-2, immunohistokimya, ABC Metot.....	96
Resim 19.	Kaspaz-3 ekspresyonunu gösteren immunpozitif hücreler, Bİ-100 grubu, anti kaspaz-3, immunohistokimya, ABC Metot.....	96
Resim 20.	Bcl-2 ekspresyonunu gösteren immunpozitif hücreler, Bİ-100 grubu, anti bcl-2, immunohistokimya, ABC Metot.....	97
Resim 21.	Mukoza yüzeyinde hafif şiddette pozitif immunreaksiyonlar. Bİ-300 grubu, anti kaspaz-3, immunohistokimya, ABC Metot.....	97
Resim 22.	Mukoza yüzeyinde güçlü ve yoğun pozitif immunreaksiyonlar. Bİ-300 grubu, anti bcl-2, immunohistokimya, ABC Metot.....	98

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1.	Enzimatik antioksidanlar.....	16
Tablo 2.	İntra ve ekstrasellüler nonenzimatik antioksidanlar.....	18
Tablo 3.	Bitki pigmentlerinin ana sınıfları.....	36
Tablo 4.	Betalain stabilitesini etkileyen faktörler	41
Tablo 5.	Sıçan mide dokusunun oksidan ve antioksidan parametrelerinin analizinde kullanılan kimyasallar	54
Tablo 6.	Sıçan mide dokusunun enzimatik/inflamatuvar yanıt biyobelirteçlerinin analizinde kullanılan ELISA kitleri	54
Tablo 7.	Çalışma programı.....	56
Tablo 8.	Çalışma gruplarındaki ratların ortalama canlı ağırlıkları.....	75
Tablo 9.	Sıçanlarda indometazin ile oluşturulan gastrik ülser modelinde, farklı dozlarda uygulanan betaninin ülser alanı üzerine etkisi ve antiülseratif etkinliği	76
Tablo 10.	Deneysel grupların ülser alanlarına göre gruplar arası farkın testi.....	77
Tablo 11.	İndometazin ile indüklenmiş ülser modelinde mide dokusu antioksidan ve oksidan parametre sonuçları.....	79
Tablo 12.	İndometazin ile indüklenmiş ülser modelinde mide dokusu antioksidan ve oksidan parametre değerlerine göre gruplar arası farkın testi.....	80
Tablo 13.	Plazma COX-1, COX-2, TNF- α , IL-1 α , IL-6 ve PGE ₂ ELISA sonuçları.....	83
Tablo 14.	Plazma COX-1, COX-2, TNF- α , IL-1 α , IL-6 ve PGE ₂ ELISA sonuçlarının gruplar arası farkın testi.....	84
Tablo 15.	Mide dokusunun patolojik skoru ve mikroskopik ülserlerin alan ölçüm sonuçları.....	88

ÖZET

RATLARDA İNDOMETAZİN İLE İNDÜKLENEN GASTRİK ÜLSERE KARŞI BETANİNİN KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Bayıl S. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veterinerlik Farmakoloji ve Toksikolojisi Programı Doktora Tezi, Aydın, 2025.

Amaç: Bu çalışmanın amacı ratlarda indometazinle indüklenen ülser modelinde, betaninin mide dokusundaki koruyucu etkilerinin makroskopik, histopatolojik ve immunohistokimyasal olarak değerlendirilmesi ve antioksidan/oksidan denge üzerine etkilerinin araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem: 48 adet *Sprague Dawley* erkek rat; kontrol, lansoprazol+indometazin (Lİ), indometazin (İ), betanin 100 mg/kg+indometazin (Bİ-100), betanin 200 mg/kg+indometazin (Bİ-200) ve betanin 300 mg/kg+indometazin (Bİ-300) olacak şekilde 6 gruba ayrıldı (n=8). Farklı dozlarda betanin oral gavaj ile uygulandı ve gastrik ülser tek doz 25 mg/kg indometazin ile indüklendi. Uygulamalardan 6 saat sonra anestezi altındaki ratlardan kan örnekleri ve ötanazi sonrası mide dokuları alındı.

Bulgular: Dokulara ait antioksidan ve oksidan parametre sonuçları indometazin grubu ile karşılaştırıldığında, betanin verilen gruplarda süperoksit dismutaz (SOD) aktiviteleri ve glutatyon (GSH) seviyeleri istatistiksel olarak yüksek, katalaz (CAT) aktiviteleri (Bİ-100 grubu hariç) ve malondialdehit (MDA) seviyeleri istatistiksel olarak düşük bulundu. Plazma örneklerinden yapılan ELISA analizleri sonucunda, indometazin grubu ile karşılaştırıldığında betanin verilen gruplarda COX-1 düzeyi istatistiksel olarak yüksek bulundu. COX-2, PGE₂, TNF- α , IL-1 α ve IL-6 düzeyleri istatistiksel olarak düşük bulundu. Mide dokularının patolojik değerlendirmesinde, indometazin grubunda yüzey epitellerinde çok şiddetli dejeneratif/nekrotik değişiklikler, şiddetli epitel hasarı ve kaybının görüldüğü, betanin gruplarının her birinin farklı derecelerde de olsa ülserle karşı etkili olduğu; en az doku hasarının Bİ-300 grubunda meydana geldiği görüldü. 100 mg/kg, 200 mg/kg ve 300 mg/kg betaninin sırasıyla %57,12, %74,21 ve %78,63 oranında anti-ülseratif etkisi olduğu tespit edildi.

Sonuç: Bu çalışma ile deneysel indometazin ile indüklenen gastrik ülserde betaninin mide koruyucu etkilerinin olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Betanin, gastrik ülser, indometazin, oksidatif stres, rat.

ABSTRACT

THE INVESTIGATION OF THE PROTECTIVE EFFECTS BETANIN ON INDOMETHACIN-INDUCED GASTRIC ULCER IN RATS

Bayil S. Aydin Adnan Menderes University Health Sciences Institute of Veterinary Pharmacology and Toxicology PhD Program, Aydin, 2025.

Objective: The aim of this study was to evaluate the protective effects of betanin on gastric tissue macroscopicly, histopathologically and immunohistochemically and to investigate its effects on antioxidant/oxidant balance in the indomethacin-induced ulcer model in rats.

Material and Methods: 48 male *Sprague Dawley* rats were divided into 6 groups (n=8); control, lansoprazole+indomethacin (LI), indomethacin (I), betanin 100 mg/kg+indomethacin (BI-100), betanin 200 mg/kg+indomethacin (BI-200), and betanin 300 mg/kg+indomethacin (BI-300). Betanin was administered at different doses via oral gavage, and gastric ulcer were induced using indomethacin at a single dose of 25 mg/kg. Six hours after the applications, blood samples were collected under anesthesia, and stomach tissues were harvested after euthanasia.

Results: When compared to the indomethacin group, the tissue antioxidant and oxidant parameter results showed that superoxide dismutase (SOD) activities and glutathione (GSH) levels were statistically higher in the betanin-treated groups, while catalase (CAT) activities (except in the BI-100 group) and malondialdehyde (MDA) levels were statistically lower. According to ELISA analyses performed on plasma samples, the COX-1 level was found to be significantly higher in the betanin-treated groups compared to the indomethacin group, whereas COX-2, PGE₂, TNF- α , IL-1 α , and IL-6 levels were significantly lower. In the pathological evaluation of gastric tissues, the indomethacin group exhibited severe degenerative/necrotic changes in the surface epithelium, along with marked epithelial damage and loss. All betanin-treated groups demonstrated varying degrees of protective effects against ulcer formation, with the least tissue damage observed in the BI-300 group. The anti-ulcerative effects of betanin at doses of 100 mg/kg, 200 mg/kg, and 300 mg/kg were determined to be 57.12%, 74.21%, and 78.63%, respectively.

Conclusion: This study concluded that betanin has gastroprotective effects on experimental indomethacin-induced gastric ulcer.

Keywords: Betanin, gastric ulcer, indomethacin, oxidative stress, rat.

1. GİRİŞ

Gastrik ülser, gastrointestinal sistemi etkileyen en yaygın hastalıklardan biridir ve ciddi sağlık sorunlarına, hatta ölümlere yol açabilmektedir. Küresel nüfusun yaklaşık %10'u bu hastalıktan etkilenmektedir (Alfadil, 2024). Ülser; mide ve duodenumda mukus, bikarbonat, prostoglandin (PG) sentezi gibi mukozal koruma mekanizmaları ile asit ve pepsin arasındaki denge bozulması sonucu ortaya çıkar. Ayrıca genetik faktörler, stres, travma, sepsis, hemorajik şok, yanıklar, steroidler, *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) ve *Herpes simplex* virüs (Tip I/HSV-1) ülseri tetikleyen faktörler arasındadır (Farzaei ve diğerleri, 2015).

Ülserin etiyolojisinde *H. pylori*'den sonra ikinci neden steroid yapıda olmayan antiinflamatuvar ilaç (NSAİİ) kullanımıdır (Kayaalp, 2018). Özellikle, NSAİİ'lerin neden olduğu gastrointestinal toksisite vakaları yılda %4-8 gibi yüksek oranlarda görülebilir ve özellikle geçmişte ülser hastalığı geçirmiş bireylerde belirgin şekilde artış göstermektedir. NSAİİ'leri kullananların yaklaşık %25'inde yan etki olarak gastrik hasar oluşmaktadır (Alfadil, 2024). NSAİİ'ler ağrı, ateş gibi yangı semptomlarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmakta olup, bu grup ilaçlardan biri de indometazindir. İndometazin kullanımı sonrasında en yaygın yan etkiler gastrointestinal sistemde görülmektedir. İndometazin ile ilişkili mukozal lezyonların başlıca nedenleri arasında siklooksijenaz-1 (COX-1) enzimi aracılı PG üretiminin inhibe edilmesi ve serbest oksijen radikallerinin aşırı üretimine neden olması gösterilmektedir. NSAİİ'lerin terapötik ve yan etkilerinin oluşmasında yangısal hücrelerde indüklenen COX-2 enzimin rolü oldukça önemli olup, bu enzimin sitokin aracılı, ağrı ve inflamasyonda rol oynayan prostaglandinlerin yapımından sorumlu olduğu ifade edilmektedir (Boyacıoğlu ve diğerleri, 2016; Crofford ve diğerleri, 2000; Furst ve diğerleri, 2012).

İndometazin; asit salınımında ve pepsin aktivitesinde artışa, mukus tabakasında ve bikarbonat salınımında azalmaya neden olurken, mide mukozasında lipid peroksidasyonu ve reaktif oksijen türleri (ROT) oluşumunda artışa neden olur. İndometazin ile indüklenen gastrik ülser modeli, deneysel olarak ratlarda gastrik ülseri oluşturmak için kullanılan en yaygın yöntemlerden biridir (El-Ashmawy ve diğerleri, 2016; Süleyman ve diğerleri, 2010).

Yapılan bir çalışmada, indometazin ile indüklenen mide ülseri patogeneğinde ROT ve lipid peroksidasyonunun artışı ile glutatyon (GSH) düzeylerinde meydana gelen azalmanın önemli rol oynadığı; bu değişikliklerin mide mukozası hücrelerinde oksidatif hasardan sorumlu olduğu bildirilmiştir (Taşdemir ve Boyacıoğlu, 2019). İndometazinin neden olduğu mukozal

hasar; erozyon, ülser ve kanama gibi lezyonlar ile sonuçlanabilir. COX inhibisyonu, mide mukozasında mikrodolaşımın bozulmasına ve mukozal kan akışının engellenmesi ile mukozal sekresyonun azalmasına yol açar. Azalmış salgı, tüketilen gıda tarafından uyarılan aside karşı savunma fonksiyonlarını engeller (Taştekin ve diğerleri, 2018). İndometazin, artrit, gut ve tendinit tedavisi için analjezik ve antipiretik etkileri olan bir tür NSAİİ'dir. İndometazin, esas olarak COX-1 ve COX-2 olmak üzere iki izoenzimde bulunan COX'lerin inhibisyonu yoluyla ratlarda veya farelerde gastrik ülseri indükleyebilir. COX'un inhibisyonu (özellikle COX-1), inflamasyon, erozyon ve ülser gibi gastrik ülserojenik yanıtın ortaya çıkmasında önemli olan PG eksikliğine neden olur (Li ve diğerleri, 2020).

Doğal ürünler tarih boyunca tıbbın gelişiminde önemli bir yer bulmuştur. Günümüzde kullanılan çoğu ilaç bitkisel kaynaklı bileşiklerden geliştirilmiştir. Bu doğal bileşikler farklı farmakolojik etkiler sergileyerek sağlık alanında geniş bir kullanım alanı bulmuştur (Lim ve diğerleri, 2023).

Son araştırmalar, bitkisel ürünlerin antioksidan aktivitesinin çoğunlukla flavonoidler, fenolik asitler, tanenler ve diğer fenolik bileşikler dahil fenolik bileşenlerin varlığından kaynaklandığını vurgulamaktadır. Yapılan çalışmalar, aşırı sentezlenen serbest radikallerin astım, artrit, yangı, nörodejenerasyon, parkinson hastalığı ve diyabet gibi çeşitli patolojik durumlardan sorumlu olduğunu bildirmektedir (Srivastava ve diğerleri, 2023).

Flavonoidlerin, pek çok bitkide yaygın olarak bulunduğu ve genellikle şekerlerle birleşerek glikozit yapısına dönüştüğü ayrıca antigastrik ülser, antiinflamatuvar, antioksidan ve ağrı giderici gibi birçok farmakolojik etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Chen ve diğerleri, 2023).

Serbest radikalleri etkili bir şekilde etkisizleştirebildikleri ve geçiş metallerini şelatlayabildikleri için fenolik bileşikler güçlü antioksidan aktivitelere sahiptirler. Yenilebilir kaynaklardan elde edilen doğal antioksidanlar, insan sağlığı üzerinde meydana getirdikleri olumsuz etkileri daha az olduğu için daha çok tercih edilirler (Nahla ve diğerleri, 2018).

Meyve ve sebze yönünden zengin diyetler, insan sağlığına sundukları faydalar nedeniyle dikkat çeken birçok fitokimyasal içerir. Bu bağlamda, *Beta vulgaris* (kırmızı pancar), uzun süredir sağlığa olan olumlu etkileriyle tanınan popüler bir sebzedir. Kırmızı pancarın faydaları arasında hematopoietik sistemi ve bağışıklık sistemini destekleme, böbrek ve karaciğeri koruma, ayrıca antioksidan, antiinflamatuvar, karaciğeri koruma ve antitümör özellikleri sayesinde kanser tedavisi sırasında özel diyetlerde kullanımı yer alır (Martinez ve diğerleri,

2014). Kırmızı pancar, endojen nitrik oksit (NO) üretimi yoluyla kardiyovasküler hastalıklar üzerinde potansiyel sağlık yararları bulunan bir bileşik olan nitrat (NO_3^-) kaynağı olması nedeniyle de dikkat çekmiştir (Baião ve diğerleri, 2017).

Amaranthaceae familyasından yenilebilir bir bitki olan *Beta vulgaris* Asya, Akdeniz ve Avrupa’da yetişir. Geçmişten günümüze sebze ve meyve tüketimi, insanların genel sağlıkları açısından büyük önem kazanmış olup pancar gibi bitkisel gıdaların tüketiminin artırılmasının obezite, diabetes mellitus ve kardiyovasküler hastalık riskini azalttığı bildirilmiştir (Nikan ve Manayi, 2019).

Kırmızı pancarın ana doğal kaynağı olan betanin, gıda, içecek, ilaç ve kozmetik sektörlerinde endüstriyel üretimde kullanılan doğal bir renk katkı maddesidir (Esteves ve diğerleri, 2018). Bitkisel kaynaklı bir bileşik olan betaninin kalp, böbrek, karaciğer ve akciğer üzerindeki koruyucu etkileri araştırılmış olup, midedeki rolü henüz yeterince araştırılmamıştır (Esatbeyoglu ve diğerleri, 2015).

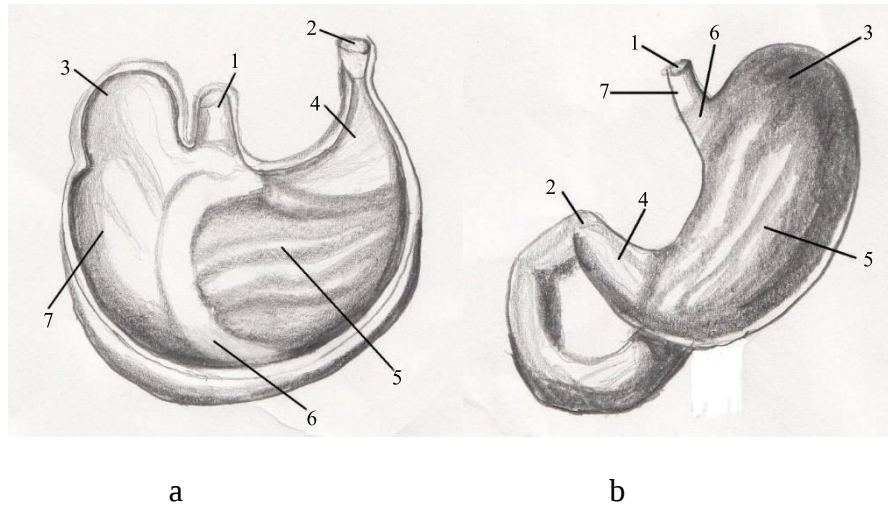
Çalışmamızın amacı indometazin ile gastrik ülser oluşturulmuş ratlarda, betaninin mide dokusuna olan koruyucu etkilerini ve dokuda apoptozisin varlığını ortaya koyarak betaninin farklı dozlarının antiapoptotik mekanizma göstergesi olan immun belirteçler üzerinde ne gibi etkisi olduğunu immunohistokimyasal olarak araştırmak, oksidan/antioksidan parametrelere yönelik etkisini değerlendirmek ve bazı inflamatuvar yanıt biyobelirteçlerinin düzeyini ortaya koymaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Midenin Yapısı ve Fonksiyonları

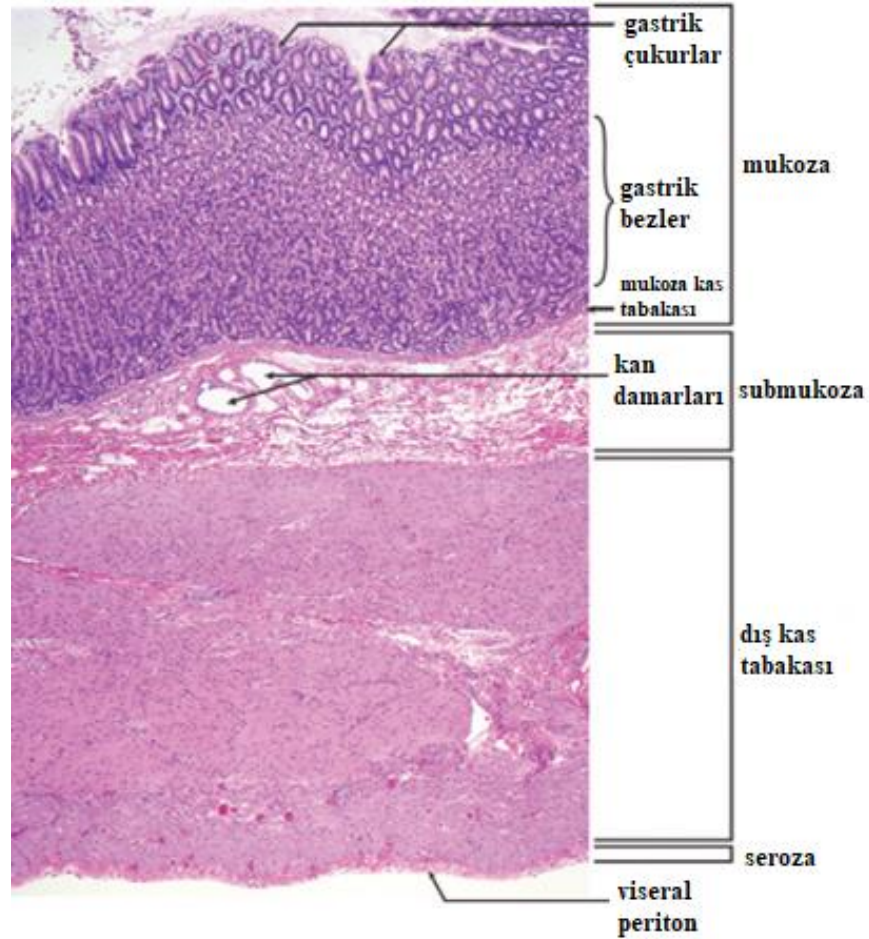
Mide, anatomik (fundus, korpus, antrum) ve fonksiyonel (oksintik ve pilorik bezler) olarak bölümlere ayrılır. Oksintik bölüm veya paryetal hücreler midenin %80'ini oluşturur (fundus ve korpusta). Pilorik bezler ise antrumda daha çok G hücreleri veya gastrin sekrete eden hücrelerden oluşur (Akyüz ve Demir, 2002).

Rat, hayvanlarda ve insanlarda uygulanan cerrahi araştırmalarda özellikle bağırsak nakilleri ve ilaç emilim incelemelerinde gerçekleştirilen deneysel modellerde en sık kullanılan hayvandır. Sıçanlar, toz veya çözelti formülasyonlarından ilaçların absorpsiyon mekanizmasının ve biyoyararlanım düzeylerinin belirlenmesinde oldukça uygun deney hayvanlarıdır. Ratların sindirim organlarının fonksiyonel anatomisi insanlardaki sindirim organlarına benzer olup, rat ve insan midesinin karşılaştırmalı bölümleri Şekil 1'de gösterilmiştir (Vdoviaková ve diğerleri, 2016).



Şekil 1. Sıçan(a) ve insanda(b) midenin karşılaştırmalı anatomisi. 1-pars cardiaca, 2-pars pylorica, 3-fundus ventriculi, 4-glandulae pyloricae, 5-glandulae gastricae propriae, 6-glandulae cardiacae, 7-pars nonglandularis (Vdoviaková ve diğerleri, 2016).

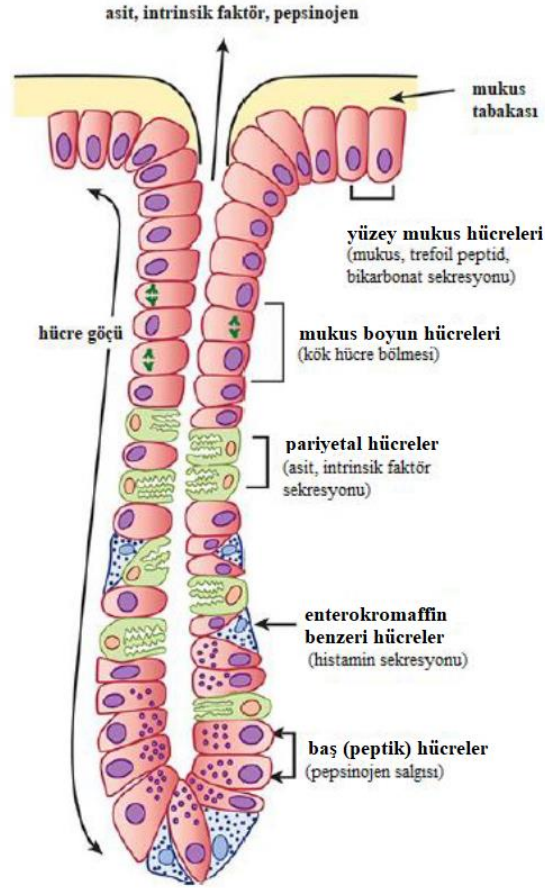
Enine kesitine göre mide dört tabakadan oluşur: mukoza, submukoza, muskularis propria ve seroza (Kang ve diğerleri, 2013).



Şekil 2. Midenin histolojik yapısı (Kang ve diğerleri, 2013).

Mide bezlerinde beş tip hücre vardır: (1) mukus salgılayan mukus boyun hücreleri; (2) pepsinojen A ve B'nin salgılanmasından sorumlu peptik hücreler; (3) hidroklorik asit (HCl), haptokorrin ve içsel faktör üreten pariyetal hücreler; (4) histamin üreten enterokromaffin benzeri hücreler ve (5) somatostatin salgılayan D hücreleri (Daure ve diğerleri, 2017).

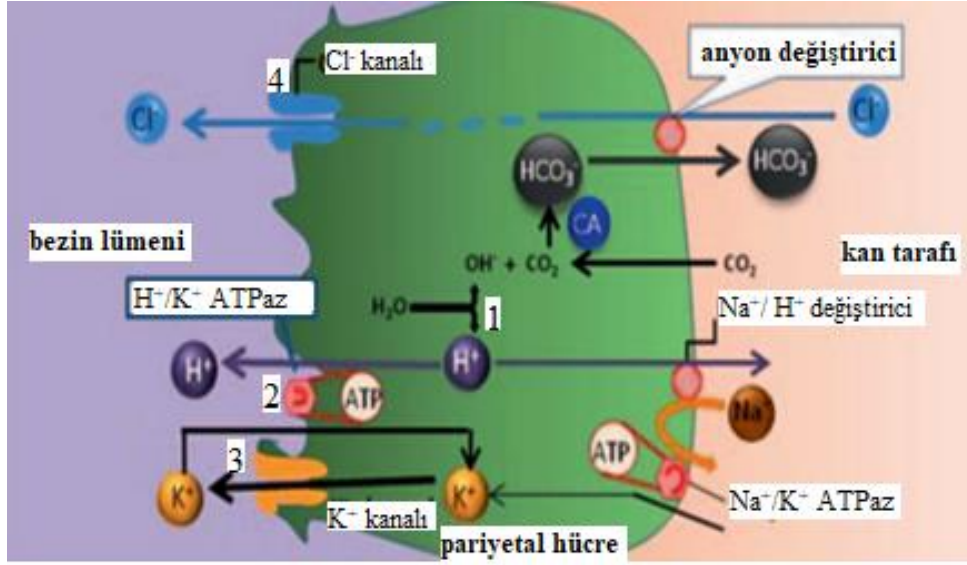
Midenin fundus veya gövde kısmındaki bezlerin yapısı Şekil 3'te gösterilmiştir (Barrett ve diğerleri, 2019).



Şekil 3. Midenin fundus veya gövde kısmındaki bezlerin yapısı (Barrett ve diğerleri, 2019).

2.2. Asit Salgısının Düzenlenmesi

Pariyetal hücreler, özelleşmiş bir yapı aracılığıyla hidroklorik asit (HCl) üretiminden sorumludur. Sitoplazmaları kanalikül ve tübülveziküler sistemi içerir. Pariyetal hücre aktive edildiğinde, çok sayıda H^+/K^+ ATPaz pompası içeren tubuloveziküler sistem kanaliküllerle birleşir ve böylece apikal plazma zarındaki fonksiyonel proton pompalarının sayısını artırır. Böylelikle bu pompalar, apikal klorür ve potasyum kanallarının aktivasyonu ile birlikte HCl salgılanmasıyla (Şekil 4) sonuçlanır (Daure ve diğerleri, 2017).



Şekil 4. Mide HCl Salgılama Mekanizması. Pariyetal hücreler tarafından asit sekresyonunu modüle eden hücre içi yolak, çoklu işlemlere bağlıdır. İlk olarak, hücre içi su, karbonik anhidrazın etkisiyle katalize edilen H^+ and HCO_3^- 'e ayrışır (1). H^+ iyonu daha sonra bir H^+-K^+ ATPaz pompası (2) aracılığıyla kanalikülü lümeninde K^+ karşılığında salgılanır. Potasyum iyonları, aktif bir bazolateral Na-K-ATPaz pompası ve apikal membran üzerindeki kanallarından kanalikülü lümenine potasyum sızıntısı olur (3). Elektronörlüğü korumak için Cl^- kanallarının ve anyon eşanjörünün aktivasyonu gereklidir (4). Su, gastrik asit salgısının son hacmini artırmak için lümendeki hidrojen iyonlarının atılmasıyla oluşturulan ozmotik gradyanı takip eder (Daure ve diğerleri, 2017).

Gastrik asit sekresyonu, hormonal ve parakrin faktörlerin yanı sıra sinir uyarılarının bir kombinasyonu ile sıkı bir şekilde düzenlenir. Efferent vagal sinir lifleri, pariyetal hücreler, enterokromafin benzeri hücreleri ve G hücreleri üzerindeki muskarinik reseptörlere bağlanan asetilkolini serbest bırakırken pariyetal hücrelerde bu, inositol trisfosfat (IP3) oluşumuna ve endoplazmik retikulumda IP3 reseptörünün açılmasına yol açarak hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu artırır. Hücre içi kalsiyumdaki bu artış, proton pompasının pariyetal hücrenin apikal membranına hareketiyle birleşerek hidrojen iyonlarının lümene salınmasıyla sonuçlanır. Yiyeceklerin mideye girmesiyle oluşan gastrik distansiyon, pariyetal hücreler tarafından asit salgılanmasını tetikleyen bir vagal tepkiye neden olur (Daure ve diğerleri, 2017).

Pariyetal hücreler tarafından H^+ iyonları ve Cl^- salınımı, tübülovesiküler sistemin salgı kanalikül ile membran füzyonunu içerir. Pilorik antrum, pariyetal hücrelerin HCl salgılaması için uyarır. Asetilkolin ayrıca gastrin salınımını da uyarır. Histamin, H_2 reseptörüne bağlandıktan sonra asetilkolin ve gastrinin pariyetal hücre salgısı üzerindeki etkilerini güçlendirir. Histamin, gastrik bezleri çevreleyen lamina propria içindeki enterokromaffin benzeri hücreler tarafından üretilir. H^+ , K^+ 'ya bağımlı ATPaz, H^+ ve K^+ değişimini kolaylaştırır.

Cl^- ve Na^+ aktif olarak salgı kanalikülünün lümenine taşınarak HCl üretimine yol açar. K^+ ve Na^+ , H^+ yerlerini aldıktan sonra ayrı pompalarla hücreye geri döndürülür (Kierszenbaum ve Tres, 2016).

2.3. Gastrik Ülser

Mide mukozası epitelinde meydana gelen nekrotik değişiklikler ile mukozanın yıkımlanmasına ve lezyonun mukoza muskularise dek ilerlemesine gastrik ülser denir. Lezyon, submukozaya veya daha derin doku katmanlarına dek ilerleyebilir. İnsidans yaş, cinsiyet, coğrafi yerleşime göre değişir ve kanamalar, gastrointestinal obstrüksiyon ve malignite gibi ciddi komplikasyonlarla birlikte seyredebilir (Silva ve Sousa, 2011).

Normal mide mukozası, koruyucu ve agresif faktörler arasında bir denge içerisindedir. Bu dengeyi bozan faktörlerden bazıları; alkol, sigara, stres, travma, sepsis, kontrolsüz NSAİİ kullanımı ve *H. Pylori* başta olmak üzere mikroorganizmal enfeksiyonlar olarak sıralanabilir (Halıcı ve diğerleri, 2016). Bu nedensel faktörler, gastrik dokudaki nötrofilleri aşırı miktarda reaktif oksijen ve nitrojen türleri üretmeye teşvik ederek endojen antioksidan sistemin tükenmesine ve mukozal oksidatif hasarın oluşumuna yol açar (Lokman ve diğerleri, 2022).

Gastrik ülser aşırı oksidatif hasar, inflamasyon, apoptotik süreçler ve tahriş ile ilişkili olup yaklaşık %5-10 morbidite oranıyla kansere dönüşme ihtimali olan bir mide mukozası lezyonu olup gastrik ülserin tedavisinde yaygın olarak kullanılan ilaçlar mide mukozasını tamamen eski haline getiremez ve çeşitli yan etkilere yol açabilir (Lokman ve diğerleri, 2022).

Mide mikrodolaşımı, mide mukozasının bütünlüğünün korunmasında önemli bir rol oynar. Mukus ve bikarbonat sekresyonu da dahil olmak üzere bu koruyucu mekanizmadaki bir bozukluk, HCl ve pepsinin yıkıcı etkisine ve bakteriyel enfeksiyona yol açarak peptik ülser hastalığına yol açar. Stres ülserleri, ciddi travma veya ağır hastalık sonrasında ve uzun süreli aspirin ve kortikosteroid kullanımından sonra görülen yüzeysel mide mukozal hasarlardır. Çoğu durumda, stres ülserleri klinik olarak asemptomatiktir ve yalnızca şiddetli kanamaya neden olduklarında tespit edilebilir (Kierszenbaum ve Tres, 2016).

Hayvan deneylerinde etanol, mide ülserini indüklemek için sıklıkla kullanılır. Etanolun mide mukozasına teması ile mide hücre nekrozuna neden olarak oksidatif stresi artırdığı da bilinmektedir (Susam ve diğerleri, 2023).

Ratlarda mide ülseri ve mukozal erozyonların patogenezi anlamak için başka bir yöntem olarak kısıtlama (restraint) yöntemi kullanılmıştır. Kısıtlı mikrosirkülasyon, hatalı hücre yenilenmesi, nöroepinefrin döngüsünün artması, vazoaaktif maddelerin serbest bırakılması ve fosfolipazların aktiviteleri stres ülseriyle ilişkili mekanizmalardır (Slomiany ve diğerleri, 1975).

Ayrıca çeşitli araştırmacılar tarafından asetik asit (Epikmen ve diğerleri, 2023), HCl (Dorababu ve diğerleri, 2004), soğuk su ve pilorik ligasyon modelleri de deneysel ülser oluşturma yöntemi olarak kullanılmıştır (Bi ve diğerleri, 2014).

Mide normalde bir asit çözeltisi içerir, ancak epitel hücrelerinin yüzeyi üzerinde ince bir mukus tabakasının varlığı da dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalarla asidin zararlı etkilerinden korunurken bazen özellikle *H. pylori* enfeksiyonu ile bağlantılı olarak, bu koruyucu mekanizmalar bozulur ve asidik mide içeriği mukozaya zarar verir. Bunun sonucunda epitel hücrelerinin ve lamina proprianın ölümü yüzeysel bir ülser oluşumuna yol açar. Bu tür korunmasız bir alana sürekli maruz kalmak, submukoza ve kas katmanlarına yayılabilen ve iyileşmesi uzun zaman alan derin bir ülserin oluşumuna yol açıp duvarın delinmesine ve mide içeriğinin periton boşluğuna dökülerek peritonite ve sıklıkla ölüme neden olabilir (Lowe, 2015).

Gastrointestinal ülser oluşumu, ROT'un meydana gelmesi, hücre dışı matris bozulması ve mitokondriyal hasarı içeren çok yönlü bir süreçtir. Mitokondri, ROT homeostazında ve hücre sağkalımında çok önemli bir rol oynar. NSAİİ'lerin neden olduğu ROT'un, bax, kaspaz-8, kaspaz-9 ve kaspaz-3 aktivitelerini içeren çeşitli sinyal yollarını etkileyerek gastrointestinal mukozal hücre apoptozuna da neden olabileceğini bildirilmiştir (Cheng ve diğerleri, 2016; Musumba ve diğerleri, 2009).

Mide ülseri tedavisi önemli bir ekonomik değere sahiptir. Örneğin Amerika Birleşik Devletleri'nde yıllık medikal tedavi giderinin 2005 yılı için yapılan bir çalışmada 23.819 \$ olduğu, Güney Kore'de ise yıllık tedavi giderinin 959,6 ile 2553,10 \$ arasında olduğu belirtilmiştir. Bu medikal tedaviler yan etkileri ile birlikte klinik faydayı da kısıtlamaktadır (Bi ve diğerleri, 2014). 2015 yılında ABD'de gastroduodenal ülserlerin tedavisi için toplamda yaklaşık 777 milyon dolar harcadığı tahmin edilmekte olup, bu harcamaların %43,5'i hastanede yatışlardan kaynaklanmaktadır (Shah ve diğerleri, 2023).

2.4. Oksidatif Stres

Oksidatif stres tüm aerobik hücrelerde hücrel metabolizmalar sırasında ortaya çıkan ROT ile oluşan bir hasardır. ROT'un çeşitli nedenlerle aşırı üretimi ve detoksifikasyonunun azalması sonucu bu radikaller birikir ve hücrelerdeki lipid, protein ve DNA üzerinde toksik etkiler yaparlar. Hücre membranlarındaki lipid yapı oksidatif hasar görür ve MDA, 4-hidroksinonenal ve hegzenal gibi aldehit yapılı bileşikler açığa çıkarlar. Hücre içi proteinlere ROT etkisi ile protein karbonil deriveleri oluşur ve protein yapılı bileşiklerde yapı ve fonksiyon kaybı meydana gelerek sonucunda hücre hasarı oluşur (Özcan ve diğerleri, 2015). Hücrelerdeki oksidatif hasarın, esas olarak hücreler içindeki reaksiyonları kullanan oksijenden kaynaklandığı varsayılır. Hücrel solunum, hücrel oksijen tüketiminin çoğunu oluşturur, bu nedenle mitokondrinin oksidatif stres jeneratörleri olduğu varsayılır (Ransy ve diğerleri, 2020). MDA seviyesindeki artış, oksidatif stresin mide dokusuna zarar verdiğini gösterirken, SOD ve toplam antioksidan kapasite düzeyleri serbest radikal hasarına karşı koruma sağlamaktadır (Wu ve diğerleri, 2024).

Oksidatif ve nitrozatif stres etiyolojik olarak çok çeşitli hastalık süreçlerinde ve durumlarında rol oynamaktadır. Bunlar yaşlanma, iskemi reperfüzyon hasarı, hipertansiyon, ateroskleroz, diyabetik nöropatiler, böbrek hastalıkları, Alzheimer hastalığı ve diğer demans türleri ile nörolojik hastalıklar ve kanserdir. Oksidatif stres gastroduodenum ülserleri, inflamatuvar bağırsak hastalığı, gastrit ve kolorektal kanser gibi gastrointestinal hastalıklara da sebebiyet verebilir (Bhattacharyya ve diğerleri, 2014).

Oksidatif stres, gastrik ülserin patolojik süreciyle yakından ilişkilidir. Oksijen kaynaklı serbest radikallerin lipidlerle etkileşime girerek lipid peroksitleri oluşturduğu bilinmekte olup hücre zarının temel bileşenleri olan lipidler, bu süreçte ciddi hasara uğrayabilir. Eğer bu reaksiyonlar yeterli antioksidan moleküller tarafından dengelenmezse, lipid peroksidasyonu hücre ölümüne veya apoptoza neden olabilir (Zhou ve diğerleri, 2020).

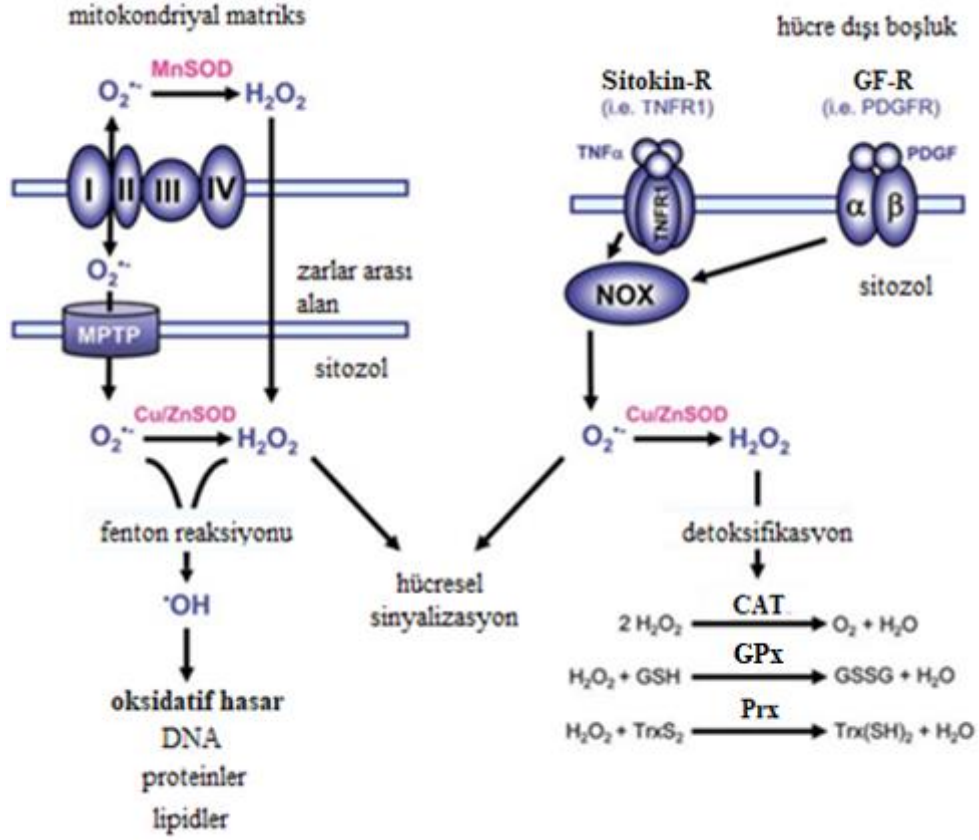
Antioksidanlar ve gıda renklendiricileri gibi nutrasötikler serbest radikal temizleyiciler olarak hareket eder ve vücudumuzda oksidatif hasarı önlerler (Singh ve diğerleri, 2019). Kemoterapötik ajanlar ve radyoterapiyle uygulanan kanser tedavileri, büyük ölçüde reaktif ROT üretimi yoluyla apoptoza indükleyerek malign hücreleri yok etmeye dayanır. Ancak, orantısız ROT oluşumu vücut homeostazı için ciddi bir sorun oluşturur ve oksidatif doku hasarına neden olur (Bhattacharyya ve diğerleri, 2014).

Radikal bileşiklerden süperoksit (O_2^-), hidroksil radikaller ($HO\bullet$), lipit hidroperoksitleri reaktif radikal olmayan bileşiklerden ise tekil oksijen (1O_2), hidrojen peroksit (H_2O_2), hipokloröz asit ($HOCl$), kloraminler ($RNHC1$) ve ozon başlıca ROT'dur (Bedard ve Krause, 2007).

2.4.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROT)

ROT, dış elektron kabuklarında bir adet eşleşmemiş elektrona sahip radikal, iyon veya moleküllerdir. Bu özelliklerinden dolayı ROT son derece reaktif davranış sergiler. ROT üretim ve detoksifikasyon mekanizmaları Şekil 5'de gösterilmiştir (Liou ve Storz, 2010).

Süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($HO\bullet$) ve peroksinitrit ($O=N-O-O^-$) insan sağlığı için potansiyel zararlı etkileri olan ana oksidatif moleküllerdir çünkü bu moleküllerdeki eksik elektron tabakası yüksek reaktiviteye yol açar. Reaktif türlerin aşırı miktarda birikmesi, DNA, lipitler ve proteinler gibi makromoleküllere oksidatif hasar vererek damarlarda redoks bağımlı sinyal yollarını bozar ve böylelikle damar yapısında endotel işlevinin bozulmasına ve ateroskleroz gelişimine yol açar (Silva ve diğerleri, 2021).



Şekil 5. ROT üretim ve detoksifikasyon mekanizmaları. Süperoksit Üretimi: Elektron taşıma zincirinin bir yan ürünü olarak mitokondriyal iç zarında süperoksit (O_2^-) oluşur. Süperoksit, mitokondriyal geçirgenlik geçiş gözenekleri (MPTP) yoluyla matrise veya sitozole salınır. NADPH (Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat) oksidazlar (NOX), büyüme faktörü reseptörleri veya sitokin reseptörlerinin aktivasyonuna yanıt olarak da (O_2^-) üretir. **Detoksifikasyon Mekanizmaları:** MnSOD (mitokondride) ve Cu/ZnSOD (sitozolde) enzimleri süperoksiti H_2O_2 'e dönüştürür. Katalaz, glutatyon peroksidaz (GPx) ve peroksiredoksinler (Prx) gibi çeşitli sitozolik antioksidan sistemler, hidrojen peroksidi suya indirgeyerek hücreleri detoksifiye eder. Hem H_2O_2 hem de O_2^- hücresel sinyalleme katkıda bulunur ancak aynı zamanda hidroksil radikalleri ($HO\bullet$) de oluşturabilir (Liou ve Storz, 2010).

2.4.1.1. Hidroksil Radikali ($OH\bullet$)

Hidroksil radikali ROT'ların en reaktif ve en güçlüsü olup yarılanma ömrü 8-9 saniyedir. $HO\bullet$, geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonu sonucunda hidrojen peroksitten meydana gelir. Ortaya çıktığı yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton çekerek yeni radikaller meydana getirir ve bu süreç sonunda hücrede hasara yol açar (Özcan ve diğerleri, 2015). Hidroksil radikalleri proteinler, DNA ve lipitler için

zararlı işlevlere sahiptir (Liou ve Storz, 2010). Ayrıca gastroduodenal mukozada oluşan hasarlarla ilişkilendirilmiştir (Nalini ve diğerleri, 1992).

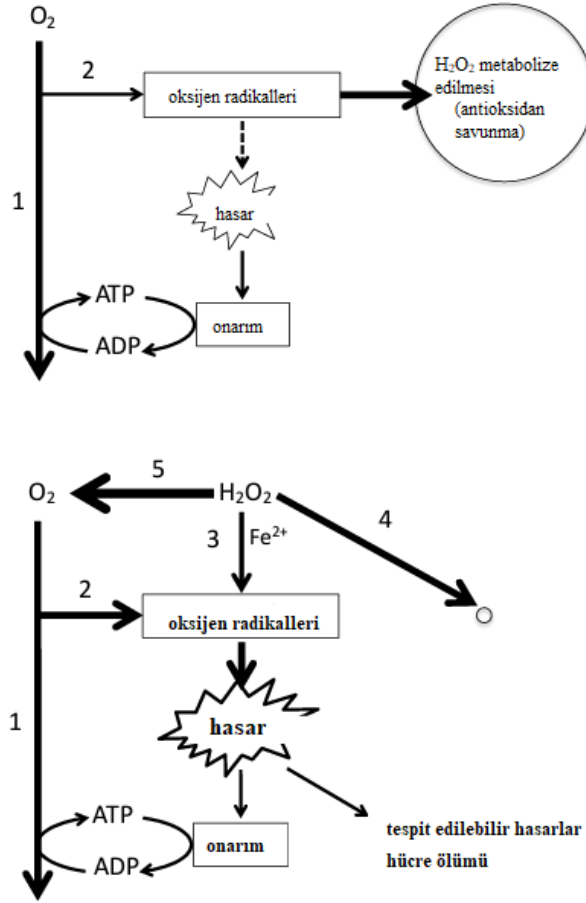
ROT, insan da dahil olmak üzere tüm canlıların sağlıklı bir şekilde işlev göstermesi için gerekli iken demir, hayati bir element olmasının yanında fazla miktarda olduğunda, Fenton reaksiyonu aracılığıyla serbest radikallerin en tehlikelisi olan hidroksil radikallerinin aşırı üretilmesine yol açar. Fenton reaksiyonu, iki değerlikli demirin hidrojen peroksit tarafından üç değerlikli hale oksitlenmesi sürecidir ve bu işlem sonucunda hidroksil radikali ile hidroksit iyonu meydana gelir (Meo ve diğerleri, 2020).



Hidrojen peroksit (H_2O_2) maruz kalma, hücrel modellerde oksidatif strese/hasara neden olmak için yaygın olarak kullanılan bir prosedürdür. Fenton'un H_2O_2 ve Fe^{+2} iyonları arasındaki reaksiyonu, oldukça reaktif $\text{OH}^\bullet$ radikalini oluşturur ve oksidatif hasarın ana mekanizması olduğu düşünülmektedir (Ransy ve diğerleri, 2020).

2.4.1.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Serbest radikal olmamasına rağmen, ROT'lar arasında yer alır ve serbest radikal oluşumunda önemli bir rol oynar. Hücrel kompartımanlarda bulunan urat oksidaz, glikoz oksidaz ve D-aminoasit oksidaz gibi çeşitli enzimler, iki elektronun doğrudan oksijene transferi yoluyla hidrojen peroksit (H_2O_2) üretir. H_2O_2 , Fe^{+2} veya diğer geçiş metallerinin (Fenton reaksiyonu) ve süperoksit radikalinin (O_2^-) varlığında (Haber-Weiss reaksiyonu) hidroksil radikalini ($\text{OH}^\bullet$) oluşturur (Özcan ve diğerleri, 2015).



Şekil 6. H₂O₂ aracılı oksidatif hasar senaryosu. **Üst:** normal hücresel fizyoloji, endojen oksijen metabolizması; mitokondriyal ATP üretimi (1). Oksijen kullanan enzimler, oksijen radikalleri üretir (2) ve büyük çoğunluğu antioksidan savunmalar tarafından elimine edilir. Bazı oksidatif hasarlar meydana gelir ve hücre biyoenerjetik bunların onarımına katkıda bulunur ve oksidatif lezyon birikimi olmadan kararlı bir duruma neden olur. **Alt:** H₂O₂ (yüksek μ M) ilavesinin üç sonucu vardır: Fenton reaksiyonunun olasılığını artırır (3), H₂O₂ mevcut reaktif moleküllerle saniyeler içinde reaksiyona girer ve mevcut antioksidan savunmayı yok eder (4) ve H₂O₂ konsantrasyonu hücresel katalazın etkisiyle aniden düşer. Bu, hücre içi O₂ konsantrasyonunu (5) ve dolayısıyla endojen oksijen radikalleri üretimini (2) büyük ölçüde artırır. Bir yandan oksijen radikali üretimi artar (2 ve 3), diğer yandan antioksidan savunmalar geçersiz olur (4). Bunun, onarımı aşan oranlarda oksidatif hasarlar oluşturması beklenir, birikerek tespit edilebilir hale gelirler ve hücre ölümüyle sonuçlanabilir (Ransy ve diğerleri, 2020).

2.4.1.3. Tekil Oksijen (¹O₂)

Bu radikal oksijene, paralel öz dönüşüm elektronlarından birini daha yüksek bir enerji seviyesine çıkaracak ve bu sırada elektronun spinini tersine çevirecek kadar enerji verilebilir.

Bu durumda oksijen, tekil oksijen olarak adlandırılan uyarılmış bir duruma geçer. Tekil oksijende spin kısıtlaması ortadan kalktığı için bu form, temel halindeki oksijene kıyasla çok daha reaktiftir (Meo ve diğerleri, 2020).

2.4.1.4. Süperoksit Radikali (O_2^-)

Süperoksit, moleküler oksijene bir elektron eklenmesiyle üretilen birinci radikaldir (Ozougwu, 2016). Süperoksit üretimi iki enzimatik yolla gerçekleşir: Bazı enzimler süperoksiti doğrudan üretir ve oksijen tüketimiyle birlikte H_2O_2 veya diğer peroksitleri temel ürün olarak oluştururken diğer enzimler ise çevresel koşullara bağlı olarak süperoksiti yan ürün olarak üretir. Enzimatik olmayan bir süreç olan glikasyon, hiperglisemi altında ilerler ve glikooksidasyon yoluyla süperoksit dahil yoğun ROT üretir. Bu durum diyabetik komplikasyonlar, nörodejeneratif hastalıklar ve kanserle ilişkilidir. Süperoksidin oksitleyici gücü, $OH^\bullet$ radikaline kıyasla orta düzeydedir. Ancak süperoksit, diğer bileşiklere bir elektron sağlayan veya onlardan bir elektron çeken birincil radikaldir ve bu da radikal elektronu sonunda ortadan kaldırılana kadar bir zincirleme reaksiyon yoluyla diğer radikal türlerinin üretilmesiyle sonuçlanır. Zincirleme reaksiyonlar sırasında üretilen radikaller ve diğer ROT'lar oksidatif hasarı tetikleyebilir. Bu nedenle, süperoksitin kendisi doğrudan ciddi hasara neden olmayabilir, ancak düzgün bir şekilde uzaklaştırılmazsa, potansiyel olarak hücre hasarına ve ölümüne yol açabilir (Fujii ve diğerleri, 2022).

2.4.2. Antioksidanların Koruma Mekanizmaları

Antioksidan savunma mekanizmaları, serbest radikallerin neden olduğu oksidatif stres, inflamasyon ve doku hasarına karşı korunmada hayati öneme sahiptir (Martinez ve diğerleri, 2014).

Hücreleri ROT ve serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunma mekanizmalarıdır. Bu mekanizmalar hücreleri oksidatif hasara karşı koruyarak sağlıklı işleyişin devamına katkıda bulunurlar (Gutteridge, 1995).

2.4.2.1. Enzimatik Antioksidan Yapılar

Vücut, ROT'ları etkisiz hale getiren çeşitli enzimler üretir. Temel enzimatik antioksidanlar SOD, CAT ve GPx'dir (Bhattacharyya ve diğerleri, 2014).

Hücreleri oksidatif hasara karşı koruyarak sağlıklı işleyişin devamına katkıda bulunan enzimatik antioksidanlar ve etki mekanizmaları Tablo 1'de gösterilmiştir (Gutteridge, 1995).

Tablo 1. Enzimatik antioksidanlar (Gutteridge, 1995).

Antioksidan	Etki mekanizması
Süperoksit dismutaz (SOD)	Süperoksit radikalini temizler (O_2^-) $2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$
Katalaz (CAT)	Hidrojen peroksiti (yüksek konsantrasyonda ise) ortamdan uzaklaştırır $2 H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$
Glutasyon peroksidaz (GPx)	Hidrojen peroksiti (düşük konsantrasyonda ise) ortamdan uzaklaştırır $H_2O_2 + 2 GSH \rightarrow GSSG + 2 H_2O$
Sitokrom oksidaz	Oksijenin suya indirgenmesi sırasında aktif oksijenin ortama salınımını engelleyerek ROT (H_2O_2 , $OH^\bullet$, O_2^-) oluşumunu engeller.

GSH: Redükte glutasyon, GSSG: Okside glutasyon.

2.4.2.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

ROT'lara karşı hücresel savunmada ilk hattı oluşturan enzimlerden biri olan SOD, süperoksit radikalini H_2O_2 ve moleküler oksijene dönüştürerek etkisiz hale getirir. Oluşan H_2O_2 ise, hücrede birikmesini önlemek amacıyla katalaz (CAT) veya glutasyon peroksidaz (GPx) enzimleri tarafından ortamdan uzaklaştırılır (Karabulut ve Gülay, 2016).

2.4.2.1.2. Katalaz Enzimi (CAT)

Organizmada hem içeren bir enzimdir ve çoğunlukla peroksizomlarda bulunur (Nordberg ve Arnér, 2001). Bu enzim, hidrojen peroksitin bir su ve oksijen molekülü oluşturarak uzaklaştırılmasına sebep olur (Çimen ve diğerleri, 2005).

2.4.2.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx)

GPx, elektron vericisi olarak indirgenmiş glutasyon (GSH) kullanarak H_2O_2 veya organik hidroperoksitlerin suya veya karşılık gelen alkollere indirgenmesini katalize eden çoklu izozim ailesinin genel adıdır. Memeli dokularında, dört ana selenyum bağımlı GPx izozimi vardır: (a) kırmızı hücrelerde, karaciğerde, akciğerde ve böbrekte bulunan klasik GPx (GPx1); (b) gastrointestinal GPx (GPx2); (c) böbrek, akciğer, epididim, vas deferens, plasenta, seminal vezikül, kalp ve kas gibi farklı organlarda bulunan plazma GPx (GPx3) ve (d) farklı dokularda yaygın olarak dağılmış olan fosfolipid GPx veya GPx4 (Margis ve diğerleri, 2008).

2.4.2.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

2.4.2.2.1. Glutasyon (GSH)

GSH, vücuttaki en bol miktarda bulunan doğal antioksidanlardan biridir ve özellikle dışarıdan alınan antioksidanların, örneğin C ve E vitaminlerinin, aktif ve indirgenmiş halde kalmalarına destek olur. Karaciğerde üretilen glutasyon, sistein, glutamik asit ve glisin amino asitlerinden sentezlenir. Ayrıca, kanserojenler ve zararlı yabancı maddelerin detoksifikasyonunda etkili bir ajan olarak görev yapar (Ko ve Sabanegh, 2014).

2.4.2.2.2. Enzimatik Olmayan Diğer Antioksidanlar

Bu antioksidanlara E vitamini, C vitamini, karotenoidler, bazı mineraller (Zn, Mn, Cu, Se) ve polifenoller (flavonoidler, fenolik asitler, stilbenler, lignanlar) gibi diyet antioksidanları örnek verilebilir. Endo ve ekzojen antioksidanlar, redoks homeostazını korumak veya yeniden sağlamak için sinerjik olarak hareket edebilir. Ekzojen antioksidanlar, yaygın olarak tüketilen meyvelerde, sebzelerde, içeceklerde (meyve suları, çay, kahve), kuruyemişlerde ve tahıl ürünlerinde önemli miktarlarda bulunur. Diyet antioksidanları, yaşlanma sürecini geciktirebilir ve ayrıca diyabetin ve kardiyovasküler hastalıkların komplikasyonlarını hafifletebilir. Bu proteinler ve düşük molekül kütleli maddeler, konumları nedeniyle ROT ve reaktif azot türlerine (RNT) karşı hücre içi veya hücre dışı savunmanın mekanizmasında rol oynarlar (Tablo 2) (Mirończuk-Chodakowska ve diğerleri, 2018).

Tablo 2. İntra ve ekstrasellüler nonenzimatik antioksidanlar (Mirończuk-Chodakowska ve diğerleri, 2018).

İntraselüler antioksidanlar	Ekstraselüler antioksidanlar
Ferritin	Transferrin
Miyoglobin	Laktoferrin
Qoenzim q10	Albumin
Glutatyon	Seruloplazmin
Melatonin	Ürik asit
	Bilirubin

2.4.3. Mide Mukozasında Oksidatif Stres

Gastrointestinal sistem, ROT'un önemli bir kaynağıdır. Yutulan materyaller ve patojenler epitel tabakası tarafından sağlanan koruyucu bariyere rağmen, oksidatif stresi daha fazla arttıran inflamatuvar sitokinler ve diğer mediatörleri üretmek için epiteli, polimorf nükleer nötrofilleri ve makrofajları aktive ederek yangıya neden olabilir (Bhattacharyya ve diğerleri, 2014).

Mide mukusu, mide mukozası için önemli bir koruyucu faktördür. Tüm gastrointestinal mukozayı kaplayan viskoz, elastik, yapışkan ve şeffaf bir jel yapısında bir antioksidan olarak hareket edebilir ve bu nedenle oksijensiz radikallerin aracılık ettiği mukozal hasarı azaltabilir (Penissi ve Piezzi, 1999).

Normal hücrel metabolik aktivitelerin yan ürünleri olarak üretilen ROT'lar, gastrointestinal mukozal hastalıkların patogeneğinde önemli bir faktördür ve ultraviyole radyasyon, sigara, alkol, steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar, iskemi-reperfüzyon hasarı, kronik enfeksiyonlar ve inflamatuvar bozukluklara yanıt olarak üretilirler (Bhattacharyya ve diğerleri, 2014).

Midede ROT birikimine katkıda bulunan birkaç faktör olup azalmış antioksidan enzim düzeyleri ve azalmış antioksidan vitamin alımı gastroduodenal inflamatuvar hastalıklarla ilişkili ROT birikimine katkıda bulunur. Etanol kaynaklı gastrik inflamasyon, artan O₂ üretimiyle ilişkili olup fagositik lökositler, *H. pylori* kaynaklı gastrit ve irritabl barsak hastalığında gözlemlendiği gibi kronik inflamasyonda ROT'un ana kaynağıdır. İnflamasyon sırasında fazlaca ROT üretiminin nedeni önemli sayıda nötrofil ve/veya makrofajın gastrik mukozaya sızmasıdır (Bhattacharyya ve diğerleri, 2014). Gastrointestinal ülserlerde ROT'un seviyelerini azaltmak önemlidir çünkü ROT, lipidler, DNA ve proteinler gibi biyolojik makromoleküllerde oksidatif hasara neden olabilir (Cheng ve diğerleri, 2016).

Gastroduodenal ülserler asit-pepsin sekresyonu, pariyetal hücre, mukozal bariyer, mukus sekresyonu, kan akımı, hücrel rejenerasyon ve endojen koruyucu ajanlar (prostglandinler ve epidermik büyüme faktörleri) gibi çeşitli agresif ve defansif faktörlerden etkilenerek oluşurlar. Araşidonik asit, trombositler, makrofajlar ve düz kas hücreleri metabolizması tarafından üretilen ROT, gastrik mukozal hasara sebep olabilir (Repetto ve Llesuy, 2002).

ROT/RNT canlı sistemler için zararlı veya yararlı olabilirler. ROT'un yararlı etkileri için enfeksiyöz ajanlara karşı savunma ve bir dizi hücrel sinyal sisteminin işlevini görür ayrıca düşük konsantrasyonlarda, mitojenik aktivitede rol oynamaktır. Buna karşılık, yüksek

konsantrasyonlarda olduğunda lipitler ve zarlar, proteinler ve nükleik asitler dahil olmak üzere hücre yapılarına verilen hasarın önemli araçlarıdır (Valko ve diğerleri, 2006).

İndometazin kaynaklı gastrik ülser neden olan patojenik mekanizmalar, ROT'un yüksek üretimine ve bu da gastrik dokuda oksidatif strese neden olur. Fazla üretilen ROT, SOD ve GSH gibi bazı antioksidan enzimlerin ve enzimatik olmayan maddelerin aktivitelerini gastrik dokuda azaltarak, gastrik dokunun mukozal yüzeyine ciddi şekilde zarar verebilen MDA gibi bazı lipid ve protein oksidasyon ürünlerinin üretilmesine yol açar ve sonunda doku ve organ yaralanmalarına ve hastalıklarına yol açabilir (Duysak ve diğerleri, 2023; Üstündağ ve diğerleri, 2024).

2.5. Nonsteroidal Antiinflatuvar İlaçlar (NSAİİ)

NSAİİ, çoğunlukla analjezik, antipiretik ve antiinflatuvar etkilere sahip organik asitlerden oluşan bir ilaç grubudur. Bu ilaçlar, dünya genelinde en çok satılan ilaçlardır ve hekimler tarafından reçete edilen veya kolaylıkla temin edilen tüm ilaçların oran olarak yaklaşık %30'unu oluştururlar. Bu nedenle, ateşi ve akut veya kronik ağrıyı kontrol etmek için yaygın olarak kullanılırlar (García-Rayado ve diğerleri, 2018; Hilário ve diğerleri, 2006; Isnain ve diğerleri, 2023).

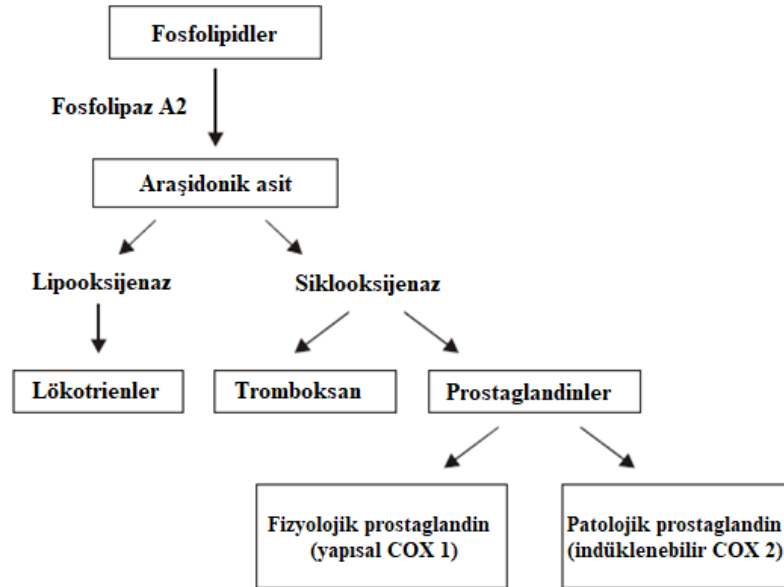
2.5.1. Nonsteroidal Antiinflatuvar İlaçların (NSAİİ) Genel Etki Şekilleri

NSAİİ'lerin etki mekanizması ilk olarak 1971 yılında Vane ve Piper tarafından tanımlanmıştır ve COX enzimleri tarafından prostaglandin ve prostanoidlerin biyosentezinin inhibisyonu yoluyla etkilerini gösterdiklerini bildirmişlerdir (Harirforoosh ve diğerleri, 2013).

Gastrik mukozal bariyerin korunmasında ve sitoproteksiyon mekanizmasında en önemli rolü prostaglandinler oynar. Prostaglandinler, gastrointestinal sistem mukozasını çeşitli zarar verici etkenlere karşı korur. NSAİİ'lerin gastroduodenal mukozaya toksik etkilerinin en temel nedeni, bu ilaçların gastrointestinal mukozada COX enzim aktivitesini inhibe ederek PG üretimini azaltmasıdır. Prostaglandinler, fosfolipaz A2 enzimi aracılığıyla membran fosfolipitlerinden salınan araşidonik asidin, COX enzimi ile işlenmesi sonucu oluşur. COX

enzimi bu süreçte hız kısıtlayıcı bir basamak olup, iki farklı izoforma sahiptir: COX-1 ve COX-2. COX-1 izoformu üzerinden üretilen PGE₂, gastrointestinal mukozanın bütünlüğünün korunmasında kritik bir rol oynarken, COX-2 izoformu aracılığıyla sentezlenen prostaglandin türevleri daha çok inflamasyon süreçlerinde aktif olmakla birlikte, gastrointestinal sistem üzerindeki koruyucu etkileri daha sınırlıdır (Eminler ve diğerleri, 2014).

Vücutta yangı oluştuğunda dokulardan prostaglandin, histamin ve serotonin gibi yerel hormonlar salgılanmakta olup salgılanan bu hormonlar ağrı oluşumuna neden olurlar. NSAİİ'ler ise COX etkinliğini engelleyip PG sentezini azaltarak ağrı kesici etki yaparlar (Harirforoosh ve diğerleri, 2013). COX enzimlerinin üretim mekanizmaları Şekil 7'de gösterilmiştir (Hilário ve diğerleri, 2006).



Şekil 7. COX-1 ve COX-2 üretim mekanizması (Hilário ve diğerleri, 2006).

COX enziminin inhibisyonu nedeniyle PG üretimi kesintiye uğrar. Bu, NSAİİ'lerin hem terapötik hem de yan etkilerinin anahtarı olup prostaglandinler yaralanma, enfeksiyon veya zararlı uyarılara karşı inflamatuvar yanıtta önemli araçlardır. Prostaglandinler yangılı dokuda belirgin şekilde artarak ağrı, ateş, kızarıklık ve ödem gibi tipik yangı belirtilerinin ortaya çıkmasında rol oynarlar. NSAİİ kullanımı, PG üretiminin azalmasına bağlı olarak inflamatuvar

yanıtı ve belirteçlerini baskılar ve istenen terapötik etkilerle sonuçlanır. Bununla birlikte, PG üretiminin azalmasıyla özellikle gastrointestinal sistem ve böbrek sistemi üzerinde olumsuz etkiler oluşmaktadır (Islam ve diğerleri, 2024).

NSAİİ'ler endotel hücrelerinin yüzeyindeki hücre yapışma moleküllerini artırabilir ve bu moleküller lökositlerin yangılı bölgelere alınmasında önemli bir rol oynar ve bu da gastrik mukozal hasara yol açar. Lökosit yapışması gastrik mukozada mikrosirkülasyonu sekteye uğratarak iskemik mukozal hasara ve ülseratif lezyona yol açan doku hasarına neden olabilir (Eamlamnam ve diğerleri, 2006). Mukozal hasar, aspirin ve diğer birçok NSAİİ'lerin asidik özellikleri tarafından topikal olarak başlatılır ve belirli ajana göre değişen düşük bir ayrışma sabiti nedeniyle, bu zayıf asitler yüksek asidik gastrik lümende noniyonize halde kalırlar. Bu şartlarda plazma membranları boyunca gastrik mukustan ve yüzey epitel hücrelerine doğru göçü kolaylaştırır ve burada NSAİİ'ler iyonize forma ayrışır ve hidrojen iyonlarının tutulmasıyla sonuçlanır (Schoen ve Vender, 1989).

NSAİİ'ler ayrıca gastrik mukusun hidrofobisitesini azaltıp topikal mukozal hasara neden olabilir ve böylece endojen gastrik asit ve pepsinin yüzey epiteline zarar vermesine izin verirler. Topikal mukozal hasar, safra atılımı ve ardından aktif NSAİİ metabolitlerinin duodenogastrik reflüsü yoluyla dolaylı mekanizmaların bir sonucu olarak meydana gelebilir. Örnek olarak sulindak toksik olmayan bir ön ilaç olarak uygulandığında aktif metaboliti olan sulindak sülfid safraya atılır ve duodenuma girdiğinde, asidik özelliği sayesinde mukozada topikal hasara neden olur (Wolfe ve Singh, 2014).

NSAİİ'lerle yapılan çalışmalar hem izole mitokondrilerde hem de çeşitli hücrelerde, bu ilaçların gastrik epitel hücrelerinde "iyon tuzağı" mekanizmasıyla biriktiğini ve ardından mitokondriyal oksidatif fosforilasyonu bozarak elektron taşıma zincirini engellediğini göstermektedir. Bu durum, hücre içi ATP'nin azalmasına, hücrede Ca^{+2} birikimi sonucu toksisiteye ve süperoksit ile hidroksil radikalleri gibi ROT oluşumuna yol açar. ROT, hücre proteinleri, lipidleri veya nükleik asitleri doğrudan okside ederek hücre hasar ve işlev bozukluğuna neden olabilir. ROT çeşitli sinyal yollarını tetikleyerek nekroz veya apoptozla sonuçlanacak hücre ölümünü başlatabilir (Musumba ve diğerleri, 2009; Orrenius, 2007). Apoptozis, ROT tarafından oksidatif hasar ve gastrik mukozadaki anjiyogenezin azalması, hücre çoğalmasının durmasına yol açar ve bu olaylar da sonuçta ülserasyona neden olur. ROT aracılı artan lipid peroksidasyonu, düşen GSH seviyesi ve antioksidan sistemler, hemen hemen tüm gastrik ülser formlarının patogeneğinde rol oynar (Bhattacharyya ve diğerleri, 2014).

Oksidatif fosforilasyonun ayrılması sonucunda mitokondriyal transmembran potansiyeli dağılır ve sitokrom c serbest kalarak apoptoza sebep olabilir. NSAİİ'lerin, gastrointestinal mukus jel tabakasında ve yüzeyde yer alan ekstraselüler fosfolipitlerle kimyasal etkileşime girerek, mideyi koruyan hidrofobik yüzey bariyerini zayıflatıp bu bariyerin hidrofobik özelliklerini bozmaktadır. Bu ilaçlar membran fosfolipitlerini de bozarak membranın hidrofobisitesini, akışkanlığını, kalınlığını, bükülme direncini ve gözenek oluşumunu değiştirerek membranın geçirgenliğini artırır. Bu değişiklikler, asidin geri difüzyonuna olanak tanıyarak apoptoz ve nekroz yoluyla hücre ölümüne ve sonuç olarak gastrik ülserlerin oluşumuna yol açarlar (Musumba ve diğerleri, 2009).

2.5.2. Nonsteroidal Antiinflamatuvar İlaçların Yan Etkileri

NSAAİİ'lerin kullanımına bağlı yan etkiler olarak gastrointestinal lezyonların görüldüğü tespit edilmiş olup bu ülser etkisinin mekanizmaları henüz tam olarak anlaşılmamış olsa da, önceki çalışmalar PG sentezinin inhibisyonu, nötrofil birikimi, azalmış mukozal kan akışı ve azalmış mukozal hücre proliferasyonunun patojenik mekanizmalara katkıda bulunduğunu göstermektedir (Simões ve diğerleri, 2019).

Mide mukozası zarar gördüğünde (örneğin asit saldırısı, NO üretiminin engellenmesi ya da duyuşal sinirlerin hasar görmesi durumlarında), COX-1 veya COX-2 enzimlerinin tek başına baskılanması ülser oluşumuna neden olabilir. Bu da, NSAİİ'lerin mide ülserine yol açma risklerinin, midedeki PG üretimini baskılamaları ve özellikle COX-1 enzimine karşı daha seçici olmaları ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Trombosit COX-1'in inhibisyonu, tromboksan üretiminin azalmasına ve kanama riskinin artmasına yol açar. Bu durum, NSAİİ'lerin kanama komplikasyonlarına yol açma eğilimini belirleyen temel faktörlerden biri olabilir (Musumba ve diğerleri, 2009). NSAİİ'lerin neden olduğu üst gastrointestinal kanama nedeniyle hastaneye yatırılan hastalarda ölüm oranı yaklaşık %5 ile %10 arasındadır (Wolfe ve Singh, 2014).

NSAİİ'lerin başlıca gastrointestinal, renal ve kardiyovasküler sistemlerini etkileyen yan etkileri bulunmaktadır. Bu ilaçları terapötik dozlarda ve daha kısa sürelerle alan hastaların çoğunluğu genellikle bunları iyi tolere ederken daha uzun süreli tedavi yapılanlarda yüksek risk ortaya çıkabilir. Genel olarak, NSAİİ'lerle tedavi, hastanın mevcut durumuna göre risk fayda oranına dayalı bir karar içermektedir (Harirforoosh ve diğerleri, 2013).

NSAİİ'lerle ilgili advers reaksiyonların iki ana hedef organı gastrointestinal sistem ve üriner sistemidir. Meydana gelen mide yaralanmaları kısmen gastrik vasküler endotelde nötrofillerin agregasyonuna bağlı ortaya çıkar ve mukozal hasara yol açabilir (Bhattacharyya ve diğerleri, 2014).

NSAİİ kullanan kişilerin yaklaşık olarak yüzde 30 ile yüzde 50'sinde, üst GİS endoskopik muayenede peteşi, erozyon ve ülser gibi lezyonlar gözlemlenmektedir (Melcarne ve diğerleri, 2016). Her gün 30 milyondan fazla insan NSAİİ almakta olup bu ilaçların kullanımına bağlı gastrointestinal hasar, kardiyovasküler bozukluklar, böbrek toksisitesi, konjestif kalp yetmezliği ve kan basıncı yükselmesi gibi geniş bir yan etki yaşanmaktadır. Sıklığı ve ciddiyeti nedeniyle gastrointestinal hasar en önemli yan etkidir (García-Rayado ve diğerleri, 2018). Ayrıca intraserebral kanama ile solunum yolu iltihabı ve enfeksiyonuna sebep olduğu da bildirilmiştir (Bindu ve diğerleri, 2020).

NSAİİ kaynaklı gastroduodenal mukozal hasar, hem lokal hem de sistemik etkileri olan çoklu mekanizmaları içerir. Sistemik etkiler büyük ölçüde endojen prostaglandin sentezinin inhibisyonunun sonucu epitelyal mukus, bikarbonat salgılanması, mukozal kan akışı, epitel proliferasyonu ve mukozal hasara karşı direncin azalmasına yol açar. Mukozal dirençteki bu bozulma asit, pepsin ve safra tuzları gibi endojen faktörlerin yanı sıra NSAİİ'ler ve muhtemelen etanol ve diğer zararlı ajanlar gibi ekzojen faktörlerin neden olduğu hasara izin verir (Wolfe ve Singh, 2014).

NSAİİ'lerin terapötik ve yan etkilerinin oluşmasında inflamatuvar hücrelerde indüklenen COX-2 enzimi önemli olup, bu enzimin sitokin aracılı, ağrı ve inflamasyon durumlarında prostaglandinlerin yapımından sorumlu olduğu ifade edilmektedir. Ayrıca gastrit ve peptik ülserde aktifleşmiş nötrofillerin, oksidatif strese yol açan prooksidatif, proinflamatuvar enzimlerin ve serbest radikallerin üretimini çoğalttığı aynı zamanda tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) ve interleukin-6 (IL-6) gibi proinflamatuvar sitokinlerin düzeylerindeki çoğalma ile de gastrik lezyonların patogenezisinde önemli rol oynadığı bilinmektedir (Uslu ve Uslu, 2019).

Çalışmalarda NSAİİ'lerin neden olduğu ülserlerde COX-1 inhibisyonu ile tetiklenen gastrik hipermotilitenin rol oynadığı gösterilmiştir. Gastrik yaralanma mekanizması tam olarak anlaşılamamış olsa da, bu durumun güçlü kasılmaların mukozaya giden kan akışını geçici olarak kısıtlaması sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir. Bu süreç, doku hipoksisi, nötrofil-endotel etkileşimi ve azalmış mukozal direncin aracılık ettiği mikrovasküler hasarla sonuçlanabilir (Musumba ve diğerleri, 2009; Tanaka ve diğerleri, 2002).

İnsanlarda olduğu gibi ratlarda NO artışına yol açan ilaçların oral ya da parenteral kullanılması mide hasarını önler ve ülser iyileşmesini hızlandırır. Bu nedenle NSAİİ'leri kullanmak zorunda olan hastaların aynı zamanda mide mukozasını koruyucu ilaçları da kullanması gerektiği bildirilmiştir (Lanas ve diğerleri, 2000). Fakat mevcut ticari ilaçların birçoğu örneğin omeprazol ve diğer antiasit ilaçlar, gastrik rahatsızlıklara karşı sınırlı etki göstermekte birlikte genellikle ciddi yan etkilerle ilişkilendirilmektedir (Simões ve diğerleri, 2019).

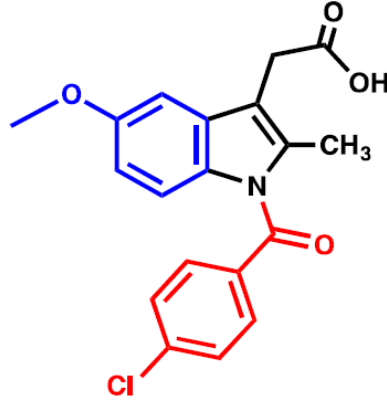
2.5.3. Nonsteroidal Antiinflamatuvar İlaçların Ülser Modellerinde Kullanımları

NSAİİ kullanımının, köpekler, kediler ve insanlar da dahil olmak üzere çeşitli türlerde gastroduodenal ülser oluşumu ile bağlantılı olduğu bilinmekte olup NSAİİ'lerin mide mukozasına zarar vermesi, doğrudan toksik etkilerinden veya PG sentezinin baskılanmasından kaynaklanabilir. Doğrudan toksisite, ilacın mide paryetal hücreleri içinde “iyon tuzaklanması” yoluyla meydana gelebilir. NSAİİ'ler zayıf asit yapısında olduğu için mide lümeninin asidik ortamında iyonize olmadan kalır ve paryetal hücrelerin apikal zarından kolayca geçebilir. Hücre içine girdiklerinde, daha yüksek hücre içi pH nedeniyle iyonize olarak hücre içinde hapsolurlar ve böylece mitokondriyel hasara yol açabilir ve oksidatif fosforilasyonun bozulmasına neden olarak serbest radikal hasarını tetikleyebilir. NSAİİ'lerin bir diğer doğrudan toksik etkisi ise, mukus jel tabakasındaki yüzey aktif fosfolipidlere bağlanarak bu tabakanın hidrofobik özelliklerini azaltmasıdır (Daure ve diğerleri, 2017).

NSAİİ'ler kaynaklı gastrik ve ince bağırsak ülserasyonuna ilişkin hayvan modelleri, bu durumların patogenezinin araştırılması ve etkili tedavi yaklaşımlarının değerlendirilmesi amacıyla yaygın şekilde kullanılmaktadır (Wallace ve Mcknight, 1993).

2.6. İndometazinin Yapısı ve Ülser Modellerinde Kullanımı

İndometazin ($C_{19}H_{15}ClN_1O_4$) metilli bir indol asetik asit türevi, beyaz-sarı renkli, kristalize, pKa değeri 4,5 ve toz yapıdadır. Oral olarak alındığında sindirim kanalından hızlıca emilir, plazma proteinlerine bağlanarak idrar ve dışkı ile atılır (Kaya, 2009). İndometazinin yapısı Şekil 8'de gösterilmiştir (Kassab ve diğerleri, 2017).



Şekil 8. İndometazinin yapısı (Kassab ve diğerleri, 2017).

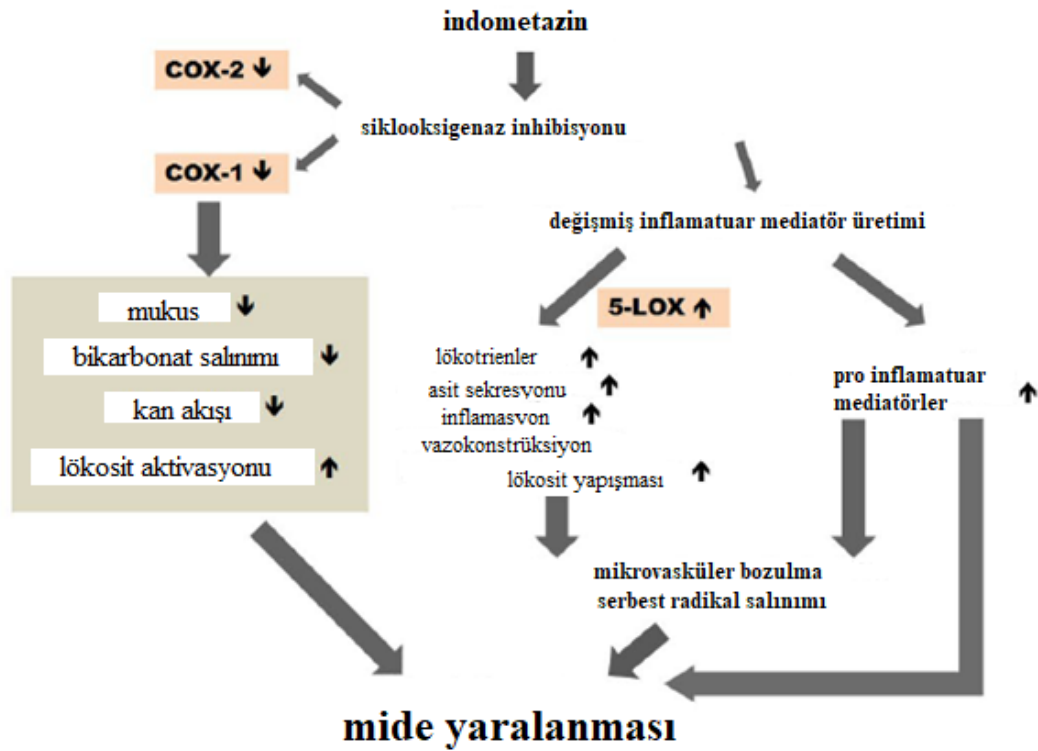
İndometazinin mide mukozası üzerinde güçlü zararlı etkileri olduğu bilinmektedir. Mukozal erozyonlara, ülseratif lezyonlara ve kanamaya neden olabilir (Halıcı ve diğerleri, 2016; Taştekin ve diğerleri, 2018). Gebe kadınlarda prostaglandin aktivitesini bloke ederek doğumun durmasına, fetüste duktus arteriyozusun erken kapanmasına ve fetal dolaşımın bozulmasına neden olabildiğinden gebelik sırasında bu ilaçların kullanılmaması gerekir. Yumurtlama ve embriyonun implantasyonu için COX-2 indüksiyonu gerekli olduğu için üreme döngüsünün bu aşamalarında da dişilerde kullanımından kaçınılmalıdır (Mathews, 2002). İlaç COX ve fosfodiesteraz enzimlerini inhibe ederek etkisini gösterir; bu durum, prostaglandin sentezinin ve salınımının azalmasına neden olarak yangıyı baskılar. Aynı zamanda mide mukozasında lipid peroksidasyonunu artırır ve ROT'un oluşumunu teşvik eder (Alfadil, 2024).

İndometazin, diğer NSAİİ'lerden daha yüksek ülserojenik potansiyele sahip olmasının bir sonucu olarak deneysel ülser modeli üretmek için ilk tercih edilen ilaç haline gelmiştir (Süleyman ve diğerleri, 2010). Sıçanlarda indometazin ile oluşturulan ülser, gastrik ülserlerin patofizyolojisi ve farmakolojisi üzerine araştırmalar yapmak için standart bir model olarak kabul edilmektedir (Gomaa ve diğerleri, 2018).

İndometazinin COX-1 inhibisyonu yoluyla PGE₂ seviyelerini azaltarak gastrik hasar ürettiği ve bu ülserlerde PG miktarlarındaki azalmaya paralel olarak bikarbonat sekresyonunda da azalma yaptığı bildirilmiştir. Ayrıca indometazin uygulaması ile, mukozal miyeloperoksidaz (MPO) ve MDA seviyelerinin artması, mukozal dokuda glutatyon N-transferaz (GST), SOD, CAT ve GPx aktivitelerinin azaldığı ve gastrik asit sekresyonunun artıp NO sentezinin azalarak ülser oluştuğu bildirilmiştir (Süleyman ve diğerleri, 2010).

PGE₂ sentezinin baskılanması, serbest radikal oluşumunun artışı, inflamatuvar sitokinlerin özellikle TNF- α gibi aşırı üretimi, indüklenebilir nitrik oksit sentazın (İNOS) artan ekspresyonu ve NO'nun aşırı üretimi indometazin ile oluşan gastrik ülserlerin patogeneğinde etkili olmaktadır (Gomaa ve diğerleri, 2018).

İndometazin kaynaklı mide hasarında rol oynayan hücresel ve moleküler olaylar Şekil 9' da gösterilmiştir (Simões ve diğerleri, 2019).



Şekil 9. İndometazin kaynaklı mide hasarında rol oynayan hücresel ve moleküler olaylar (Simões ve diğerleri, 2019).

2.7. Lansoprazol ve Kullanım Alanları

Lansoprazol benzoimidazol türevi ilaçlardan olup, gastrik H, K-ATPaz pompalarını hedef alarak gastrik asit salgısını bloke eder. Ülseratif hastalıklarda iyileşmeyi kolaylaştırmak için kullanılan proton pompası inhibitörüdür. Peptik ülserle karşı oral olarak günde bir kez 30 mg dozunda kullanılır. *H.pylori*'nin mide mukozasında çoğalmasını ve bu bakterinin üreaz

etkinliğini azaltır. Mide ve duodenum ülseri tedavisi için sabahları tercihen aç karnına (kahvaltıdan 30-60 dakika önce) alınması önerilmektedir (Kayaalp, 2018).

Günümüzde peptik ülser tedavisinde iki ana yaklaşım bulunmakta olup birincisi mide asit üretimini azaltmaya ikincisi ise mukozal korumayı güçlendirmeye yönelik girişimlerdir. Günümüzde kullanılan proton pompa inhibitörleri peptik ülser tedavisinde önemli seçenek olabilir ancak uzun dönem kullanımları yüksek oranda kalça kırığı riski ile ilişkilendirilmiştir (Jagtap ve Deore, 2018). Ayrıca bu grup ilaçlar böbrek hastalığı, belirli enfeksiyonlara karşı fazla duyarlılık ile kalsiyum, magnezyum ve B12 vitamini eksikliği gibi önemli yan etkilere de sahiptir. Bağırsağın mikrobiyal bileşimini değiştirerek NSAİİ'lerin neden olduğu bağırsak hasarını artırabileceğine ve mide kanseri riskini artırabileceğine dair çalışmalar bulunmaktadır. Bu nedenle toksik olmayan kolay erişilebilir ve ekonomik olan antiülser ilacı arayışına ilgi artmış olup çeşitli bitkisel ilaçlar, mide ülseri de dahil olmak üzere birçok hastalığı tedavi etmek veya önlemek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Abu-Baih ve diğerleri, 2024).

Proton pompası inhibitörleri, H₂ reseptör blokörleri ve antasitler gibi mevcut tedaviler; hipoasidite, jinekomasti, iktidarsızlık, osteoporoz, kemik kırıkları ve kardiyovasküler bozukluklar gibi istenmeyen yan etkilere yol açabilmektedir. Bu nedenle, terapötik etkilerinin yanında bu tür olumsuz etkilere neden olmayan alternatif ilaçlara ihtiyaç duyulmaktadır (Lokman ve diğerleri, 2022).

2.8. Bitkilerin Gastrik Ülserdeki Etki Mekanizmaları

NSAİİ'lerin neden olduğu gastrointestinal ülserlerin oksidatif stresinin indüklenmesinden ve/veya antioksidan enzimlerin azalmasından kaynaklandığı bilinmektedir (Cheng ve diğerleri, 2016).

İnsan ve hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalarda bitki ekstraktlarının mide ülseri üzerine olan yararlı etkileri; antioksidan aktivite, mukozal proliferasyonun uyarılması, asit üretimi ve salgılanmasının azaltılması, mukus üretiminin artırılması ve inflamasyonun azaltılması olduğu belirtilmiştir.

1. Antioksidan aktivite: Oksidatif stres ve mide ülseri arasındaki bağlantı iyi bilinmektedir (Repetto ve Llesuy, 2002). Deneysel mide ülserine karşı bitki çalışmalarında

mide dokusunda oksidatif stres parametrelerinden MDA, SOD, CAT, GSH ve NO miktarlarının değiştiği görülmüştür.

2. Mukozal proliferasyonun uyarılması: Çalışma yapılan bitkiler ülser iyileşmesini destekleyen mukozal proliferasyon etkisini, hücrelerin çoğalmasını uyararak yapar. Bu etkileri epidermal büyüme faktörünü ve onun reseptörünün artışı nedeniyle olabilir.

3. Asit üretiminin engellenmesi: Mide  lserini azaltıcı etkiye sahip bitkiler mide ülserini iyileştirebilir.  alışması yapılan bitkilerin mide asidi salgısının azalttığı ve bunun da H^+/K^+ ATPaz aktivitesinin inhibisyonu ve PGE_2 üretiminin uyarılması ile olabileceği d ş n lmektedir (Bi ve diğerleri, 2014).

4. İnflamasyonun azaltılması: Çalışmalarda kullanılan bitkiler ile *H.pylori* ile mücadelede kısmen antimikrobiyal etkiler gösterilmiştir. *Croton lechleri* ile yapılan ve asetik asitle mide ülseri oluşturulan bir çalışmada bakteri kolonisinde %30 luk bir azalma ve ülser bölgesinde iltihaplanma sırasında nötrofil infiltrasyonunun bir belirtici olan MPO aktivitesinde %70 azalma olduğu bildirilmiştir (Miller ve diğerleri, 2000).

5. Mukus üretiminin arttırılması: Mukus asit ve pepsine karşı önemli bir koruyucu bariyer görevi yapar. Bazı bitkisel ekstraktların mukus üretimini arttırarak mide ülserini iyileştirdiği görülmüştür. Pepsinin mukus parçalanması yolu ile mide ülseri gelişiminde rol oynadığı ve buna karşın bazı mide ülseri karşıtı bitkilerin pepsin içeriğini azalttığı görülmüştür (Bi ve diğerleri, 2014).

Gastik  lsere karşı medikal tedavilerin pahalı ve yan etkilerinin olması nedeniyle alternatif veya medikal tedaviye yardımcı olması açısından bitkisel kaynaklı farmakolojik ajanların antiülseratif etki araştırmalarına olan ilgi artmıştır.

2.9. Yangı ve Sitokinler

Ateş, ağrı,  dem ve eritem klinik yangı parametreleri arasındadır. Bu temel belirtiler dokulara yerleşik hücrelerin hücre hasarı, enfeksiyon ajanı veya antijenler tarafından aktive edilmesiyle gelişirler. Aktive edilen bu yerleşik hücreler enfeksiyon ajanı veya hasar görmüş hücreyi ortadan kaldırmayı hedefleyen sistemik yanıt için inflamatuvar sitokinleri üretir. $TNF-\alpha$ ve $IL-1\beta$ gibi sitokinlerin, nötrofilleri çekerek ve hidrojen peroksit, peroksinitrit ve süperoksit anyon gibi reaktif oksijen türleri de dahil olmak üzere çeşitli inflamatuvar moleküllerin

üretimini tetikleyerek inflamatuvar yanıtı yoğunlaştırdığı iyi bilinmektedir. Bunlar süperoksit üretimini tetikleyebilir; bu süperoksit hızla H_2O_2 'ye dönüşerek NF- κ B aktivasyonunu sağlar ve bu da sitokin üretimini artırır. Aşırı veya uzun süren inflamatuvar tepkiler, doku hasarına ve bununla birlikte işlev kaybına neden olabilir. Bu yüzden, inflamatuvar yanıtın kontrol altında tutulması koruyucu etkiler ile aşırı inflamasyon arasında bir denge kurulması açısından kritik öneme sahiptir (Martinez ve diğerleri, 2014).

İnflamatuvar yanıt, gastrointestinal sistemdeki içsel ve dışsal etkenlere karşı mukozal savunmanın temel unsurlarından biri olup bu yanıtın dengesinin bozulması, mukozal hasara yol açabileceği gibi iyileşme sürecini de olumsuz etkileyebilir. IL-6 inflamasyon bölgesinde nötrofillerin, makrofajların aktivasyonunu tetikleyerek lokal doku hasarının oluşmasına katkı sağlar ve genellikle lokal dokularda sentezlenerek dolaşıma verilir (Lee ve diğerleri, 2014). TNF- α , temel inflamatuvar sitokinlerden biri olarak makrofajlar tarafından salgılanır ve mide mukozasında oluşan hasarda kritik bir rol üstlenir. İnflamatuvar yanıtı şiddetlendirerek ülser bölgesindeki mikrosirkülasyonun azalmasına neden olur ve bu durum mide ülserlerinin iyileşme sürecini olumsuz yönde etkiler (Abdelwahab, 2013). IL-1 α , proinflamatuvar bir moleküldür ve iltihabi hastalıkların ve bazı kanserlerin başlamasında rol oynar (Chen ve diğerleri, 2018).

Çeşitli patojenler, otoimmün ve kanser gibi hastalıklar, genetik bozukluklar ve bazı terapötik müdahaleler zamanla insan vücudunda yaşamı tehdit eden sistemik inflamatuvar durumlar meydana getirebilir. Bu durumda bağışıklık hücreleri fazla aktive olur ve sitokinler büyük miktarda salınırlar (Jarczak ve Nierhaus, 2022).

TNF- α , interlökin-1 β (IL-1 β), interlökin-8 (IL-8) ve trombosit aktive edici faktör (PAF) gibi mukozal proinflamatuvar mediyatörlerin, NSAİİ'ler sonrasında artış gösterdiği ve bu durumun mide hasarı ile ortaya çıkan önemli mediyatörleri olduğu bilinmektedir (Musumba ve diğerleri, 2009).

Yangı, proinflamatuvar sitokinler ve ROT üreten nötrofiller, lenfositler ve makrofajların lezyon bölgesine göç etmesi ve fibroblastların bu alana yerleşmesiyle tetiklenen bir dizi patolojik olay sonucu gelişir (Lechner ve Stoner, 2019). Proinflamatuvar sitokinler, endotel hücreleri ve lökositler üzerindeki adezyon molekülerini arttırabilir ve lökosit toplanmasına sebep olabilir. Endotel hücreleri ve lökositler üzerindeki adezyon molekülleri, gastrik yangılı bölgelere lökositlerin göçünü ve buralara yapışmasını sağlar. Bu lökositlerin (polimorf nükleer

lökositler) artışının NSAİİ'lere bağlı gastropatinin patogeneğinde de önemli bir rol oynayabileceğı bildirilmiştir (Morise ve diğlerleri, 1998).

İnflamatuvar durumlarda, iltihaplı mide hücreleri ve aktive olmuş lökositler ve makrofajlar aşırı miktarda proinflamatuvar sitokin ve enzim üretir, böylece doğuştan gelen bağışıklık tepkisini başlatmaya yardımcı olur. Bu proinflamatuvar mediatörlerin düzeyleri gastrik visseral hasarı yansıtır (Lokman ve diğlerleri, 2022).

2.10. Apoptozis

Apoptozis fizyolojik ya da programlanmış hücre ölümü olarak tanımlanmaktadır (Tomatır, 2003). Çeşitli nedenlerle meydana gelen gastrik mukoza hasarına önemli katkıda bulunmakla birlikte gastroprotektif ajanların ortak amacı bax/bcl-2 oranını düşürmek ve böylelikle kaspaz-3 ekspresyonunu azaltmak ve apoptozu inhibe etmeyi sağlamaktır (Arabacı Tamer ve diğlerleri, 2024).

Apoptozis, oksidatif stresin mitokondriyal dinamiklerde yarattığı bozulmalar sonucunda oluşabilir. ROT ve TNF- α , proapoptotik ve antiapoptotik bcl-2 ailesi proteinleri arasındaki dengeyi olumsuz yönde etkileyerek aktive olan proapoptotik protein bax, mitokondriyal membranda birikerek bcl-2/bax oranının düşmesine ve mitokondriyal membranın geçirgenliğinin artmasına yol açar. Bunun sonucunda bax, sitokrom c'nin salınımını tetikleyerek kaspaz-9'u aktive ederek aktif kaspaz-9 oluşur. Aktif kaspaz-9, kaspaz-3'ün aktif formuna dönüşmesini sağlar ve aktif kaspaz-3 üretimi sonucunda hücre apoptoza sürüklenir (Wu ve diğlerleri, 2024).

NSAİİ'lar apoptoz düzeyini değiştirebilmektedir. Bu ilaçlar apoptozu başlatır ve kemik iliğı üzerinde olumsuz etkilere de sebep olur. Bu ilaçların kolorektal adenom ve kansere karşı koruyucu olduğu ve bunun da apoptozun indüklenmesinden kaynaklandığı bildirilmektedir (Akşit ve Bildik, 2008).

Yapılan çalışmalar indometazinin apoptozisi indükleyebileceğini bildirmektedir (Liu ve diğlerleri, 2015; Ma ve diğlerleri, 2022). Ayrıca apoptoz, nekroz ve otofaji yoluyla mide zarının hücre ölümüne neden olduğu bildirilmiştir (Shaik, 2024).

2.10.1. B Hücreli Lenfoma 2 (Bcl-2)

Apoptozun dengelenmesi bcl-2/bax gen ailesi ile sağlanır. bcl-2 ve bax arasındaki denge hücrenin kaderini belirlerken bcl-2 seviyesinin yüksek olması hücreyi hayatta tutar, bax'ın baskın hale gelmesi ise hücre ölümüne yol açar (Tomatır, 2003). Bax yükseldiğinde hücrede apoptoz indüklenmiş olacak, bcl-2 yükseldiğinde ise apoptoz inhibe edilmiş olacaktır (Okuyan, 2023).

Bcl-2 proteinleri, gelişim, homeostaz, otofaji ve doğuştan ile adaptif bağışıklık tepkileri gibi çeşitli süreçlerde rol oynar. Bu süreçlerin bozulması ise kanser de dahil olmak üzere birçok hastalığın oluşumuna zemin hazırlar (Banjara ve diğerleri, 2020). Bcl-2'nin aşırı ekspresyonunun, apoptotik hücrelerde sitokrom C'nin mitokondriden salınımını ve apoptozisin tetiklenmesini engellediği bildirilmiştir (Orrenius, 2007).

Bax, bcl-2 ailesinin temel proapoptotik proteindir ve aktive olduğunda mitokondriye taşınarak sitoplazmaya diğer proapoptotik faktörlerin salınımını tetikler (Chen ve diğerleri, 2022).

Apoptoz, bcl-2 ve mide kanseri arasındaki ilişkiye bakıldığında, mide kanserinin başlangıcında genel mide mukozasının apoptotik etkisi zayıflayacak ve kanser hücrelerinin hayatta kalmasına ve çok sayıda hücre birikmesine neden olacaktır. Bcl-2'nin sadece apoptozu inhibe etmeyip tümör baskılayıcı genlerin de antogonisti olarak hareket ettiği ve genlerin mutasyona uğradığında, kaybolduğunda veya inaktive edildiğinde bu hücrelerde habis transformasyonu ve tümör oluşumu görülmektedir. Bcl-2 mide kanserinin erken evresinde en yüksek seviyede olup kademeli olarak kanser gelişimi sırasında azalmaktadır. Kanser tedavisi etmek amacıyla bcl-2 inhibitörleri bulmak için araştırmalar devam etmektedir (Okuyan, 2023).

2.10.2. Kaspaz-3

Kaspazlar apoptotik kaskatın ana bileşenidir. Aktive edildiğinde apoptoz ile ilişkili morfolojik ve biyokimyasal değişikliklere neden olur. Kaspaz 3 aktivitesinin düzensizliği kanser, nörodejeneratif bozukluklar ve otoimmün hastalıklar gibi çeşitli hastalıklara katkıda bulunabilir. Temel araştırmalarda yaygın olarak çalışılan çok önemli bir apoptoz belirleyicidir. Yükselmiş bir kaspaz-3 aktivitesi mide mukozasında artmış bir apoptozu gösterir. Oksidatif

stres, iltihaplanma ve mide mukozasının hasar görmesi gibi çeşitli faktörler de kaspaz-3 aktivasyonunu uyarır. Mide ülserinde kaspaz-3 aktivitesinin artması mide mukozal bariyerinin parçalanmasına ve iyileşme sürecinin bozulmasına sebep olabilir (Hammady, 2024).

2.11. Betanin

2.11.1. Betaninin Doğal Kaynakları

Betalainler, betasiyaninlere ve betaksantinlere bölünmüş azotlu pigmentlerdir (Khan ve Giridhar, 2015). Betalainler doğada en fazla kök, meyve ve çiçeklerde bulunmaktadır. Kırmızı ve sarı pancar (*Beta vulgaris* L. sp. *vulgaris*), amarant (*Amaranthus* sp.), kaktüs meyvesi (*Opuntia* ve *Hylocereus* genera) ve pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) betalainler bakımından zengin kaynaklardır (Resim 1) (Gengatharan ve diğerleri, 2015).

Betalainler iki alt sınıfa ayrılmıştır; betasiyaninler ve betaksantinler (Akbar Hussain ve diğerleri, 2018). Bitkilerde yaygın olarak tanınan betasiyanin betanindir (betanidin 5-O- β -glukozit) (Esatbeyoglu ve diğerleri, 2015).



Resim 1. Çeşitli betalain kaynakları (A) Kırmızı pancar (B) Amaranth (C) Dikenli armut (D) Kırmızı pitaya (Gengatharan ve diğerleri, 2015).

2.11.2. Genel Bilgiler

Kırmızı pancar (Resim 2), dünya çapında birçok ülkede yetiştirilmekle birlikte normal diyetin bir parçası olarak düzenli tüketilmektedir. Kırmızı pancar suyu konsantresi veya pancar tozu şeklinde gıda endüstrisi yanısıra ilaç ve kozmetik sanayide doğal katkı maddesi olarak da kullanılırlar (Gliszczyńska-Świgło ve diğerleri, 2006).



Resim 2. Kırmızı pancar (*Beta vulgaris*).

Bitki pigmentlerinin genellikle dört ana sınıfı vardır: Bunlar klorofiller, karotenoidler, flavonoidler ve betalainlerdir (Tablo 3) (Chunxian Chen, 2015).

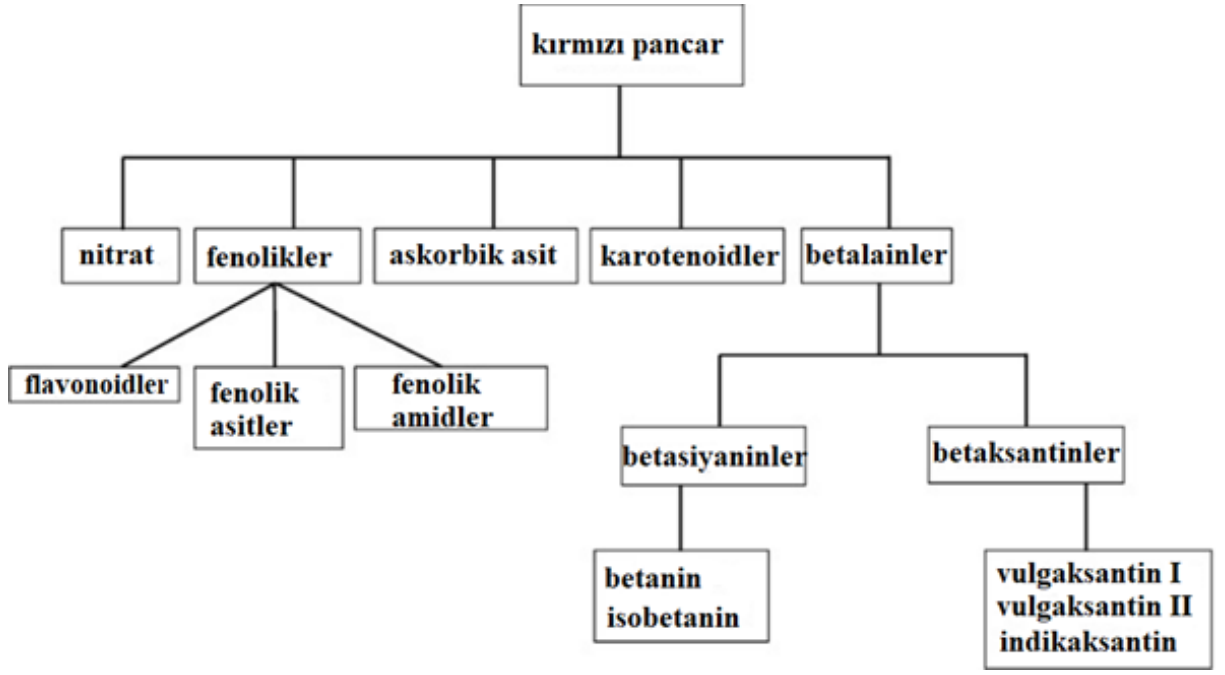
Kırmızı pancar betalainleri, sağlığa olan katkıları nedeniyle gıda ve tıp endüstrisinde kullanılan fonksiyonel gıda bileşeni olarak büyük bir potansiyele sahiptir. Kırmızı pancardan elde edilen betalainler, esas olarak sarı-turuncu betaksantinleri veya kırmızı-mor betasiyaninleri içeren doğal pigmentlerdir (Fu ve diğerleri, 2020).

Tablo 3. Bitki pigmentlerinin ana sınıfları (Chunxian Chen, 2015).

Pigment Sınıfı	Temel Yapı	Ana alt gruplar	Tipik Renkler	Örnekler
Karotenoidler	40 karbonlu polien hidrokarbon zinciri	Karotenler ve ksantofiller	Turuncu, sarı, pembe, kırmızı	Narenciye, muz, havuç, biber, yaprak sebzeler
Flavonoidler	15-karbon benzo- γ -pyrone iskeleti	Antosiyaninler flavonoller diğerleri	Mor, mavi, kırmızı, sarı	Yaban mersini, böğürtlen, patlıcan, kırmızı lahana
Betalainler	İndol türevi glikozid	Betasiyaninler ve betaksantinler	Kırmızı, mor, turuncu, sarı	Dragon meyvesi, kaktüs armutu, pancar, pazı
Klorofiller	Klor halkası	A ve B	Yeşil	Herhangi bir yeşil bitki

B. vulgaris, biyoaktif pigment ve betalainler içeren az sayıdaki sebzeler arasındadır. Kırmızı pancardaki betalain konsantrasyonları çeşitlere göre değişmekle beraber ortalama 200-2100 mg/kg taze ağırlıktır (Sadowska-Bartosz ve Bartosz, 2021). Kırmızı pancar yoğurt, dondurma, hazır şekerlemeler ve kek karışımları gibi süt ürünleri için renklendirici (E162) olarak kullanılmaktadır. Şekerler, toz içecek karışımları, sos karışımları, alkolsüz içecekler ve jelatin tatlıları dahil olmak üzere diğer bazı gıda ürünleri de betalainler kullanılarak renklendirilir. Bu amaçla çoğu gıdalara 50 mg/kg düzeyinde katıldığında istenilen rengi vermede yeterlidir (Clifford ve diğerleri, 2015; Delgado-Vargas ve diğerleri, 2000; Gliszczynska-Świąto ve diğerleri, 2006). Betanin, Avrupa Birliği tarafından onaylanan ve gıda renklendiricisi olarak kullanılan tek betasiyanindir (Silva ve diğerleri, 2019).

Kırmızı pancar nitrat, askorbik asit, karotenoidler, fenolik asitler ve flavonoidler içeren zengin bir fitokimyasal bileşik kaynağıdır (Şekil 10) (Clifford ve diğerleri, 2015) ve içerdiği vitaminler (C vitamini, tiamin, B6 vitamini, β -karoten, A vitamini, K vitamini, E vitamini) ve mineraller (kalsiyum, demir, magnezyum, potasyum, selenyum, çinko) ile insan sağlığına oldukça faydalıdır (Chhikara ve diğerleri, 2019).



Şekil 10. Kırmızı pancarda bulunan biyoaktif bileşikler (Clifford ve diğerleri, 2015).

Pancar üzerindeki ilgi, büyük ölçüde içeriğindeki nitratla ilişkili olabilir ve bu nitrat yaklaşık 1459 mg/kg kuru madde düzeyinde bulunmaktadır. Diyetle alınan nitrat, vasküler homeostaz, bağışıklık fonksiyonu ve metabolizma düzenlemesinde önemli bir rol oynayan, nitrit ve NO gibi bileşiklere sırasıyla indirgenerek çeşitli sağlık konusunda yararlar sağlayabilir. Pancar tüketiminin, endojen NO üretimini artırarak endotel fonksiyonu ve kan basıncında olumlu değişikliklere yol açabileceğine dair çalışmalar bulunmaktadır (Clifford ve diğerleri, 2016). Gıdalarla alınan nitratlar, özellikle ağız boşluğundaki bakteriler tarafından önce nitrite, ardından çeşitli reaksiyonlar sonucunda NO'ya dönüştürülür. NO ise vücutta mitokondriyal solunum, damar genişlemesi, yeni damar oluşumu ve kasların glikoz alımı süreçlerine katkıda bulunur. Kırmızı pancarın inorganik nitrat içeriğinin 250 mg/100 g olduğu, pancar suyunun da çok yüksek miktarda nitrat (964 mg/L) içerdiği bilinmektedir (Capper ve diğerleri, 2020; Kaynak ve diğerleri, 2024).

Betalainlerin kemirgenler ve insanlar için bilinen bir toksisitesi bulunmamakta olup gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan E162 doğal gıda boyası esas olarak betalainlerden oluşur (Lechner ve Stoner, 2019). Yapılan bir çalışmaya göre *B. vulgaris*'in etanolik ekstraktının OECD 420 protokolüne göre gerçekleştirilen toksisite testinde 4 g/kg doz seviyesine kadar

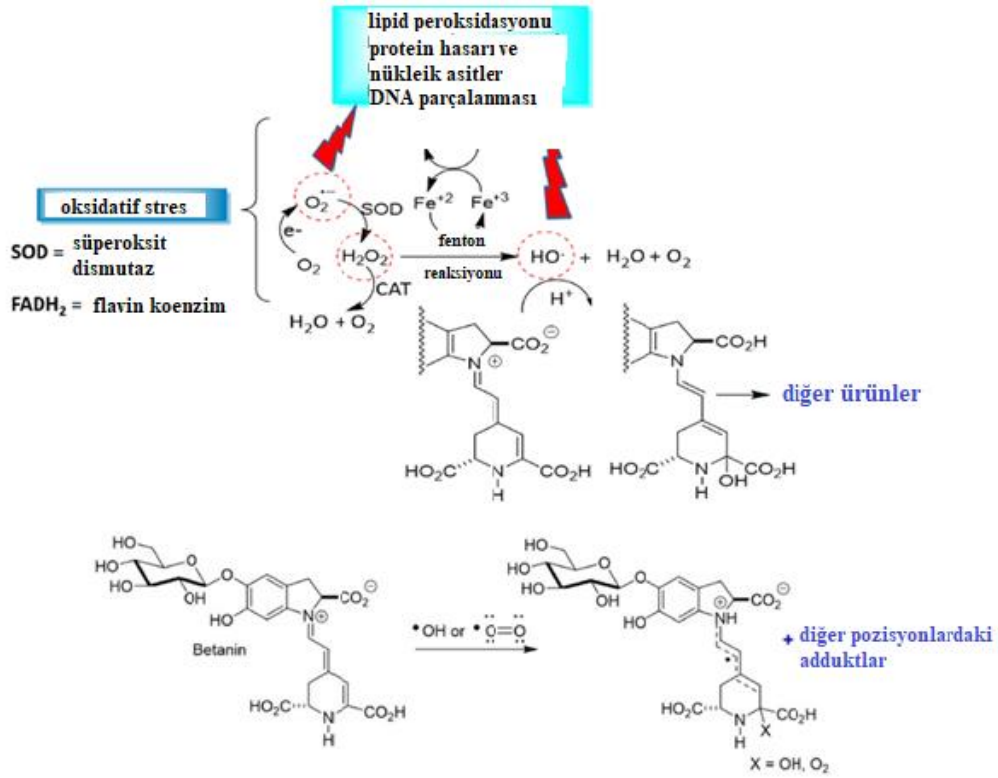
albino ratlarda herhangi bir toksisite belirtisi göstermediği bildirilmiştir (Samyuktha ve diğerleri, 2017).

Betalainler, vakuol içinde bulunan pigmentler olup, betalamik asit temel yapı taşlarından biridir. Betalain biyosentezi, tirosinin hidroksilasyonu ile başlar ve betalamik asidin oluşumunu sağlar ve bu asit siklizasyona uğrar ve imino asitler veya amino türevleriyle birleşerek betaksantin veya betasiyanin pigmentlerini oluşturur. Bu iki ana pigment farklı alt sınıflara ayrılır. Betasiyaninlerin başlıca türleri betanin, izobetanin ve neobetanin iken, betaksantinler vulgaksantin I, vulgaksantin II ve indikaksantin olarak bilinir (Nirmal ve diğerleri, 2024).

Betalainler suda çözünen ve çekirdek yapısında azot içeren betalamik asit [4-(2-oksoetilliden)-1,2,3,4-tetrahidropiridin-2,6-dikarboksilik asit] ten oluşur (Khan ve Giridhar, 2015). Kırmızı pancar kök gövdesi bitkinin diğer kısımlarından daha fazla miktarda betalain içeren ana kısmı olup karboksilik asidin varlığı, bu önemli biyoaktif molekülün asidik yapısından sorumludur ve bu nedenle alkaloidlere dahil edilmemiştir (Delgado-Vargas ve diğerleri, 2000).

Betalainler güçlü antioksidan, antikanserojenik, hepatoprotektif, antibakteriyel ve antiinflamatuvar aktivitelerin yanı sıra bağırsak ve immün düzenleyici etkilere sahip oldukları için önemli hale gelmiş olup hücreleri peroksidasyona ve DNA hasarına karşı da korumaktadırlar (Fu ve diğerleri, 2020).

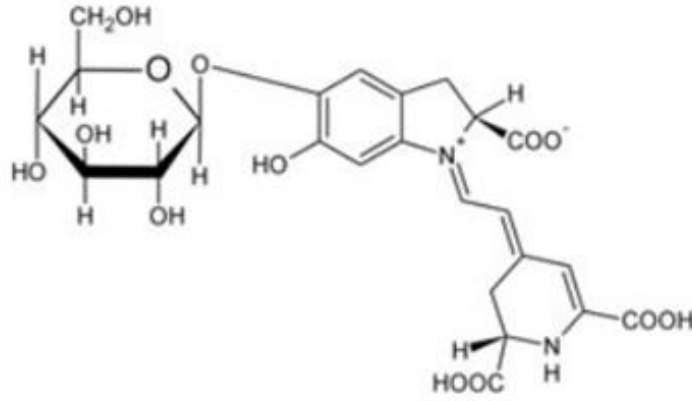
Betanin, betalainler grubunda öne çıkan bir fitokimyasal olup, kırmızımsı-mor renginden dolayı pancarın karakteristik rengine katkıda bulunan, suda çözünen ve azot içeren bir heterosiklik bileşiktir. Bunun yanında lipid zarlarının korunması ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) peroksidasyonunun önlenmesi gibi özelliklere sahip bir bioaktif bileşiktir. Ayrıca ROT üretimini baskılama potansiyeline sahiptir (Şekil 11). Betanin, kırmızı pancarda bulunan betalainlerin yaklaşık %75-95'ini oluşturarak, kuru madde başına 3,0 ila 7,6 mg arasında değişen miktarlarda bulunur. Tarımsal uygulamalar ve hasat sonrası koşullar, pancardaki betanin miktarını etkileyebilse de, bu pigment, diğer betalainler olan izobetanin (kuru madde başına 1,2-3,1 mg), betanidin (kuru madde başına 0,8-1,0 mg) ve betaksantin (kuru madde başına 2,71-4,25 mg) ile kıyaslandığında en baskın pigmenttir (Silva ve diğerleri, 2021).



Şekil 11. Betaninin antiradikal etki mekanizması. Betanin, serbest radikal temizleyici olarak işlev görerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Bu molekül, hidrojen veya elektron bağışlama, peroksit parçalanması ve tekli oksijen giderme gibi işlevlere sahiptir. Mitokondrilerden sızan oksijen, süperoksit anyonu oluşturur. SOD enzimi, bu molekülü H₂O₂'e dönüştürür. Hem süperoksit hem de H₂O₂, hücresel bileşenlerde hasara yol açabilir. H₂O₂, demir-kükürt içeren metalloproteinlerle (örn. ferredoksinler, NADH dehidrojenaz, hidrojenazlar, koenzim Q) reaksiyona girerek serbest radikal oluşumuna neden olabilir ve sitozolik Fe⁺² seviyelerini artırır. Bu Fe⁺², H₂O₂ ile fenton reaksiyonu yaparak hidroksil radikalleri (OH•) üretir. Hidroksil radikalleri, proteinler, DNA ve lipitler gibi hücresel bileşenlere ciddi zarar verir. Aynı zamanda Fe⁺³ flavoproteinler (FADH₂) tarafından Fe⁺² formuna indirgenir ve bu süreçte okside flavin radikalleri (FADH) ile birlikte daha fazla hidroksil radikali oluşur. Betanin, OH• ve O₂⁻ gibi radikallerle reaksiyona girerek çeşitli yapılar oluşturabilir ve bu şekilde reaktif oksijen türlerinin neden olduğu oksidatif hasarı engeller (Silva ve diğerleri, 2021).

Betanin molekülü, fenolik ve siklik amin grupları içerir, bu gruplar betanine üstün serbest radikal temizleme yeteneği kazandıran güçlü elektron verici özellikler sağlar. Bu sayede betanin hücreler içinde kolayca dağılabilir. Aynı zamanda, *in vitro* lipid peroksidasyonunu çok düşük konsantrasyonlarda bile etkili bir şekilde engelleyebilir. Oksidatif stres ve ROT, kalp yapısında ve işlevinde değişikliklere neden olan önemli faktörler olup bu konuda yapılan bir

çalışmada betaninin, fruktozla beslenen sıçanların kalp fibrozisinde kolajen birikimini ve çapraz bağlanmayı azaltarak, diyabetik kardiyomiyopatiye karşı koruyucu bir etki gösterdiği bildirilmiştir (Han ve diğerleri, 2015). Betaninin kimyasal yapısı Şekil 12’de belirtilmiştir.



Şekil 12. Betaninin kimyasal yapısı (Zielińska-Przyjemska ve diğerleri, 2012).

2.11.3. Betaninin Farmakokinetik Özellikleri

Betanin, pH değeri 2'nin altında veya 9'un üzerinde olduğunda değişime uğrayabilir, ancak pH 3 ile 7 arasında genellikle kararlı kalır (Silva ve diğerleri, 2021). Moleküler oksijen ile reaksiyona girebilir ve pigment bozulması oksijen düzeyine bağlıdır. Bu nedenle betanin çözeltileri, düşük oksijen seviyesine sahip bir ortamda depolandıklarında daha az renk değişikliği yaşarlar, bunun sebebi düşük oksijen seviyesinin renk değişikliğinden sonra eklenecek pigmenti arttırmasıdır (Herbach ve diğerleri, 2006, Ngamwonglumlert ve diğerleri, 2017). Betalainlerin kararlılığını etkileyen faktörler Tablo 4’te gösterilmiştir.

Tablo 4. Betalain stabilitesini etkileyen faktörler (Herbach ve diğerleri, 2006).

Betalain stabilitesini artıran faktörler	Betalain stabilitesini azaltan faktörler
Yüksek pigment konsantrasyonu	Düşük pigment konsantrasyonu
Düşük su aktivitesi	Yüksek su aktivitesi
pH değeri 3-7	pH değeri <3 veya pH değeri >7
Antioksidanlar	Metal katyonları
Şelat ajanları	Yüksek sıcaklık
Düşük sıcaklık	Işık
Karanlık	Oksijen
Nitrojen	H ₂ O ₂
	Bazı enzimler (<i>peroksidaz, polifenol oksidaz, glikosidazlar</i>)

Hafif alkali ortamlar betanin stabilitesini olumsuz yönde etkileyerek betalamik asit ve siklodopa-5-O-glukozid'e parçalanmalarına neden olmaktadır. Betanin parçalanması sadece hafif alkali ortamlarda değil sıcaklık etkisi ile asidik ortamlarda da gerçekleşebilmektedir. Oksidasyon sebebi ile oluşan siklodopa-5-O-glukozid bileşikleri enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonlarına katılarak melanoidinlere dönüşebilmektedir (Özcan ve Ersus Bilek, 2018).

Sıcaklık, betalainlerin renk kaybına uğramasına neden olan en önemli unsurdur. Sıcaklığın artması ile betalainlerin bozunma miktarı artmaktadır. Sıcaklık uygulamalarının olduğu işlemler süresince izomerizasyon, dekarboksilasyon veya moleküllerin ayrışması sonucu betalain kararlılığı olumsuz etkilenmektedir (Azeredo, 2009). Özellikle 50°C üzerindeki işlem sıcaklıklarında betalain miktarında önemli düşüşler görülmektedir. Yapılan bir çalışmaya göre kırmızı pancarın 60, 120 ve 180 saniye kaynatılması, betasiyaninlerin miktarını sırasıyla %6, %22 ve %51, betaksantinlerin miktarını sırasıyla %18, %23 ve %33 oranında azaltmıştır. Başka bir çalışmada, kırmızı pancar köklerinin 60 dakika kaynatılmasının betalain içeriğini %51 oranında azalttığı gözlemlenmiştir (Sadowska-Bartosz ve Bartosz, 2021).

Betanin, dondurulmuş ve soğutulmuş gıdalarda yüksek stabilite sergileyerek, bu ürünlerin raf ömrü boyunca biyolojik aktivitesini korur ve lipid peroksidasyonunu engelleyebilir. Ağız

yoluyla alındığında, betaninin yaklaşık %50'si mide asidinden etkilenmeden geçerken, bağırsak sindirimi sonrasında da stabil kalır (Silva ve diğerleri, 2021).

Bir aktif bileşiğin biyolojik bir sistemde ne ölçüde emildiği veya fizyolojik etki alanında ne kadar erişilebilir hale geldiği bilinmelidir. Bu bağlamda, *B. vulgaris*'in başlıca biyoaktif bileşenleri olan betalainler ve inorganik nitratin biyoyararlanımı oldukça önem taşımaktadır. Örneğin insanların pişmiş pancar tüketilmesi, inorganik nitratin biyoyararlanımının yaklaşık %100 (106 ± 15) olduğunu göstermiştir. Başka bir çalışmada, 362,7 mg betalain içeren kırmızı pancar suyunun tek bir oral dozu 6 sağlıklı gönüllüye verilmiş ve idrar analizi spektrofotometre ile değerlendirildiğinde betanin ve izobetanin, 24 saat sonra alınan dozun %0,28'lik konsantrasyonlarında tespit edilmiştir (Frank ve diğerleri, 2005; Van Velzen ve diğerleri, 2008).

Yapılan araştırmalara göre, pancarda bulunan başlıca polifenoller arasında ferulik asit, klorojenik asit, kafeik asit gibi fenolik asitler ve epikateşin, rutin, betagarin gibi flavonoidler yer alır; bu bileşiklerin çoğu yüksek antioksidan potansiyeline sahiptir. Ayrıca, pancardaki polifenoller insanlarda iyi bir şekilde emilmekte olup ev yapımı pancar suyundan alınan toplam fenoliklerin %51'inin (yaklaşık 338 mg) katılımcıların idrarında tespit edildiği yapılan bir başka çalışmada bildirmiştir. Bu, pancardaki birçok polifenolün emilerek vücutta dolaşıma geçtiğini ve fizyolojik etkiler yarattığını göstermektedir (Clifford ve diğerleri, 2016).

Betalainlerin emilim, metabolizma ve atılım mekanizmaları henüz tam olarak aydınlatılmamış olup, yapılan bir çalışmada insan plazmasındaki maksimum betanin konsantrasyonuna betalain açısından zengin *opuntia sp.* tüketiminden yaklaşık 3 saat sonra ulaşılabildiği ve plazma betanin konsantrasyonu yaklaşık 0,2 $\mu\text{mol/L}$ olduğu bildirilmiştir (Esatbeyoglu ve diğerleri, 2015).

Pancar suyu ve bütün pancar tüketildikten sonra betanin ve NO'nun insanlarda plazma biyoyararlanımının değerlendirildiği bir çalışmada, 1-3-5 ve 8 saat sonra plazma örnekleri alınarak yapılan analizde pancar suyu (250 ml-194 mg betanin) ve bütün pancar (300 g-66 mg betanin) verilen grupta plazmada betanine rastlanmadığı, NO'un pancar suyu tüketilen grupta 8 saat boyunca ve bütün pancar tüketilen grupta 5 saat boyunca bazal seviyenin üzerinde yükseldiği ve betaninin plazma biyoyararlanımının zayıf olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Buna sebep olarak betaninin büyük ölçüde ikincil bileşiklere metabolize olabileceğini ve bunun da plazmada tespit edilememesinin potansiyel bir açıklaması olabileceği bildirilmiştir. Pancar suyu ve bütün pancarın diğer meyve ve sebzelerle karşılaştırıldığında oldukça yüksek

antioksidan kapasitesine sahip olduğu da yapılan çalışma sonucu belirtilmiştir (Clifford ve diğerkleri, 2016).

İnsanlarda betalainlerin tüketiimi sonrası plazmadaki en yüksek seviyesine üç saat içinde ulaştığı ve sekiz saat sonra plazmada tespit edilemediği belirlenmiştir. Farelerde betanin hızla atılmakta, plazmada yarı ömrü 32 dakika iken idrarda üç dakika içinde renk değişimine sebep olmaktadır. Mide duvarı, ince bağırsak ve kolon, betaninin sırasıyla %75, %35 ve %60'ını metabolize etmektedir. Genel olarak betalainlerin biyoyararlanımı düşük olup, böbrek yoluyla atılımı sınırlıdır ve esas olarak gastrointestinal hücrelerde metabolize edilip parçalanmaktadır. Ayrıca, betaninlerin bağırsak epitel hücreleri tarafından parasellular bağlantılar aracılığıyla emilerek kan dolaşımına geçtiği ve kırmızı kan hücreleri ile lipoproteinlere entegre olduğu bildirilmiştir (Lechner ve Stoner, 2019).

2.11.4. Betaninin Antiinflatuvar Etkisi

Proinflatuvar sitokinler ve diğerk inflamatuvar mediyatörler, hastalıklar sırasında hücre hasarının yayılmasına ve dokuların işlevsel bozulmasına büyük katkı sağlar. Betalainler ve türevlerinin, IL-1β, IL-6, IL-18 ve TNF-α gibi inflamasyonu artıran proinflatuvar sitokinlerin seviyelerini düşürerek çoklu organları koruma özelliği gösterdiği belirtilmiştir (Nirmal ve diğerkleri, 2024).

Yapılan bir çalışmada alkol çöktürme yöntemiyle muamele edilen betalain, karragenan kaynaklı pençe ödemini, lökosit göçünü, vasküler geçirgenliği ve süperoksit anyon üretimini azaltmıştır. Ayrıca TNF-α ve IL-1β üretimini azaltmış ve antiinflatuvar sitokin IL-10 seviyelerini artırmıştır. Genel olarak, bu sonuçlar betalainin antiinflatuvar ve antioksidan özelliklere sahip olduğunu göstermektedir (Martinez ve diğerkleri, 2014).

Parenteral betanin ön tedavisinin jejunal ve pulmoner doku histolojik yapısı ve jejunal iskemi-reperfüzyon hasarından sonraki inflamatuvar yanıt üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, iskemiden 30 dk önce 50 mg/kg betanin intraperitoneal olarak verilmiş ve sonuçta betaninin intestinal iskemi-reperfüzyon hasarından sonra jejunal ve akciğer dokusu histolojik lezyonları üzerinde yararlı bir etkiye sahip olduğu ve yangıyı azaltma yeteneğininin olduğu görölmüştür. Betaninin bu etkileri inflamatuvar hücrelerin aktivitesini baskılayarak ve inflamatuvar medyatörlerin seviyelerini düşürerek yaptığı düşünölmektedir (Toth ve diğerkleri, 2019).

Nötrofillerin dokulara geçişi, doku hasarı ve mikrobiyal enfeksiyona önemli bir yanıt olduğundan, konak savunması için kritik bir rol oynar. Ancak, aşırı nötrofil birikimi ve aktivasyonu doku hasarını artırabileceğinden, aşırı inflamasyon zararlı etkilere yol açar ve bu durum antiinflamatuvar tedavilere olan ihtiyacı doğurur. MPO enzimi, nötrofillerin birincil granüllerinde depolanır ve enfeksiyon veya yaralanma sırasında hücresele aktivasyonla fagosomlara salınır. Betalainlerin insanlarda MPO aktivitesini de azalttığı bildirilmiş ve lökosit birikimini baskılama potansiyeline sahip olduğu ifade edilmiştir. Betalain yalnızca nötrofillerin birikimini değil, aynı zamanda aktivitelerini de azaltmaktadır (Martinez ve diğerleri, 2014).

Yapılan çalışmalar ile pancar tüketiminin, vasküler hücre proliferasyonu ve anjiyogenez için yararlı olabileceği ve aynı zamanda metabolik stres ve inflamasyonu azaltmaya yardımcı olduğunu ayrıca spor performansını, glisemik kontrolü ve kan basıncını iyileştirebildiği gözlemlenmiştir (Kaynak ve diğerleri, 2024; Micheletti Lorizola ve diğerleri, 2021).

Yapılan çalışmalar betaninin inflamatuvar yanıtı hafiflettiğini gösterse de, farmakolojik etkilerini uyguladığı moleküler mekanizmaların hala açıklığa kavuşturulması gerekmektedir. Betanin etkilerinin nükleer faktör transkripsiyon faktörü kappa beta (NF-κB) aracılığıyla gerçekleştiği varsayıldığı ve bu faktörün proinflamatuvar kemokin ve sitokinleri kodlayan birkaç genin ortak bir modölatörü olduğu bildirilmiştir (Silva ve diğerleri, 2021).

Yapılan bir çalışmada etanol tüketiminin pürinlerin parçalanmasına yol açtığı ve bunun sonucunda oksidatif strese aracılık ettiği bilinen ROT'un aşırı üretimine neden olduğu gösterilmiştir. Bu oksidatif stres nötrofillerin gastrik dokunun hasarlı bölgesine göçünü tetikleyip burada nötrofillerin toplanması ve proteazlar ile lökotrienler gibi doku yıkıcı maddelerin salınması nedeniyle lezyon ve inflamasyon oluşmasına yol açmaktadır. Buna karşın betaninin 5-lipooksijenaz, hyaluronidaz ve MPO aktivitelerinde azalmaya yol açtığı ve yangıyı azalttığı bildirilmiştir (Alghamdi, 2023).

2.11.5. Betaninin Antioksidan Etkisi

Oksidasyon yapabilen moleküller genellikle ROT ile RNT olarak bilinir ve hücresele metabolizmada sürekli olarak üretilirler. Bu düşük konsantrasyonlardaki ROT/RNT, gen ekspresyonu, hücre proliferasyonu, apoptoz ve kas kasılması dahil olmak üzere çok çeşitli hücresele ve biyokimyasal süreçlerde önemli bir rol oynar. Bununla birlikte, bir hücrenin eksojen

olarak üretilen ROT/RNT'ye (ksenobiyotikler vb.) veya endojen olarak sentezlenmiş ROT/RNT'ye (yangı vb.) aşırı maruz kalması, hücrelerin antioksidan savunmasını bastırabilir ve redoks homeostazında bir dengesizliğe neden olarak oksidatif strese yol açar (Kohen ve Nyska, 2002).

Farklı çalışmalar, insan organizmasında bulunan serbest radikallerin lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi çeşitli moleküllerde oksidatif hasara neden olduğunu ve dolayısıyla dejeneratif hastalıkların başlangıç fazında yer aldığını göstermiştir. Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik ve diğer fitokimyasal antioksidanlar, serbest radikalleri nötralize etme yeteneğine sahiptir ve bazı hastalıkların önlenmesinde önemli bir rol oynayabilir (Čanadanović-Brunet ve diğerleri, 2011). Fenolik bileşikler, serbest radikallere bir hidrojen atomu ve/veya bir elektron vermesi ile oksidasyon zincir reaksiyonunun kırılmasına sebep olurlar ve bundan dolayı antioksidan olarak kabul edilirler (Albuquerque ve diğerleri, 2021).

Araştırmalar, betalainlerin tek başına ya da bir ekstraktın bileşeni olarak güçlü antiradikal ve antioksidan etkiler gösterdiğini ortaya koymuştur (Kaynak ve diğerleri, 2024). Betalainler serbest radikal süpürücülerdir ve biyolojik moleküllerin aktif oksijen kaynaklı ve serbest radikal aracılı oksidasyonunu önlerler (Pedreño ve Escibano, 2001). Betanin, fenolik ve siklik amin gruplarına sahip olması nedeniyle oldukça etkili ROT temizleyicisi olarak işlev görür ve bunun için iyi bir elektron vericisidir (Tural ve diğerleri, 2019).

Bununla birlikte, kanser gibi birçok hastalık durumunda oksidatif stres, uzun vadeli hücresel bozulmaya neden olan sürekli ve aşırı ROT/RNT üretimi ile sürdürülen kronik bir bozukluktur (Lobo ve diğerleri, 2010). ROT/RNT türleri üzerinde doğrudan etkili olma yeteneği ve antioksidan/sitoprotektif Nrf2-ARE yolunun indüksiyonu ile inflamatuvar NF-κB yolunun baskılanması, betaninin antioksidan etkisiyle ilişkilidir (Silva ve diğerleri, 2021).

İndikaksantin ve betanin gibi çeşitli biyoaktif bileşikler, güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri nedeniyle çeşitli biyolojik aktivitelere katkıda bulunabilir (El-Mostafa ve diğerleri, 2014). Literatür araştırmasına göre betanin, Nrf2 savunma mekanizmasını uyaran protein kinazın aktivasyonu yoluyla endojen antioksidanları uyarır (Ahmadian vd. 2019). Nrf2, özellikle oksidatif tehlikelerle mücadele eden ve antioksidan özelliği gösteren GSH olmak üzere diğer endojen antioksidanları uyarır (Al-aboud, 2018).

Betanin, heme oksijenaz-1 (HO-1), nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) kinon redüktaz (NQO-1), glutamat-sistein ligazının katalitik alt birimi (GCLC), glutatyon peroksidaz 1 (GPX-1) ve glutatyon S-transferaz π-1 (GSTP-1) genlerinin ekspresyonunu

artırarak, H₂O₂'nin tetiklediği ROT'u en etkili şekilde baskılar. Betalainlerin hücre içindeki ROT seviyelerini modüle etmesi, muhtemelen inflamasyon sinyal faktörlerinin zayıflatılması ve Nrf2 sinyal yolunun aktive edilmesiyle ilişkilidir. Bu süreç, hücrel redoks düzenlemesinde yer alan proteinlerin ve enzimlerin, özellikle HO-1 ve NQO-1 sentezi ve gen ekspresyonunu teşvik eder (Nirmal ve diğerleri, 2024).

Sebze sularında antioksidan kapasitesini artıran ve bu nedenle sağlık için yararlı olan antioksidan bileşikler ve doğal malzemelerin bir karışımı bulunur. Kardiyovasküler hastalıklara, nörolojik bozukluklara ve kansere karşı gelmede, meyve ve sebzelerdeki biyoaktif bileşikler önemli bir rol oynar. Pancar, antioksidan içeren ilk on sebze arasındadır. Pancardaki betalainler biyolojik sistemdeki oksijen radikalının indüksiyonunu ve moleküllerin oksidasyonunu durdurur (Kathiravan ve diğerleri, 2014).

Birçok araştırma, pancarın fenolik bileşiklerine bağlı olarak güçlü antioksidan özellikler sergilediğini göstermektedir. Folin-Ciocalteu ve alüminyum klorür kolorimetrik yöntemleri ile yapılan analizler, bitkideki toplam fenolik içeriğin 660,5 mg/g, toplam flavonoid içeriğin ise 29,04 mg/g olduğunu ortaya koymuştur. Başka bir *in vitro* çalışmada, *B. vulgaris*'in etanolik özütü DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikal temizleme yöntemi kullanılarak antioksidan kapasitesi açısından değerlendirilmiş ve elde edilen sonuçlar, referans standart olarak kullanılan askorbik asitle kıyaslanmıştır. Bulgular, en yüksek antioksidan kapasitenin (%90,9) 500 ve 1000 µg/ml konsantrasyonlarında olduğunu göstermektedir (Nikan ve Manayi, 2019).

Betanin betaksantinlere kıyasla serbest radikalleri daha etkili bir şekilde yakalama kapasitesine sahiptir. DPPH analiziyle yapılan bir çalışmada, betasiyaninlerin radikal yakalama aktivitesinin askorbik asit, kateşin ve rutin gibi maddelere göre yaklaşık 3-4 kat daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Trolox Eşdeğer Antioksidan Kapasitesi (TEAC) testiyle yapılan ölçümlerde ise, betaninin pH >4 koşullarında bazı antosiyaninlerden, örneğin siyanidin-3-O-glukozidden yaklaşık 2 kat daha güçlü bir radikal yakalama etkisi gösterdiği bulunmuştur. Ayrıca, betaninin radikal yakalama özellikleri, elektron spin rezonansı spektroskopisi ve spin tuzağı yöntemiyle de incelendiğinde DPPH, galvinoksil, süperoksit ve hidroksil radikal avcısı olarak işlev gördüğü ortaya koyulmuştur (Esatbeyoglu ve diğerleri, 2015).

Betaninin reaktif oksijen veya azot türlerini uzaklaştırma yeteneği, antioksidan gücünün fenol kısmındaki hidroksil grubu ve/veya halkalı amin grubuna dayanır. Bu gruplar, fenolik antioksidan olan etoksiquin gibi iyi hidrojen vericiler olup indirgeme özellikleri kazandırır. Farklı pH seviyelerinde betaninin bu grupları aracılığıyla sergilediği antioksidan etki, pH

koşullarına bağlı olarak yapısal değişiklikler gösterir ve betaninin serbest radikalleri etkili bir şekilde temizlemesini sağlar. Betaninin yüksek antioksidan aktivitesi, H⁺ ve elektron verme kapasitesinin artmasına ve OH bağlarının ayrışması ile iyonizasyon potansiyeli için daha az enerji gerektirmesine bağlı olup gastrointestinal sistemde pH seviyesinin artmasıyla betaninin proton kaybederek katyonik formdan mono, bis veya tri deprotonlu formlara geçişi ile gerçekleşir (Silva ve diğerleri, 2021).

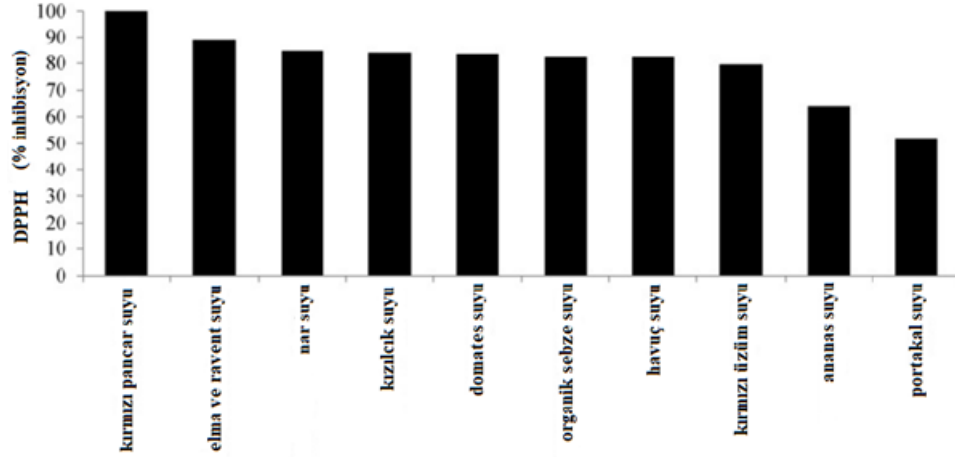
Pancar, yüksek oranda biyoaktif fenolikler içerir ve bu antioksidanlar, serbest radikallerle savaşılarak hücre hasarına sebep olan oksidatif stresi azaltabilirler. Fenolik asitlerin radikal yakalama kapasitesi için öneme sahip olduğu, antioksidan aktiviteyi düşürdüğü kansere karşı koruyucu etkisinin olduğu bazı alerjilere karşı koruma sağladığı ve Alzheimer hastalığını yavaşlattığı da ifade edilmektedir (Kaynak ve diğerleri, 2024).

Yapılan bir çalışmaya göre 27 yaygın sebzenin hücresel antioksidan aktivitesi ölçüldüğünde pancar, brokoli, havuç ve kırmızı biberin en yüksek hücresel antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Song ve diğerleri, 2010). Kırmızı pancardan elde edilen pancar suyunun domates, havuç, portakal, nar, ananas gibi bilinen 23 sebze ve meyve sularından çok daha güçlü antioksidan kapasiteye ve polifenole sahip olduğu ortaya konulmuştur (Wootton-Beard ve diğerleri, 2011).

Sıçanlarda periferik arter vazospazm modelinde betaninin oksidatif strese karşı koruyucu etkisinin araştırıldığı bir çalışmada ratlara 7 gün boyunca 100 mg/kg betanin oral yolla verilmiştir. Oksihemoglobulin, iskemi, travma gibi durumlar sırasında üretilen ROT'un yol açtığı lipid peroksidasyonunun, vazospazmın başlangıcı ve ilerlemesinde önemli bir rol oynadığı düşünülmekte ve deney sonucu femoral arter vazospazm grubunda hem MDA hem de NO seviyelerini kontrol grubuna göre anlamlı şekilde artmıştır. Betanin uygulaması üzerine hem MDA hem de NO düzeyinin kontrol grubu düzeyine yaklaşmış ve femoral arterin duvar çapında artış ve duvar kalınlığında azalmaya yol açmış ve betaninin oksidatif strese karşı koruyucu etkisi olduğu bildirilmiştir (Tural ve diğerleri, 2019).

Ticari olarak temin edilebilen iki pancar suyunun DPPH ve ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)) testlerinde *in vitro* radikal oluşumu sırasıyla %100 ve %92 inhibe ettiği bildirilmiştir. İnsan sindirim sürecini simüle etmek için tasarlanmış koşullarda, meyve suları sindirim öncesi radikal temizleme kapasitelerinin hala $\geq$ %55'ini koruduğu ayrıca, ferrik indirgeyici antioksidan gücü (FRAP) ile ölçülen her iki içeceğin antioksidan kapasitesi,

araştırılan diğer 22 sebze suyu içeceğinden daha yüksek olduğu görülmüştür (Şekil 13) (Clifford ve diğerleri, 2015).



Şekil 13. 10 popüler meyve ve sebze içeceğinin 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) inhibe etme kapasitesinin (%) karşılaştırması (Clifford ve diğerleri, 2015).

Betalain pigmentlerinin hücresel bileşenleri oksidatif hasardan koruduğu birkaç *in vitro* çalışma ile gösterilmiştir. İki betalain metabolitinin (betanin ve betanidin) sitokrom C oksidazın neden olduğu linoleat hasarını ve H₂O₂ ile aktive edilmiş metmiyogloblin ve serbest demir tarafından indüklenen lipid membran oksidasyonunu azalttığı gözlemlenmiştir. Ayrıca pancarda bulunan en bol betalain olan betaninin (300-600 mg/kg) lipid peroksidasyonunun en etkili inhibitörü olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmalara göre betaninin yüksek antioksidan aktivitesi, olağanüstü elektron verme kapasitesinden ve hücre zarlarını hedef alan yüksek derecede reaktif radikalleri etkisiz hale getirme kabiliyetinden kaynaklandığı ifade edilmiştir (Kanner ve diğerleri, 2001; Singh ve diğerleri, 2019).

Betaninin sıçanlarda asetaminofen (parasetamol) ve diklofenak kaynaklı hepatorenal hasara karşı etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, ratlara 28 gün boyunca parasetamol veya diklofenak gruplarına ek olarak 25 mg/kg dozlarında betanin verilmiştir. Parasetamol ve diklofenak uygulaması ile karaciğer ve böbrek hasarı oluşmuş, serum lipid profili bozulması ve DNA hasarı gelişmiş ancak betanin verilen gruplarda bu biyokimyasal değişikliklerin çoğunun iyileştiği ve DNA'nın hasar görmesini önlediği bildirilmiştir. Ayrıca, betanin MDA'yı azaltıp GSH seviyelerini artırıp endojen antioksidanların (CAT ve SOD) aktivitelerini artırmıştır (Motawi ve diğerleri, 2020).

B. vulgaris, fenolik ve flavonoid bileşenler açısından en zengin kaynaklardan biri olup kırmızı pancarın kabuk kısmı %50 fenolik bileşik içerirken etli kısmı ise %13 oranında fenolik bileşik içermektedir. Antioksidan kapasite, aromatik halkaya bağlı bir hidroksil grubu taşıyan ve hidrojen atomları bağışlama ve serbest radikalleri nötralize etme yeteneğine sahip fenolik bileşiklerin varlığıyla ilişkili olup yapılan çalışma sonucuna göre pancar kabuğu özütünün toplam fenolik içeriğinin $360,47 \pm 0,91$ mg/100 g olduğu ve toplam fenolik içerik ile antioksidan aktiviteleri arasında güçlü bir korelasyon bulunduğu gözlemlenmiştir (Maqbool ve diğerleri, 2021).

2.11.6. Betaninin Diğer Etkileri

Kırmızı pancar özütünün antikanser özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada, 78 µg/ml E162 özüt içeren suyun oral yolla verilmesi, sıçanlarda N-nitrozometilbenzilamin kaynaklı yemek borusu tümörlerine karşı inhibitör etki göstermiştir. 35 haftalık bir süre boyunca içme suyunda E162 tüketilmesinin herhangi bir belirgin toksisiteye neden olmadığı ve güçlü antioksidan aktiviteye sahip betaninler içerdiğinden dolayı ROT kaynaklı olan hücre proliferasyonunu, sinyal iletiminin inhibisyonu yoluyla gerçekleştirdiği varsayılmıştır. Ayrıca E162'deki betanininlerin lenfositlerin tümör lezyonlarına akışını azaltarak lenfosit infiltrasyonunu antagonize ettiğini ve inflamasyon seviyesini azalttığı da bildirilmiştir (Lechner ve diğerleri, 2010).

Bir antikanser ilacı (doksorubisin) ve kırmızı pancar özütünün karışımı ile tedavi yapıldığında meme ve prostat kanseri hücre hatlarında sinerjistik bir antiproliferatif etki görülmüştür (Kapadia ve diğerleri, 2013).

Betaninin abdominal aort anevrizmasındaki etkileri konulu bir çalışmada ratlara 14 gün boyunca 100 mg/kg betanin intragastrik olarak verilmiş olup betanin tedavisi sonucunda aort duvarındaki ROT üretiminin azaldığı ve bu azalmanın 3. günden sonra başladığı, inflamatuvar sitokinlerin (IL-1 β , IL-6, TNF- α) ekspresyonunu önemli ölçüde azalttığı ve oksidatif stres durumunu değerlendirmek için ölçülen serum 8-isoprostane düzeylerinde azalma gerçekleştiği bildirilmiştir. Betanin bu etkileri, inflamatuvar hücre infiltrasyonunu azaltarak, betaninin antinflamatuvar etkisinin temel mekanizmalarından biri olan TLR4/NF- κ B sinyal yolunun inhibisyonu (inflamatuvar yanıtların ve matriks metalloproteinazların (MMP) ekspresyonunu

azaltarak) ile ve Nrf2/HO-1 yollarını aktive ederek (hücrelerin antioksidan enzimleri üretimini teşvik ederek) gerçekleştirdiği düşünülmektedir (Qiu ve diğerleri, 2021).

Yapılan bir çalışmada pancar kökü posasının etanol, aseton ve su ekstraktlarının *in vitro* antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri değerlendirilmiştir. Antioksidan aktivite için, indirgeme gücü ve DPPH süpürme aktivitesi spektrometrik yöntemle ayrıca hidroksil ve süperoksit anyon radikal süpürme aktivitesi (elektron spin rezonans) ESR spektroskopisi ile ölçülmüştür. Antibakteriyel etkinliğinin değerlendirilmesi için agar disk difüzyon yöntemi kullanılmış olup sonuçta kırmızı pancar posasından elde edilen betalain pigmentlerinin süperoksit anyon radikallerinin %75 ini uzaklaştırdığı ve antibakteriyel testlerde *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus cereus*'un, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*'dan daha yüksek duyarlılık gösterdiği tespit edilmiştir (Čanadanović-Brunet ve diğerleri, 2011).

Kırmızı pancar suyunun tüketilmesi, koroner kalp hastalıklarını ve kan basıncını düşürmek ile yangıyı azaltmak amacıyla sporcular tarafından ilgi çekmektedir. Bu konuda yapılan bir çalışmada egzersiz öncesinde tüketilen ve 6-10 mmol nitrata denk gelen 146-244 ml kırmızı pancar suyunun, doza bağlı olarak koşu süresini uzattığı, sistolik ve diyastolik kan basıncını düşürdüğü, araştırma boyunca ortalama kalp atım hızını etkilediği, egzersiz sırasında maksimum kalp atım hızını artırdığı, minimum kalp atım hızını düşürdüğü, algılanan yorgunluğu azalttığı gözlemlenmiştir (Eroğlu, 2020).

Yapılan bir çalışmada, pancar suyunun şekerle eşleştirilmiş kontrol içeceğine kıyasla tüketilmesi, kan glikoz seviyelerini 15, 30, 90 ve 180 dakikadan sonra önemli ölçüde düşürdüğü belirtilmiştir. Ayrıca başka bir çalışmada neobetanın açısından zengin pancar suyu tüketiminin gıda alımı sonrası glikoz ve insülin seviyelerinde orta düzeyde bir azalma olduğu ve tip 2 diyabet riskini düşürme açısından faydalı olabileceği bildirilmiştir (Chang ve diğerleri, 2018).

Yüksek fruktoz alımıyla oluşturulmuş deneysel diyabet modelinde 25 mg/kg ve 100 mg/kg dozlarında betaninin 60 gün süreyle uygulandığı bir çalışmada, hayvanlarda hiperglisemi, hiperinsülinemi, İnsülin Direnci İçin Homeostaz Model Değerlendirmesi (HOMA-IR) ve glikasyon ürünlerini tersine çevirmiştir (Han ve diğerleri, 2015).

Fitokimyasallar, ROT'un temizlenmesi, reaktif karbonil türlerinin yakalanması ve metal iyonlarının şelasyonu dahil çok sayıda biyofonksiyonel aktiviteye sahiptir (Cheng ve diğerleri, 2016). Kırmızı pancar fitokimyasalları, hem iç hem dış apoptotik yolları tetikleyerek meme, karaciğer, kolon ve mesane kanseri hücre dizilerinde anti-proliferatif etkiler sağlarlar. Ayrıca

betaninin kanser hücre hatlarına karşı *in vitro* ortamda anti-proliferatif özellikler gösterdiği gözlemlenmiştir (Kaynak ve diğerleri, 2024). Betaninler yangılı lezyonlara infiltrasyon yapan nötrofil sayısını bilinmeyen bir mekanizma ile azaltmakta ve tümörlerde yeni kan damarlarının oluşumunu (anjiyogenez) engellemektedir (Lechner ve Stoner, 2019).

Yapılan bir çalışmada 4 hafta boyunca 10 mg/kg klorpirifos maruziyeti sonrasında, böbrek fonksiyon belirteçleri olan kan kreatinin ve üre seviyelerinde anlamlı artış gözlemlendiği ve klorpirifosun erkek sıçanlarda nefrotoksisiteye neden olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, klorpirifos böbrek indeksinde de artışa yol açmıştır. Klorpirifos uygulamasından 1 saat önce kırmızı pancar özütü ile yapılan ön tedavide, yalnızca klorpirifos ile tedavi edilen sıçanlara kıyasla kreatinin, üre ve böbrek indeksindeki artışları azaltarak, böbrek hasarına karşı koruyucu bir etki sağladığı ortaya koyulmuştur (Albasher ve diğerleri, 2019).

Pancar özünün diyabetik sıçan modelinde etkisinin araştırıldığı çalışmada potansiyel bir antidiyabetik aktiviteye sahip olduğu, kan şekeri, serum lipid ve keton cisimcikleri ile idrar şekeri seviyelerini önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (Kumar ve diğerleri, 2016).

Akut kısıtlama stresi ve endişe ile ilgili bir araştırmada *B. vulgaris*'in etanolik özütünün, 100 mg/kg ve 200 mg/kg dozlarında erkek İsviçre albino fareleri deneyinde, yüksek artı labirent parametresinde akut kısıtlama stresi kaynaklı anksiyeteyi önemli ölçüde tersine çevirdiği, depresyon benzeri davranışları azalttığı, stres sonrası MDA seviyesinin artışını önlediği ve GSH seviyesinin düşmesini engellediği görülmüştür (Sulakhiya ve diğerleri, 2016).

Kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan sisplatinin böbrekler üzerindeki zararlı etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, sıçanlara 3 gün boyunca betanin (100 mg/kg) oral gavajından sonra sisplatin (10 mg/kg, tek doz) verilmiştir. Sonuçta betaninin mitokondriyal toksisiteyi önemli ölçüde engellediği, mitokondriyal dehidrogenaz enzim aktivitelerinde ve genel mitokondriyal fonksiyon göstergelerinde iyileşmeler yaptığı, lipid peroksidasyonunu azalttığı ve zengin mitokondri içeriğine sahip böbrek hücrelerinin hayatta kalmasına katkı sağladığı ve ilaç/ksenobiyotik kaynaklı toksisitelere karşı mitokondriyal koruyucu bir ajan olarak etki gösterdiği görülmüştür (Zununi Vahed ve diğerleri, 2019).

Koroner arter hastalığı olan hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada, betalain bakımından zengin besin özüleri ile yapılan takviyenin aterosklerotik risk faktörleri üzerindeki potansiyel etkileri incelenmiş olup, homosistein, glikoz, toplam kolesterol, trigliserit ve düşük yoğunluklu lipoprotein seviyelerini anlamlı derecede azalttığı görülmüştür. Ayrıca, betalain içeriği yüksek

takviyelerin hem sistolik hem de diyastolik kan basıncını düşürdüğü tespit edilmiştir (Kaynak ve diğerleri, 2024).

Kültüre edilmiş enterositlerde yapılan bir çalışmada, betaninin DNA hasarına karşı koruyucu bir etkisinin olduğu görülmüştür. İnsan HT-29 enterositlerinde H₂O₂ nedeniyle oluşan DNA hasarı (Comet-assay yöntemi ile) 15 µmol/L betanin ile önemli ölçüde engellenmiştir (Esatbeyoglu ve diğerleri, 2015).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kullanılan Cihazlar

Yapılan çalışmada cihaz olarak, spektrofotometre (Shimadzu, UV-1601), UV/VIS spektrofotometre (Thermo Scientific Multiskan Go), santrifüj cihazı (Nüve NF800R), buzdolabı (BOSCH / +4°C), -80°C soğutucu (Nuaire NU-9483E) sıcak su banyosu (Memmert WNB 10), distile su cihazı (Nüve NS112), vortex (Nüve, NM 110), homojenizatör (Yellow Line / OST Basic), pH metre (Denver Instrument-225), hassas terazi (Shimadzu, AX120), doku takip cihazı (Leica TP1020), mikrotom (Leica RM 2135), mikroskop (Olympus SC180), ışık mikroskobu (Olympus BX51), microplate okuyucu (DAR800TS) kullanıldı.

Çalışmada araç ve gereç olarak da farklı boyutlarda deney tüp (Isolab), farklı hacimlerde beher glas (Isolab), farklı hacimlerde balon joje (Isolab), mikrosantrifüj tüpleri (1,5-2 ml'lik, Isolab), farklı hacimlerde mikropipetler, cerrahi makas, pens, polietilen insulin enjektörü (Ayset), cerrahi eldiven, lam (İnterlab), lamel (İnterlab) ve ayrıca ratlara ilaç uygulaması amacıyla 16G kalınlığında oral gavaj (Harvard Apparatus) ve spektrofotometrik ölçümler için kuvartz küvet (Hellma QS) kullanıldı.

3.1.2. Kullanılan İlaçlar ve Kimyasallar

Çalışmanın deneysel aşamasında hayvanlara yapılan ilaç uygulamasında indometazin (Endol kapsül, Deva İlaç), lansoprazol (Lansor, Sanovel İlaç), ketamin (Alfamine), ksilazin (Xylazinbio) ve betanin (Chem-Impex) kullanıldı. Oksidan ve antioksidan parametrelerin analizinde kullanılan diğer kimyasallar Sigma-Aldrich ve Merck firmasından, enzimatik/inflamatuvar yanıt biyobelirteçlerinin analizinde kullanılan ELISA kitleri de ELK Biyoteknoloji'den alınarak kullanıldı (Tablo 5 ve 6). Patolojik analizler için monoklonal anti aktif kaspaz-3 (Proteintech, USA, Cat no: 66470), monoklonal anti bcl-2 (Proteintech, USA, Cat no: 60178) antikorları kullanıldı.

Tablo 5. Sıçan mide dokusunun oksidan ve antioksidan parametrelerinin analizinde kullanılan kimyasallar.

Kimyasal Adı	Analiz	Marka-Kod
EDTA	GSH	Sigma E-9884
DTNB	GSH	Sigma D-8130
Glutasyon	GSH	Merck 104090
Metafosforik asit	GSH	Merck 100546
Sodyum sitrat	GSH	Sigma S-4641
Hidrojen peroksit	CAT	Merck-108597
Sodyum fosfat dibazik dihidrat	CAT/GSH	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

SOD: Süperoksit Dismutaz, CAT: Katalaz, GSH: Glutasyon, MDA: Malondialdehid

Tablo 6. Sıçan plazmasında enzimatik/inflamatuvar yanıt biyobelirteçlerinin analizinde kullanılan ELISA kitleri.

Elisa Kit Adı	Marka	Kod
COX-1	Elk Biyoteknoloji	ELK1859
COX-2	Elk Biyoteknoloji	ELK2681
TNF- α	Elk Biyoteknoloji	ELK1396
IL-1 α	Elk Biyoteknoloji	ELK1348
IL-6	Elk Biyoteknoloji	ELK1158
PGE ₂	Elk Biyoteknoloji	ELK8711

COX-1: Siklooksijenaz-1, COX-2: Siklooksijenaz-2, TNF- α : Tümör Nekrozis Faktör- α , IL-1 α : İnterlökin-1 α , IL-6: İnterlökin-6, PGE₂: Prostaglandin E₂.

3.1.3. Deney Hayvanları

Bu çalışmada Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezinde yetiştirilen 3 aylık 205-320 gr ağırlığında 48 adet Sprague dawley türü erkek sıçan kullanıldı. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (ADÜ-HADYEK) tarafından 21.07.2022 tarihli 64583101/2022/60 numarası ile etik kurul izni alındı. Çalışmaya başlamadan önce hayvanların ağırlıkları ölçülerek rastgele grup dağılımları ağırlıkları birbirine yakın olacak şekilde 6 eşit gruba ayrıldı ve 10 günlük ortam adaptasyonu sağlandı. Ratlar 12 saat aydınlık 12 saat karanlık, sıcaklığı $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ ve nemi ise %50-55 olarak ayarlanmış odalarda ve şeffaf polikarbon kafeslerde barındırıldı. Tüm gruplar deneye başlamadan önce 24 saat aç bırakıldı ancak su tüketimine sınırlandırma getirilmedi. Deney hayvanlarının bakımına ilişkin “Hayvan Etik Kurulu” uygulamalarına özen gösterildi.



Resim 3. Deneysel grupların ADÜ Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezindeki bir görüntüsü.

3.1.4. Deney Grupları

Ratlar rastgele sekizerli olacak şekilde 6 adet eşit gruba ayrıldı.

Grup I (Kontrol grubu)-K: İndometazinin ülser yapıcı etkisini sağlıklı dokularda karşılaştırabilmek için hiçbir maddenin verilmediği grup.

Grup II (İndometazin grubu)-İ: Ülser oluşumunu sağlamak amacıyla sadece indometazinin verildiği grup. Bu amaçla su kısıtlaması olmadan 24 saatlik açlık periyodundan sonra ratlara 25 mg/kg dozda indometazin oral gavaj yoluyla verildi ve 6 saatlik bekletme süresinin sonunda ötanazi işlemi gerçekleştirildi.

Grup III (lansoprazol+indometazin grubu)-Lİ: Su kısıtlaması olmadan 24 saatlik açlık periyodundan sonra ratlara 30 mg/kg lansoprazol oral gavajla verildi, 30 dakika sonra 25 mg/kg dozda indometazin aynı yolla uygulandı ve 6 saatlik bekleme süresinin sonunda ötanazi işlemi gerçekleştirildi.

Grup IV (Betanin, 100 mg/kg grubu)-Bİ-100: Su kısıtlaması olmadan 24 saatlik açlık periyodundan sonra ratlara 100 mg/kg betanin oral gavajla uygulandı, 30 dakika sonra 25 mg/kg dozda indometazin aynı yolla uygulandı ve 6 saatlik bekleme süresi sonunda ötanazi işlemi gerçekleştirildi.

Grup V (Betanin, 200 mg/kg grubu)-Bİ-200: Su kısıtlaması olmadan 24 saatlik açlık periyodundan sonra ratlara 200 mg/kg betanin oral gavajla uygulandı, 30 dakika sonra 25 mg/kg dozda indometazin aynı yolla uygulandı ve 6 saatlik bekleme süresi sonunda ötanazi işlemi gerçekleştirildi.

Grup VI (Betanin, 300 mg/kg grubu)-Bİ-300: Su kısıtlaması olmadan 24 saatlik açlık periyodundan sonra ratlara 300 mg/kg betanin oral gavajla uygulandı, 30 dakika sonra 25 mg/kg dozda indometazin aynı yolla uygulandı ve 6 saatlik bekleme süresi sonunda ötanazi işlemi gerçekleştirildi.

Tablo 7. Çalışma programı.

Gruplar					
Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6
10 günlük adaptasyon süreci					
	24 saatlik açlık süresi (su kısıtlaması olmadan)				
Sadece su verilen kontrol grubu	25 mg/kg İndometazin	30 mg/kg Lansoprazol	100 mg/kg Betanin	200 mg/kg Betanin	300 mg/kg Betanin
		30 dakika sonra 25mg/kg indometazin			
Tüm oral gavaj uygulamalarından sonra 6 saat beklendi. Ketamin ve ksilazin anestezisi altında ötanazi gerçekleştirildi.					



Resim 4. Ratlara oral gavaj ile ilaç uygulaması.

3.2. Yöntem

3.2.1. Gastrik Ülser Oluşturulması ve Mide Örneklerinin Alınması

Kullanılan gastrik ülser modeli Guidobono ve diğerleri ile Odabaşoğlu ve diğerlerinin bildirdikleri yöntemle oluşturuldu ve çalışma kapsamında kullanılan farmakolojik ajanların dozları da araştırmacıların belirlediği protokole uygun seçildi (Guidobono ve diğerleri, 1997; Odabaşoğlu ve diğerleri, 2008). Betaninin seçilen dozları daha önce yapılan çalışmadan seçilerek belirlendi (Karampour ve diğerleri, 2019).

İndometazin ve lansoprazol distile su içerisinde çözülerek oral gavaj yoluyla 0,5 ml/100 g canlı ağırlık hesabıyla verildi. Betanin %0,9' luk NaCl içerisinde seyreltildi ve seçilen dozları 0,5 ml/100 g olacak şekilde hayvanlara uygulandı.

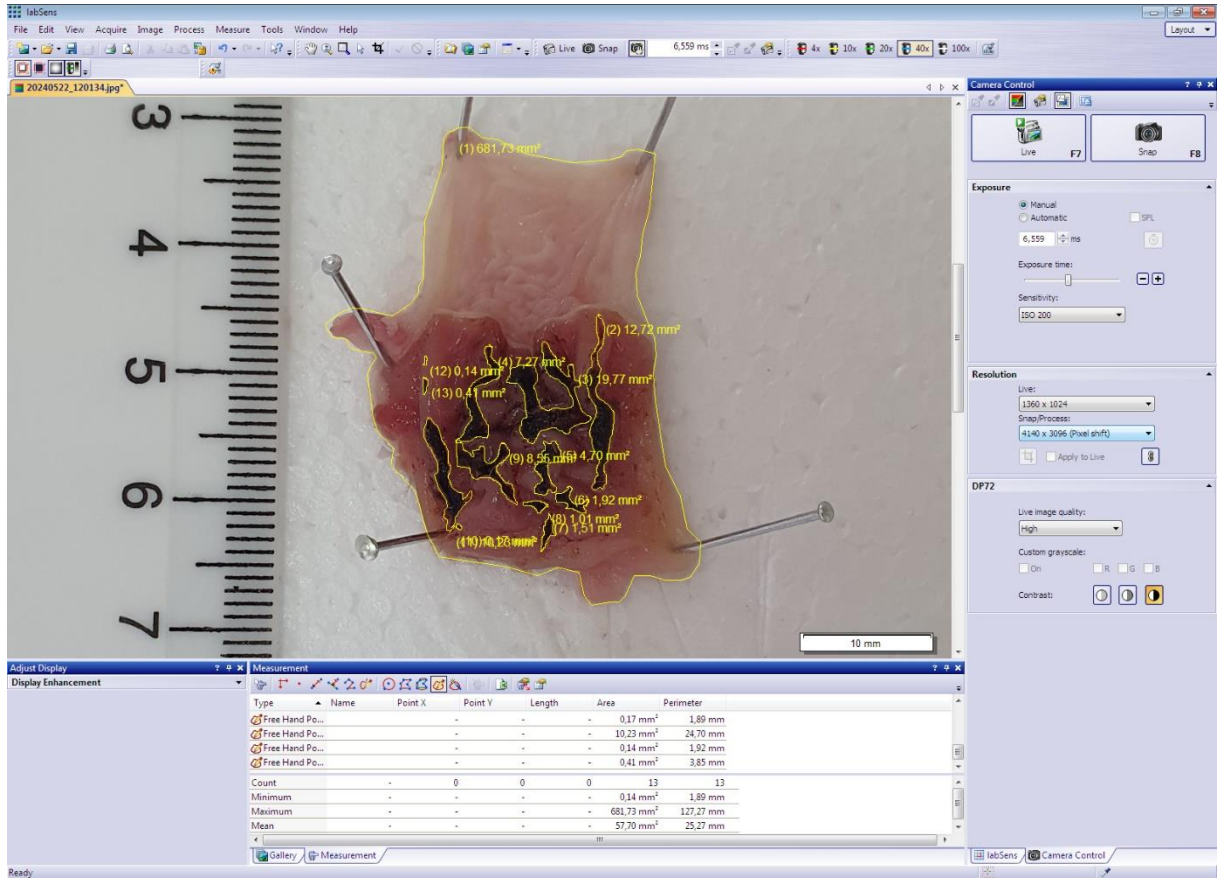
Kontrol grubu dışındaki ratlar ilaç uygulamasından 24 saat önce aç bırakıldı. Ratlara ilaç uygulamasından 6 saat sonra ketamin (50 mg/kg) ve ksilazin (5 mg/kg) anestezisi ile intrakardiyak plazma numuneleri alındı ve ardından ratlara servikal dislokasyon ile ötanazi sağlandı.

Alınan plazma ve mide dokuları -80°C'ye kaldırıldı.

3.2.2. Patolojik Makroskopik Değerlendirme

Nekropsileri yapılan ratların mideleri makroskopik değerlendirme için disseke edilerek serum fizyolojik ile yıkandı. Glandular ve muskuler yapıdan oluşan sıçan midesinin glandular kısmında meydana gelen ülseratif alanlar (siyah renkli görülen kanama alanları) hem milimetrik kağıt ve büyüteç yardımı ile hem de labSens bilgisayar programı yardımıyla ölçüldü (Resim 5). Betaninin gastrik ülser üzerine olan koruyucu etkinliği, diğer gruplardan elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldı. Her bir sıçana ait ülser alanı (mm²) belirlendi ve anti-ülseratif etki (%) aşağıda yer alan formüle göre hesaplandı (Nguelefack ve diğerleri, 2008).

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



Resim 5. Mide dokularındaki ülserli alanların labSens bilgisayar programı ile makroskobik değerlendirmesi.

3.2.3. Mide Dokusunda Oksidan ve Antioksidan Parametrelerin Analizi

3.2.3.1. Dokuların Homojenizasyonu

0,5 g mide doku örneği tartıldıktan sonra %10'luk 150 mM fosfat tamponla (pH 7.4) yıkandı. Kurutma kağıdı ile kurutma işlemi yapıldıktan sonra doku örneği tekrardan fosfat tamponla (%10) homojenizatörde +4 °C'de 2000 rpm devirde 1 dk süreyle homojenize edildi. Homojenatlar +4 °C'de 12000 rpm devirde 10 dk santrifüj edildikten sonra süpernatantlar mikrosantrifüj tüplerine aktararak mide homojenatları analizleri yapılınca kadar -80°C soğutucuda saklandı. Fosfat tamponlu tuz (PBS) çözeltisi için 8,76 g NaCl, 21,29 g Na₂HPO₄ 2H₂O'da çözündürülerek 1.solüsyon; 8,76 g NaCl, 20,41 g KH₂PO₄ distile suda çözülerek 2.solüsyon hazırlandı. 1.solüsyonun pH'sı ikinci solüsyon yardımıyla 7,4'e ayarlandı.

3.2.3.2. Total Protein Analizi

Total protein analizi oksidan ve antioksidan parametrelerin hesaplanmasında kullanılır. Analiz, total protein kiti Archem Diagnostic Ind. Ltd. Şirketi tarafından üretilen biürent metoduna dayalı kit kullanılarak yapıldı ve sonuçlar mg/ml protein olarak hesap edildi. Her bir örnek için bir adet boş mikrosantrifüj tüplerine total protein solüsyonundan 1 ml eklendi. - 80°C’de bekletilen örnekler kademeli olarak çözdürüldü ve vortekslendi. Her örnekten 10 µl alınarak içerisinde 1 ml total protein solüsyonu bulunan mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı ve bu tüpler 30°C’de, 10 dk süreyle etüvde inkübasyona bırakıldı. Ayrıca spektrofotometrede okutmak için 2 adet kör (1 ml total protein solüsyonu + 10 µl distile su), 1 adet standart (1 ml total protein solüsyonu + 10 µl kit içerisindeki standart) hazırlandı. 546 nm dalga boyunda kör ve standart okumaları yapıldı ve değerler kaydedildi. Daha sonra tüm örnekler kuartz tüplere aktarıldı ve spektrofotometrede köre karşı 546 nm dalga boyunda okuması yapıldı ve çıkan sonuçlar SOD, CAT, GSH ve MDA hesaplanmalarında kullanıldı.

3.2.3.3. Süperoksit Dismutaz (SOD) Analizi

SOD analizi, Sun ve diğerlerinin (1988) yöntemine göre yapıldı. Bu yöntem, ortamda enzimatik reaksiyon ile yani ksantin-ksantin oksidaz sistemiyle üretilmiş olan süperoksit radikallerinin nitroblue tetrazolium (NBT)’u indirmegesinin örnek içerisindeki SOD tarafından durdurulması esasına dayanır. Süperoksit radikalleri NBT ile tepkimeye girerek formazon boyası oluşturur ve absorbans artar. SOD enzimi varlığında süperoksit radikalleri hidrojen peroksit (H_2O_2) dönüşerek, formazon oluşumu azalarak absorbans azalır. Ortamda enzimin olmadığı durumlarda indirgenme en fazla olduğundan renk koyu mavi olur, enzimin bulunduğu durumlarda ise renk değişimi gerçekleşir. Enzim konsantrasyonu ile formazon oluşumu ters orantılıdır. Buna göre:

Ksantin stok çözeltisi: 0,0018 g ksantin 0,4 ml 0,1 N NaOH içinde çözdürüldü ve 3,6 ml distile su ilave edildi (analiz yapılacağı zaman stok çözelti 10 kat sulandırıldı).

EDTA çözeltisi: 0,00496 g EDTA 20 ml distile suda çözdürüldü.

NTB çözeltisi: 0,0024 g NTB 20 ml distile suda çözüldü.

Na₂CO₃ çözeltisi: 0,504 g Na₂CO₃ 12 ml distile suda çözüldü.

Sığır albümin çözeltisi: 0,006 g sığır albümin 6 ml distile suda çözüldü.

Ksantin oksidaz çözeltisi: 19,2 µl ksantin oksidaz 2,4 ml 2 M amonyum sülfat içerisinde çözdürüldü.

CuCl₂ çözeltisi: 0,0424 g CuCl₂ 40 ml distile su içerisinde hazırlandı.

SOD analizi için, 40 ml 10 kat sulandırılmış ksantin stok çözeltisi, 20 ml EDTA, 20 ml NBT, 12 ml Na₂CO₃ ve 6 ml sığır albümini içeren reaktif karışım hazırlandı. Bu karışım 98 ml olarak elde edildi. Vorteksle karıştırılmış süpernatantlardan 0.5 ml'lik örnekler alındı ve her birine 250 µl etanol ve 150 µl kloroform eklenerek, +4 °C'de 12000 rpm hızında 10 dakika süreyle santrifüj yapıldı. Cam tüplere, 1225 µl reaktif karışım ve 250 µl örnek eklenerek, ardından 25 µl ksantin oksidazın eklenmesiyle 25°C'de su banyosunda 20 dakika boyunca inkübe edildi. Kör kontrol için ise 1225 µl reaktif karışıma 250 µl distile su eklenerek aynı işlem uygulandı. Daha sonra, 0,5 ml CuCl₂ eklenerek spektrofotometrede kuartz kuvetlerde, 560 nm dalga boyunda ölçüm yapıp, sonuçlar U/mg doku protein olarak hesaplandı.

3.2.3.4. Katalaz (CAT) Analizi

Katalaz enzim aktivitesi, Aebi'nin (1984) yöntemine göre ölçüldü. Bu yöntem, enzim aktivitesini H₂O₂'i 240 nm dalga boyunda H₂O'ya dönüştürerek absorbans değerinin azalmasını takip ederek hesaplar. Buna göre:

Fosfat tampon (1/15 mmol/l; pH=7.0): 7,268 g Na₂HPO₄.2H₂O ve 3,522 g KH₂PO₄ distile suda çözdürülerek bir litreye tamamlandı. Sonrasında HCl ile pH 7,0'a ayarlandı.

H₂O₂'li fosfat tampon: %30'luk H₂O₂ çözeltisinden 0,16 ml alındı ve önceden hazırlanan fosfat tamponunun 100 ml'sinde seyreltme işlemi yapıldı. Hazırlanan bu karışımın 240 nm'deki absorbansının 0,5 olması sağlandı.

Kör küveti içerisine 2,95 ml fosfat tamponu ve 50 µl numune ilave edildi. Test küveti içerisine ise 2,95 ml H₂O₂'li fosfat tampon üzerine 50 µl numune konuldu. Küvetlerin kapakları kapatılıp alt üst edilerek kuyucuklara yerleştirildi ve 15 saniyede bir absorbanslar kaydedildi. Spektrofotometrede 240 nm absorbansında 1 dakika boyunca H₂O₂'deki azalma okunarak elde

edilen değerler, CAT enzim aktivitesini k/mg doku protein cinsinden hesaplamak için kullanıldı.

3.2.3.5. Glutasyon (GSH) Analizi

GSH seviyeleri, Tietze'nin (1969) spektrofotometrik analiz yöntemine göre ölçüldü. Bu yöntem sülfidril grulu bileşikler ile dislfıt bir kromojen olan DTNB (5,5'-ditiyobis, 2-nitrobenzoik asit) tarafından oluşturulan reaksiyonu GSH'ın katalize etmesi ve renk değişikliği oluşması prensibine dayanır. Bu amaçla:

Presipitasyon solüsyonu: 1,67 g glasiyel metafosforik asit, 30 g NaCl ve 0,2 g disodyum EDTA 100 ml distile su içerisinde çözdürüldü.

Fosfat tamponu: 10,64 g Na₂HPO₄ 250 ml distile su içerisinde çözdürüldü.

DTNB zeltisi: 0,02 g DTNB ve 0,5 g sodyum sitrat 50 ml distile su içerisinde çözdürüldü.

Analiz için 5 ml'lik kr, standart ve numune cam tüpleri hazırlanarak standart tüpe 100 l standart, numune tüpüne 100 l örnek eklenerek her iki tüpe 0,9 ml distile su ve 1,5 ml presipitasyon solüsyonu eklendi. Kr tüpe ise 1 ml distile su ve 1,5 ml presipitasyon solüsyonu ilave edildi. Karışım vortekslendikten sonra 5 dk beklenerek huni ve kurutma kağıdı yardımıyla szldkten sonra, szlen kısımlardan 1 ml süpernatant alınarak üzerine 4 ml fosfat solüsyonu ve 0,5 ml DTNB zeltisi eklenerek karıştırılıp 412 nm dalga boyunda 4 dk içinde ölçüm yapıldı ve sonuçlar mg/g doku protein olarak hesaplandı.

3.2.3.6. Malondialdehid (MDA) Analizi

MDA analizi, hücre zarındaki lipid peroksidasyonunun bir belirleyeni olan MDA düzeyini ölçmek için kullanılan bir yöntemdir. Genellikle, MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyonu temel alınarak gerçekleştirilir. Bu analiz, Ohkawa ve diğerlerinin (1979) metoduna dayanmaktadır ve asidik ortamda MDA'nın TBA ile reaksiyonu sonucu oluşan renk değişiminin optik dansitesinin 532 nm'de ölçülmesi prensibine göre çalışılır. Buna göre:

Stok solüsyonu: 15 g TCA, 0,37 g TBA ve 2,07 ml %30'luk HCl 100 ml distile suda çözdürüldü.

Analiz için doku homojenatları vortekslendi ve kapaklı cam tüplere 750 µl aktarıldı. Üzerlerine 1,5 ml stok solüsyon eklendi ve tekrar vortekslenen tüpler, 20 dakika boyunca 100°C'de kaynatıldı. Soğutma işlemi sonrasında, tüpler 3000 rpm'de 10 dakika boyunca santrifüj edildi. Daha sonra, spektrofotometrede kuartz kuvvetlerde havaya karşı 532 nm dalga boyunda okuma yapıldı. Elde edilen absorbans, $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ katsayısı ile çarpılarak hesaplandı. MDA konsantrasyonu, nmol/mg doku protein olarak hesaplandı.

3.2.4. ELISA Analizleri

3.2.4.1. Siklooksijenaz-1 (COX-1) Analizi

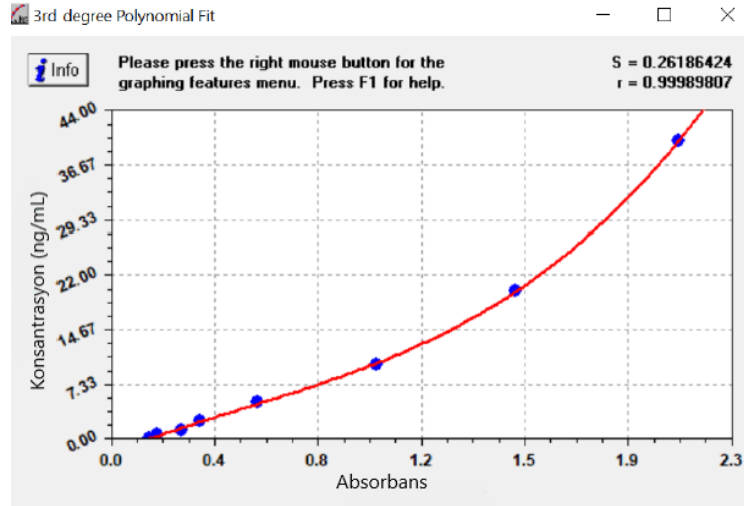
Plazma COX-1 düzeyini ölçmek için Elk Biyoteknoloji tarafından üretilen Rat COX-1 ELISA Kiti (Katalog No: ELK1859) kullanıldı. Bu kit, serum, plazma, doku homojenatı, hücre kültürü süpernatantı ve diğer biyolojik sıvılarda rat COX-1 ölçümü için tasarlanmıştır. Kitin standart eğrisi aralığı 0,63-40 ng/mL ve duyarlılığı 0,245 ng/mL'dir. Kitin içerisindeki direktifler doğrultusunda aşağıdaki basamaklar takip edilerek plazmadan COX-1 analiz edildi:

1. Standartlar, numuneler ve tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi ve hazırlandı.
2. Seri dilüsyon yapılarak 40 ng/mL, 20 ng/mL, 10 ng/mL, 5 ng/mL, 2,5 ng/mL, 1,25 ng/mL, 0,63 ng/mL konsantrasyonlarında olacak şekilde 7 adet standart ve 1 adet blank hazırlandı. Standart kuyucuklarına 100 µl standart eklendi.
3. Numune kuyucuklarına 100 µl numune eklendi, kuyucukların üzeri kapatıldı ve 37°C'de 80 dakika boyunca inkübe edildi.
4. Her bir kuyucuk, üç kez yıkanmak üzere 200 µl yıkama solüsyonu kullanılarak yıkandı.
5. Her kuyucuğa 100 µl biyotinillenmiş antikor eklenerek kuyucukların üzeri kapatıldı ve 37°C'de 50 dakika boyunca inkübe edildi.
6. Her bir kuyucuk, üç kez yıkanmak üzere 200 µl yıkama solüsyonu kullanılarak yıkandı.
7. Kuyucuklara 100 µl streptavidin-HRP eklenerek üzeri kapatıldı ve 37°C'de 50 dakika boyunca inkübe edildi.

8. Her bir kuyucuk, beş kez yıkanmak üzere 200 µl yıkama solüsyonu kullanılarak yıkandı.

9. Kuyucuklara 90 µl TMB substrat solüsyonu eklenerek mavi renk oluşumu gerçekleşti. Kuyucukların üzeri kapatıldı ve karanlıkta 37°C'de 20 dakika boyunca inkübe edildi.

10. Her bir kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklendi, mavi rengin sarıya dönüştüğü görüldü. Thermo Scientific Multiskan Go okuyucu cihazında 10 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçüldü. Standartların absorbans değerleri kullanılarak elde edilen ve R^2 değeri 0,9998 olan absorbans-konsantrasyon grafiği elde edildi (Şekil 14). CurveExpert 1.4 programı kullanılarak elde edilen bu grafik temel alınarak numunelerin COX-1 konsantrasyonları ng/mL olarak belirlendi.



Şekil 14. COX-1 standart grafiği.

3.2.4.2. Siklooksijenaz-2 (COX-2) Analizi

Plazma COX-2 düzeyini ölçmek için Elk Biyoteknoloji tarafından üretilen Rat COX-2 ELISA Kiti (Katalog No: ELK2681) kullanıldı. Bu kit, serum, plazma, doku homojenatı, hücre kültürü süpernatantı ve diğer biyolojik sıvılarda rat COX-2 ölçümü için tasarlanmıştır. Kitin standart eğrisi aralığı 0,16-10 ng/mL ve duyarlılığı 0,065 ng/mL'dir. Kitin içerisindeki direktifler doğrultusunda aşağıdaki basamaklar takip edilerek plazmadan COX-2 analiz edildi:

1. Standartlar, numuneler ve tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi ve hazırlandı.

2. Seri dilüsyon yapılarak 10 ng/mL, 5 ng/mL, 2,5 ng/mL, 1,25 ng/mL, 0,63 ng/mL, 0,32 ng/mL, 0,16 ng/mL konsantrasyonlarında olacak şekilde 7 adet standart ve 1 adet blank hazırlandı. Standart kuyucuklarına 100 µl standart eklendi.

3. Numune kuyucuklarına 100 µl numune eklendi, kuyucukların üzeri kapatıldı ve 37°C'de 80 dakika boyunca inkübe edildi.

4. Her bir kuyucuk, üç kez yıkanmak üzere 200 µl yıkama solüsyonu kullanılarak yıkandı.

5. Her kuyucuğa 100 µl biyotinillenmiş antikor eklenerek kuyucukların üzeri kapatıldı ve 37°C'de 50 dakika boyunca inkübe edildi.

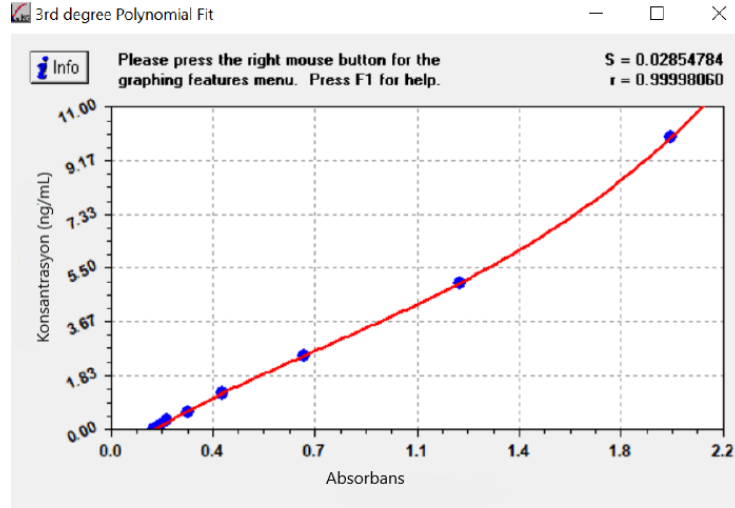
6. Her bir kuyucuk, üç kez yıkanmak üzere 200 µl yıkama solüsyonu kullanılarak yıkandı.

7. Kuyucuklara 100 µl streptavidin-HRP eklenerek üzeri kapatıldı ve 37°C'de 50 dakika boyunca inkübe edildi.

8. Her bir kuyucuk, beş kez yıkanmak üzere 200 µl yıkama solüsyonu kullanılarak yıkandı.

9. Kuyucuklara 90 µl TMB substrat solüsyonu eklenerek mavi renk oluşumu gerçekleşti. Kuyucukların üzeri kapatıldı ve karanlıkta 37°C'de 20 dakika boyunca inkübe edildi.

10. Her bir kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklendi, mavi rengin sarıya dönüştüğü görüldü. Thermo Scientific Multiskan Go okuyucu cihazında 10 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçüldü. Standartların absorbans değerleri kullanılarak elde edilen ve R² değeri 0,9999 olan absorbans-konsantrasyon grafiği elde edildi (Şekil 15). CurveExpert 1.4 programı kullanılarak elde edilen bu grafik temel alınarak numunelerin COX-2 konsantrasyonları ng/mL olarak belirlendi.



Şekil 15. COX-2 standart grafiği.

3.2.4.3. Tümör Nekrozis Faktör α (TNF- α) Analizi

Plazma TNF- α düzeyini ölçmek için Elk Biyoteknoloji tarafından üretilen Rat TNF- α ELISA Kiti (Katalog No: ELK1396) kullanıldı. Bu kit, serum, plazma, doku homojenatı, hücre kültürü süpernatantı ve diğer biyolojik sıvılarda rat TNF- α ölçümü için tasarlanmıştır. Kitin standart eğrisi aralığı 15,63-1000 pg/mL ve duyarlılığı 6,1 pg/mL'dir. Kitin içerisindeki direktifler doğrultusunda aşağıdaki basamaklar takip edilerek plazmadan TNF- α analiz edildi:

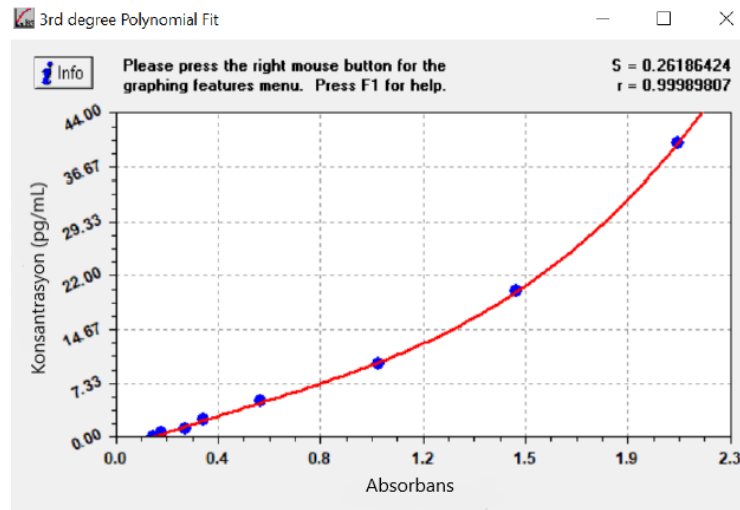
1. Standartlar, numuneler ve tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi ve hazırlandı.
2. Seri dilüsyon yapılarak 1000 pg/mL, 500 pg/mL, 250 pg/mL, 125 pg/mL, 62,5 pg/mL, 31,25 pg/mL, 15,63 pg/mL konsantrasyonlarında olacak şekilde 7 adet standart ve 1 adet blank hazırlandı. Standart kuyucuklarına 100 μ l standart eklendi.
3. Numune kuyucuklarına 100 μ l numune eklendi, kuyucukların üzeri kapatıldı ve 37°C'de 80 dakika boyunca inkübe edildi.
4. Her bir kuyucuk, üç kez yıkanmak üzere 200 μ l yıkama solüsyonu kullanılarak yıkandı.
5. Her kuyucuğa 100 μ l biyotinillenmiş antikor eklenerek kuyucukların üzeri kapatıldı ve 37°C'de 50 dakika boyunca inkübe edildi.
6. Her bir kuyucuk, üç kez yıkanmak üzere 200 μ l yıkama solüsyonu kullanılarak yıkandı.

7. Kuyucuklara 100 µl streptavidin-HRP eklenerek üzeri kapatıldı ve 37°C'de 50 dakika boyunca inkübe edildi.

8. Her bir kuyucuk, beş kez yıkanmak üzere 200 µl yıkama solüsyonu kullanılarak yıkandı.

9. Kuyucuklara 90 µl TMB substrat solüsyonu eklenerek mavi renk oluşumu gerçekleşti. Kuyucukların üzeri kapatıldı ve karanlıkta 37°C'de 20 dakika boyunca inkübe edildi.

10. Her bir kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklendi, mavi rengin sarıya dönüştüğü görüldü. Thermo Scientific Multiskan Go okuyucu cihazında 10 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçüldü. Standartların absorbans değerleri kullanılarak elde edilen ve R² değeri 0,9998 olan absorbans-konsantrasyon grafiği elde edildi (Şekil 16). CurveExpert 1.4 programı kullanılarak elde edilen bu grafik temel alınarak numunelerin TNF-α konsantrasyonları pg/mL olarak belirlendi.



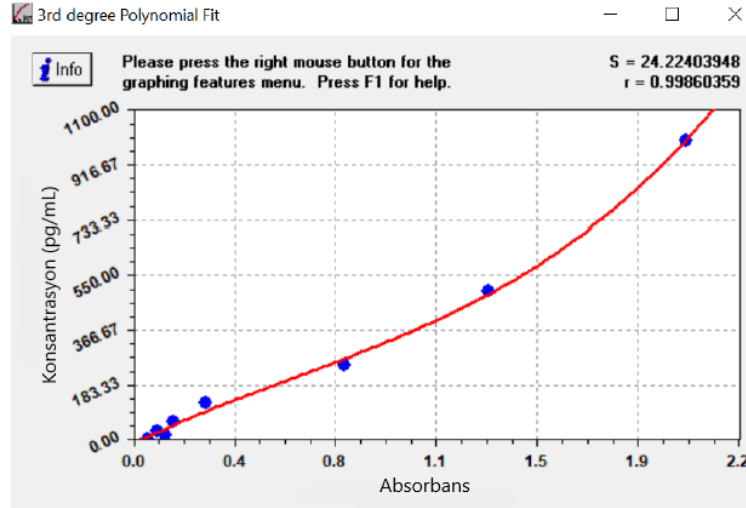
Şekil 16. TNF-α standart grafiği.

3.2.4.4. İnterlökin-1Alfa (IL-1 α) Analizi

Plazma IL-1α düzeyini ölçmek için Elk Biyoteknoloji tarafından üretilen Rat IL-1α ELISA Kiti (Katalog No: ELK1348) kullanıldı. Bu kit, serum, plazma, doku homojenatı, hücre kültürü süpernatantı ve diğer biyolojik sıvılarda rat IL-1α ölçümü için tasarlanmıştır. Kitin

standart eğrisi aralığı 15,63-1000 pg/mL ve duyarlılığı 6,1 pg/mL'dir. Kitin içerisindeki direktifler doğrultusunda aşağıdaki basamaklar takip edilerek plazmadan IL-1 α analiz edildi:

1. Standartlar, numuneler ve tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi ve hazırlandı.
2. Seri dilüsyon yapılarak 1000 pg/mL, 500 pg/mL, 250 pg/mL, 125 pg/mL, 62,5 pg/mL, 31,25 pg/mL, 15,63 pg/mL konsantrasyonlarında olacak şekilde 7 adet standart ve 1 adet blank hazırlandı. Standart kuyucuklarına 100 μ l standart eklendi.
3. Numune kuyucuklarına 100 μ l numune eklendi, kuyucukların üzeri kapatıldı ve 37°C'de 80 dakika boyunca inkübe edildi.
4. Her bir kuyucuk, üç kez yıkanmak üzere 200 μ l yıkama solüsyonu kullanılarak yıkandı.
5. Her kuyucuğa 100 μ l biyotinillenmiş antikor eklenerek kuyucukların üzeri kapatıldı ve 37°C'de 50 dakika boyunca inkübe edildi.
6. Her bir kuyucuk, üç kez yıkanmak üzere 200 μ l yıkama solüsyonu kullanılarak yıkandı.
7. Kuyucuklara 100 μ l streptavidin-HRP eklenerek üzeri kapatıldı ve 37°C'de 50 dakika boyunca inkübe edildi.
8. Her bir kuyucuk, beş kez yıkanmak üzere 200 μ l yıkama solüsyonu kullanılarak yıkandı.
9. Kuyucuklara 90 μ l TMB substrat solüsyonu eklenerek mavi renk oluşumu gerçekleşti. Kuyucukların üzeri kapatıldı ve karanlıkta 37°C'de 20 dakika boyunca inkübe edildi.
10. Her bir kuyucuğa 50 μ l durdurma solüsyonu eklendi, mavi rengin sarıya dönüştüğü görüldü. Thermo Scientific Multiskan Go okuyucu cihazında 10 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçüldü. Standartların absorbans değerleri kullanılarak elde edilen ve R² değeri 0,9986 olan absorbans-konsantrasyon grafiği elde edildi (Şekil 17). CurveExpert 1.4 programı kullanılarak elde edilen bu grafik temel alınarak numunelerin IL-1 α konsantrasyonları pg/mL olarak belirlendi.



Şekil 17. IL-1 α standart grafiği.

3.2.4.5. İnterlökin 6 (IL-6) Analizi

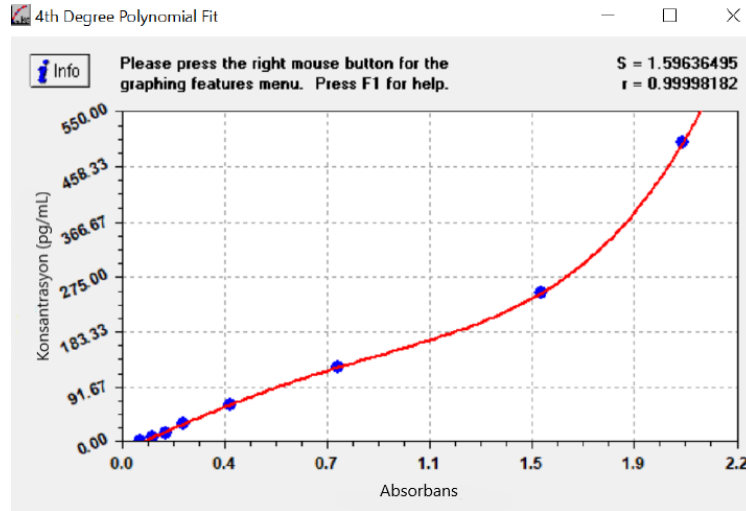
Plazma IL-6 düzeyini ölçmek için Elk Biyoteknoloji tarafından üretilen Rat IL-6 ELISA Kiti (Katalog No: ELK1158) kullanıldı. Bu kit, serum, plazma, doku homojenatı, hücre kültürü süpernatantı ve diğer biyolojik sıvılarda rat IL-6 ölçümü için tasarlanmıştır. Kitin standart eğrisi aralığı 7,82-500 pg/mL ve duyarlılığı 3,3 pg/mL'dir. Kitin içerisindeki direktifler doğrultusunda aşağıdaki basamaklar takip edilerek plazmadan IL-6 analiz edildi:

1. Standartlar, numuneler ve tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi ve hazırlandı.
2. Seri dilüsyon yapılarak 500 pg/mL, 250 pg/mL, 125 pg/mL, 62,5 pg/mL, 31,25 pg/mL, 15,63 pg/mL, 7,82 pg/mL konsantrasyonlarında olacak şekilde 7 adet standart ve 1 adet blank hazırlandı. Standart kuyucuklarına 100 μ L standart eklendi.
3. Numune kuyucuklarına 100 μ L numune eklendi, kuyucukların üzeri kapatıldı ve 37°C'de 80 dakika boyunca inkübe edildi.
4. Her bir kuyucuk, üç kez yıkanmak üzere 200 μ L yıkama solüsyonu kullanılarak yıkandı.
5. Her kuyucuğa 100 μ L biyotinillenmiş antikor eklenerek kuyucukların üzeri kapatıldı ve 37°C'de 50 dakika boyunca inkübe edildi.
6. Her bir kuyucuk, üç kez yıkanmak üzere 200 μ L yıkama solüsyonu kullanılarak yıkandı.
7. Kuyucuklara 100 μ L streptavidin-HRP eklenerek üzeri kapatıldı ve 37°C'de 50 dakika boyunca inkübe edildi.

8. Her bir kuyucuk, beş kez yıkanmak üzere 200 µl yıkama solüsyonu kullanılarak yıkandı.

9. Kuyucuklara 90 µl TMB substrat solüsyonu eklenerek mavi renk oluşumu gerçekleştirildi. Kuyucukların üzeri kapatıldı ve karanlıkta 37°C'de 20 dakika boyunca inkübe edildi.

10. Her bir kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklendi, mavi rengin sarıya dönüştüğü görüldü. Thermo Scientific Multiskan Go okuyucu cihazında 10 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçüldü. Standartların absorbans değerleri kullanılarak elde edilen ve R^2 değeri 0,9999 olan absorbans-konsantrasyon grafiği elde edildi (Şekil 18). CurveExpert 1.4 programı kullanılarak elde edilen bu grafik temel alınarak numunelerin IL-6 konsantrasyonları pg/mL olarak belirlendi.



Şekil 18. IL-6 standart grafiği.

3.2.4.6. Prostaglandin E₂ Analizi

Plazma PGE₂ düzeyini ölçmek için Elk Biyoteknoloji tarafından üretilen Rat PGE₂ ELISA Kiti (Katalog No: ELK8711) kullanıldı. Bu kit, serum, plazma, doku homojenatı, hücre kültürü süpernatantı ve diğer biyolojik sıvılarda rat PGE₂ ölçümü için tasarlanmıştır. Kitin standart eğrisi aralığı 3,13-200 pg/mL ve duyarlılığı 0,97 pg/mL'dir. Kitin içerisindeki direktifler doğrultusunda aşağıdaki basamaklar takip edilerek plazmadan PGE₂ analiz edildi:

1. Standartlar, numuneler ve tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi ve hazırlandı.

2. Seri dilüsyon yapılarak 200 pg/mL, 100 pg/mL, 50 pg/mL, 25 pg/mL, 12,5 pg/mL, 6,25 pg/mL, 3,13 pg/mL konsantrasyonlarında olacak şekilde 7 adet standart ve 1 adet blank hazırlandı. Standart kuyucuklarına 50 µl standart eklendi.

3. Numune kuyucuklarına 50 µl numune eklendi, sonra her kuyucuğa 50 µl biyotinillenmiş antikor eklenerek kuyucukların üzeri kapatıldı ve 37°C'de 60 dakika boyunca inkübe edildi.

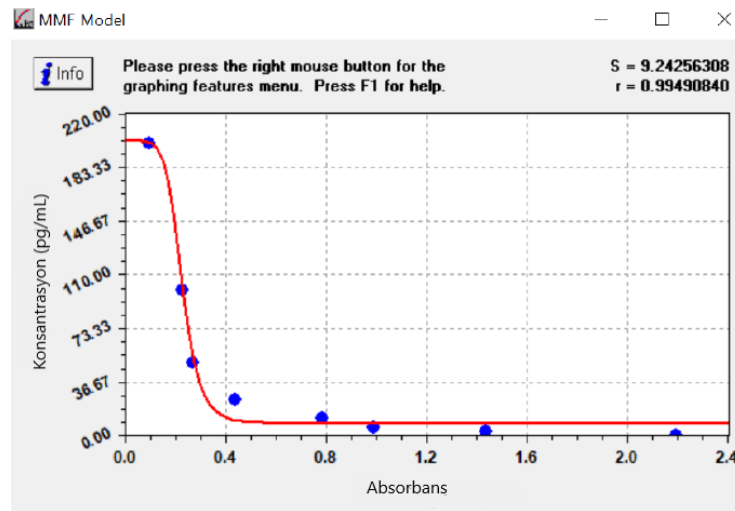
4. Her bir kuyucuk, üç kez yıkanmak üzere 200 µl yıkama solüsyonu kullanılarak yıkandı.

5. Kuyucuklara 100 µl streptavidin-HRP eklenerek üzeri kapatıldı ve 37°C'de 60 dakika boyunca inkübe edildi.

6. Her bir kuyucuk, beş kez yıkanmak üzere 200 µl yıkama solüsyonu kullanılarak yıkandı.

7. Kuyucuklara 90 µl TMB substrat solüsyonu eklenerek mavi renk oluşumu gerçekleşti. Kuyucukların üzeri kapatıldı ve karanlıkta 37°C'de 20 dakika boyunca inkübe edildi.

8. Her bir kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklendi, mavi rengin sarıya dönüştüğü görüldü. Thermo Scientific Multiskan Go okuyucu cihazında 10 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçüldü. Standartların absorbans değerleri kullanılarak elde edilen ve R^2 değeri 0,9949 olan absorbans-konsantrasyon grafiği elde edildi (Şekil 19). CurveExpert 1.4 programı kullanılarak elde edilen bu grafik temel alınarak numunelerin PGE₂ konsantrasyonları pg/mL olarak belirlendi.



Şekil 19. PGE₂ standart grafiği.

3.2.5. Patolojik İncelemeler

3.2.5.1. Histopatolojik İnceleme

Anestezi altında ötanazisi yapılan ratların mide dokuları %10 tamponlu formalin solüsyonunda 48 saat tespit edildi. Trimlenen mide dokusu örnekleri doku takip cihazında (Leica TP1020) alkol ve ksilol serilerinde işlem gördükten sonra parafine gömülerek bloklar elde edildi. Elde edilen parafin doku bloklarından 4-5 µm kalınlığında seri kesitler (Mikrotom, Leica RM 2135) lamlara alındı. Aynı bloklardan alınan seri kesitlerin yeter sayıdaki kopyaları pozitif şarjlı lamlara alınarak immunohistokimyasal incelemeler için ayrıldı. Histokimyasal boyamalar için alınan tüm kesitler rutin takip yöntemleri ile işlendikten sonra Hematoksilen-Eozin (H&E) ile boyandı (Culling ve Allison, 1985). Elde edilen H&E preparatlar ışık mikroskopunda (Olympus BX51) incelenerek gerekli görülenlerden mikrofotograflar alınarak dijital ortama aktarıldı (Olympus SC180-Tokyo, Japonya). Özellikle doku hasarının belirlendiği alanlarda görülen lezyonlar, Guha ve diğerlerinin (2010) kullandığı skarlama metodu modifiye edilerek semi-kantitatif olarak skorlandı. Skarlama için lezyonların şiddetine göre değeri verildi. Buna göre; lezyon yok-0, vasküler lezyonlar (ödem, hiperemi, hemoraji) var ise +1, vasküler lezyonlar ve erozyon var ise +2, vasküler lezyonlara erozyon ve ülser de eşlik ediyor ise +3 olarak değerlendirildi. Her organda belirlenen eroziv-ülseratif lezyonların alanı (kaç odak var ise) ölçülerek (Olympus CellSense Entry Imaging Software, Ver.1.18) toplam ülser alanı bulundu.

3.2.5.2. İmmunohistokimyasal İnceleme

Pozitif şarjlı lamlara alınan kesitler, çalışma kapsamında apoptozisin rolünü belirlemek amacıyla monoklonal anti aktif kaspaz-3 (Proteintech, USA, Cat no: 66470), monoklonal anti bcl-2 (Proteintech, USA, Cat no: 60178) antikorları kullanılarak immunohistokimyasal yöntemlere tabi tutuldu ve ışık mikroskopunda (Olympus SC180) incelendi. Bu yöntemin gerçekleştirilme basamakları aşağıda sıralandığı gibi yapıldı:

Strept avidin-biyotin kompleks (strept avidinbiotin complex, sABC) boyama metoduna göre antikaspaz-3 ve antiBcl-2 için immunohistokimya analizi protokolü.

1. Parafin bloklardan elde edilen 4-5 µm kalınlığında pozitif şarjlı lamlardaki kesitler 37°C’de 1 gece bekletildi.
2. İnkubasyon sonrası kesitlere deparafinizasyon ve rehidrasyon işlemleri uygulandı.
3. Kesitler, antijen retriever için Proteinase K solüsyonunda 37°C’de 10 dakika inkübe edildi.
4. Preparatlar distile sudan geçirilerek hidrojen peroksit (Thermo Scientific Sekonder Antikor Kiti-Thermo TP-015-HD) ile 37°C’de 10-15 dk inkübe edildi.
5. Kesitlerin ara yıkamaları PBS ile 3x5 dakika olacak şekilde yapıldı.
6. Daha sonra nonspesifik bağlanmaları engellemek için Ultra V Block (Thermo TP-015-HD) ile oda sıcaklığında nemli ortamda 5 dakika inkübe edildi.
7. Kesitlerin yüzeyi 50 µl sulandırılmış (1/500) antikaspa-3 ve antiBcl-2 primer antikorları ayrı ayrı uygulanarak bir gece boyunca nemli kamara içerisinde +4°C’de inkübe edildi.
8. Primer antikor inkubasyonu sonrası ara yıkama gerçekleştirildi ve biyotinlenmiş sekonder antikor uygulanarak 37°C’de 15 dakika inkübe edildi.
9. Streptavidin peroksidaz uygulanarak 37°C’de 15 dakika inkübe edildi.
10. PBS içerisinde yıkanan kesitler 3x5 dakika inkubasyona bırakıldı.
11. Yıkama solüsyonundan alınan kesitler substrat-kromojen (DAB) solüsyonunda 3 dakika bekletildi.
12. İstenen ve beklenen kromajenik reaksiyon görüldükten sonra kesitler distile suda yıkandı. Mayer’s hemotoksilen ile 30 saniye karşıt boyama yapıldı ve alkol ile ksilol serilerinden geçirilerek entellan yardımıyla lamel ile kapatıldı.

Işık mikroskopunda incelendikten sonra mikrofotografları alınan kesitlerin görüntüleri dijital ortama aktarıldı. Dokulardaki pozitif reaksiyonların kantitatif değerlendirmesi için, eroziv-ülseratif alanların sınırlarından başlayıp perifere doğru genişleyerek yapılan incelemede immunpozitif hücreler incelendi.

3.3. İstatistik

İstatistiksel değerlendirme amacıyla SPSS-22 (Statistical Packag for Social Sciences) paket programı kullanıldı (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Shapiro Wilk testi ve varyans homojenitesi ile verilerin normal dağılıma uygunluğu değerlendirildi. Normal dağılım gösteren verilerin gruplar arası farklılığı tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ile, farkların önem kontrolü ise *post hoc* Duncan testi ile yapıldı. Normal dağılım göstermeyen verilerin gruplar arası farklılığı ise Kruskall Wallis varyans analizi ile gerçekleştirildi. Oluşan farkın hangi gruptan veya gruplardan kaynaklandığını belirlemek için Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney *U* testi yapıldı (Conover, 1999). Tüm değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak verildi ve istatistiksel analizler sonucunda $p < 0,05$ olan değerler önemli kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Deneysel Grupların Canlı Ağırlıkları

Deneysel gruptaki ratların ortalama canlı ağırlıkları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında (Tablo 8) gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı belirlendi ($p=0,893$).

Tablo 8. Çalışma gruplarındaki ratların ortalama canlı ağırlıkları.

Gruplar	Canlı ağırlık (g)
Kontrol	277,14±9,37
Lansoprazol+İndometazin	260,00±10,23
İndometazin	268,57±12,42
Betanin 100+İndometazin	270,00±6,81
Betanin 200+İndometazin	269,37±12,86
Betanin 300+İndometazin	275,62±9,46
p*	0,893

*; One-way ANOVA.

4.2. Patolojik Makroskopik Bulgular

Deneysel gruptaki ratların mide dokularına ait ülser alanları ve anti-ülseratif etkisi değerlendirildiğinde kontrol grubunda herhangi bir makroskopik bulgu ve ülseratif lezyonlara rastlanılmadı. İndometazin verilen grupta mide mukozası genel olarak hiperemik olup, siyaha yakın renkler görüldü (Resim 6). Betanin verilen gruplarda, uygulama dozuna göre ülserasyon alanlarının daha az olmakla birlikte, deneysel gruptaki ratların mide dokularına ait ülser alanları ve anti-ülseratif etkisi değerlendirildiğinde, Bİ-100, Bİ-200 ve Bİ-300 gruplarının

indometazin uygulanan grupla karşılaştırıldığında sırası ile %57,12, %74,21 ve %78,63 oranında antiülser etki gösterdiği belirlenmiştir ($p<0,05$). Sonuçlar Tablo 9 ve Tablo 10'da verilmiştir.

Tablo 9. Sıçanlarda indometazin ile oluşturulan gastrik ülser modelinde, farklı dozlarda uygulanan betaninin ülser alanı üzerine etkisi ve antiülseratif etkinliği.

Gruplar	Ülser alanı (mm ²)	Anti-ülseratif etki (%)
Kontrol	0,00±0,00 ^c	-
Lansoprazol+İndometazin	0,00±0,00 ^c	100
İndometazin	43,90±7,32 ^a	0,0
Betanin 100+İndometazin	18,83±4,51 ^b	57,12
Betanin 200+İndometazin	11,32±2,60 ^b	74,21
Betanin 300+İndometazin	9,38±3,47 ^b	78,63
p*	0,001	

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

Deneyssel gruplar ülser alanı yönünden birbiriyle karşılaştırdıklarında $p=0,001$ düzeyinde anlamlı fark olduğu belirlenmiştir. İndometazin grubunda ülser alanlarının diğer deneyssel gruplara göre istatistiksel olarak en yüksek olduğu, bunu anlamlı olarak sırayla betanin gruplarının sonra da kontrol ile lansoprazol+indometazin gruplarının izlediği görülmüştür.

Tablo 10. Deneyisel grupların ülser alanlarına göre gruplar arası farkın testi.

Karşılaştırılan Gruplar	p
Kontrol ile Lansoprazol+İndometazin	1,000
Kontrol ile İndometazin	0,000*
Kontrol ile Betanin 100+İndometazin	0,000*
Kontrol ile Betanin 200+İndometazin	0,000*
Kontrol ile Betanin 300+İndometazin	0,000*
Lansoprazol+İndometazin ile İndometazin	0,000*
Lansoprazol+İndometazin ile Betanin 100+İndometazin	0,000*
Lansoprazol+İndometazin ile Betanin 200+İndometazin	0,000*
Lansoprazol+İndometazin ile Betanin 300+İndometazin	0,000*
İndometazin ile Betanin 100+İndometazin	0,003*
İndometazin ile Betanin 200+İndometazin	0,000*
İndometazin ile Betanin 300+İndometazin	0,000*
Betanin 100+İndometazin ile Betanin 200+İndometazin	0,250
Betanin 100+İndometazin ile Betanin 300+İndometazin	0,055
Betanin 200+İndometazin ile Betanin 300+İndometazin	0,426

Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi. Gruplar arası istatistiksel farkın önemliliği; * $p<0,05$.

Betanin verilen gruplarda ülser alanlarının lansoprazol+indometazin grubuna göre yüksek olmasına rağmen, indometazin grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu ve bu farkın doz artışına bağlı olarak sırasıyla $p=0,003$, $p=0,001$ ve $p=0,001$ olduğu görülmüştür.



Grup 1: Kontrol



Grup 2: 25 mg/kg İndometazin



Grup 3: 30 mg/kg Lansoprazol
+ 25 mg/kg İndometazin



Grup 4: 100 mg/kg Betanin
+ 25 mg/kg İndometazin



Grup 5: 200 mg/kg Betanin
+ 25 mg/kg İndometazin



Grup 6: 300 mg/kg Betanin
+ 25 mg/kg İndometazin

Resim 6. Çalışma gruplarındaki ratların midelerinin makroskobik görünümüleri.

(A) Kontrol Grubu , (B) İndometazin Grubu , (C) Lansoprazol + İndometazin Grubu, (D) Betanin 100 + indometazin Grubu, (E) Betanin 200 + indometazin Grubu, (F) Betanin 300 + indometazin Grubu

4.3. Mide Dokusu Antioksidan ve Oksidan Parametre Sonuçları

Homojenize edilmiş mide dokularından alınan örnekler uygun tamponlar, kimyasallar ve kitler kullanılarak enzim miktar ve aktiviteleri belirlendi. Mide dokusunda yapılan SOD, GSH ve MDA analizlerinde Bİ-100, Bİ-200 ve Bİ-300 gruplarında, indometazin uygulanan grup ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görüldü. CAT analizinde sadece Bİ-100 grubu ile indometazin grubu karşılaştırıldığında aralarında anlamlı farklılık görülmemesine rağmen, Bİ-200 ve Bİ-300 gruplarında anlamlı bir farklılık olduğu belirlendi. Mide dokusu antioksidan ve oksidan parametreler değerlendirildiğinde sonuçlar Tablo 11 ve Tablo 12’de verilmiştir.

Tablo 11. İndometazin ile indüklenmiş ülser modelinde mide dokusu antioksidan ve oksidan parametre sonuçları.

Gruplar	SOD	CAT	GSH	MDA
Kontrol	11,14±0,64 ^a	0,89±0,10 ^d	20,73±1,04 ^a	14,45±0,76 ^d
Lansoprazol+İndometazin	8,95±0,44 ^{b,c}	1,48±0,36 ^{c,d}	22,20±1,80 ^a	18,79±2,05 ^c
İndometazin	5,10±0,14 ^d	3,13±0,37 ^a	9,10±0,97 ^b	30,19±0,78 ^a
Betanin 100+İndometazin	8,13±0,95 ^c	2,08±0,39 ^{a,b,c}	19,46±1,55 ^a	25,78±2,99 ^b
Betanin 200+İndometazin	9,08±0,53 ^{b,c}	1,78±0,48 ^{c,d}	20,12±2,91 ^a	21,51±0,88 ^{b,c}
Betanin 300+İndometazin	9,98±0,28 ^{a,b}	1,37±0,20 ^{c,d}	22,49±1,51 ^a	20,79±1,05 ^{b,c}
p*	0,001	0,003	0,001	0,001

*; Kruskall Wallis. SOD; süperoksit dismutaz (U/mg protein), GSH; glutatyon (mg/g protein), CAT; katalaz (k/mg protein), MDA; malondialdehid (nmol/mg protein), ^{a, b, c, d}; Farklı harfler aynı sütunda istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir.

Tablo 12. İndometazin ile indüklenmiş ülser modelinde mide dokusu antioksidan ve oksidan parametre değerlerine göre gruplar arası farkın testi.

Karşılaştırılan Gruplar	Parametreler			
	SOD	CAT	GSH	MDA
	P			
Kontrol ile Lansoprazol+İndometazin	0,009*	0,191	0,436	0,020*
Kontrol ile İndometazin	0,000*	0,000*	0,00*	0,000*
Kontrol ile Betanin 100+İndometazin	0,002*	0,004*	0,644	0,000*
Kontrol ile Betanin 200+İndometazin	0,025*	0,055	0,817	0,000*
Kontrol ile Betanin 300+İndometazin	0,312	0,083	0,347	0,000*
Lansoprazol+İndometazin ile İndometazin	0,000*	0,002*	0,000*	0,000*
Lansoprazol+İndometazin ile Betanin 100+İndometazin	0,599	0,086	0,218	0,007*
Lansoprazol+İndometazin ile Betanin 200+İndometazin	0,679	0,524	0,583	0,078
Lansoprazol+İndometazin ile Betanin 300+İndometazin	0,093	0,655	0,869	0,222
İndometazin ile Betanin 100+İndometazin	0,002*	0,116	0,002*	0,03*
İndometazin ile Betanin 200+İndometazin	0,000*	0,009*	0,000*	0,002*
İndometazin ile Betanin 300+İndometazin	0,000*	0,006*	0,000*	0,000*
Betanin 100+İndometazin ile Betanin 200+İndometazin	0,349	0,272	0,489	0,299
Betanin 100+İndometazin ile Betanin 300+İndometazin	0,030*	0,199	0,164	0,113
Betanin 200+İndometazin ile Betanin 300+İndometazin	0,200	0,848	0,476	0,574

Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi. Gruplar arası istatistiksel farkın önemliliği; * $p < 0,05$. SOD; süperoksit dismutaz (U/mg protein), GSH; glutatyon (mg/g protein), CAT; katalaz (k/mg protein), MDA; malondialdehid (nmol/mg protein).

4.3.1. Mide Dokusu SOD Aktivitesi

Antioksidan parametrelerden olan SOD aktivitesi değerlendirildiğinde kontrol, lansoprazol-indometazin ve indometazin gruplarında sırası ile $11,64 \pm 0,64$, $8,95 \pm 0,44$ ve $5,10 \pm 0,14$ U/mg protein düzeyindeyken Bİ-100, Bİ-200 ve Bİ-300 gruplarında sırasıyla $8,13 \pm 0,95$, $9,08 \pm 0,53$ ve $9,98 \pm 0,28$ U/mg protein olarak ölçülmüştür. SOD aktivitesi yönünden betaninin tüm dozlarında indometazin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmüştür. Betaninin tüm dozlarında lansoprazol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir ($p > 0,05$).

4.3.2. Mide Dokusu CAT Aktivitesi

CAT aktivitesi değerlendirildiğinde; kontrol, lansoprazol-indometazin ve indometazin gruplarında sırası ile $0,89 \pm 0,10$, $1,48 \pm 0,36$ ve $3,13 \pm 0,37$ k/mg protein düzeyindeyken Bİ-100, Bİ-200 ve Bİ-300 gruplarında sırasıyla $2,08 \pm 0,39$, $1,78 \pm 0,48$ ve $1,37 \pm 0,20$ k/mg protein olarak bulunmuştur. Bu enzim açısından değerlendirildiğinde, Bİ-200 ve Bİ-300 gruplarında indometazin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür (sırasıyla $p = 0,009$ ve $p = 0,006$). Betaninin tüm dozlarında lansoprazol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir ($p > 0,05$).

4.3.3. Mide Dokusu GSH Düzeyi

GSH enzimi düzeyi değerlendirildiğinde; kontrol, lansoprazol-indometazin ve indometazin gruplarında sırası ile $20,73 \pm 1,04$, $22,20 \pm 1,80$ ve $9,10 \pm 0,97$ mg/g protein düzeyindeyken Bİ-100, Bİ-200 ve Bİ-300 gruplarında sırasıyla $19,46 \pm 1,55$, $20,12 \pm 2,91$ ve $22,49 \pm 1,51$ mg/g proteindir. Elde ettiğimiz bulgulara göre Bİ-100, Bİ-200 ve Bİ-300 gruplarında indometazin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür (sırasıyla $p = 0,002$, $p = 0,001$ ve $p = 0,001$). Betaninin tüm dozlarında lansoprazol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir ($p > 0,05$).

4.3.4. Mide Dokusu MDA Düzeyi

MDA enzimi düzeyi değerlendirildiğinde; kontrol, lansoprazol-indometazin ve indometazin gruplarında sırası ile $14,45 \pm 0,76$, $18,79 \pm 2,05$ ve $30,19 \pm 0,78$ nmol/mg protein düzeyindeyken Bİ-100, Bİ-200 ve Bİ-300 gruplarında sırasıyla $25,78 \pm 2,99$, $21,51 \pm 0,88$ ve $20,79 \pm 1,05$ nmol/mg protein olarak ölçülmüştür. Elde edilen bu verilere göre MDA seviyesi yönünden betaninin tüm dozlarında indometazin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmüştür (sırasıyla $p=0,03$, $p=0,002$ ve $p=0,001$). Bİ-200 ve Bİ-300 gruplarında lansoprazol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir ($p>0,05$). Sadece Bİ-100 grubunda lansoprazol+indometazin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmüştür ($p=0,007$).

4.4. Plazma COX-1, COX-2, TNF- α , IL-1 α , IL-6 ve PGE₂ ELISA Sonuçları

Ratlardan elde edilen plazma örneklerinden yapılan COX-1, COX-2, TNF- α , IL-1 α , IL-6 ve PGE₂ ELISA sonuçları Tablo 13’de gösterilmiştir.

Tablo 13. Plazma COX-1, COX-2, TNF- α , IL-1- α , IL-6 ve PGE₂ ELISA sonuçları.

Gruplar	COX-1	COX-2	TNF- α	IL-1 α	IL-6	PGE ₂
Kontrol	49,67 $\pm$ 4,53 ^{a,b}	0,27 $\pm$ 0,03 ^b	164,70 $\pm$ 8,70 ^{b,c}	10,28 $\pm$ 2,15 ^c	183,70 $\pm$ 1,37 ^b	17,26 $\pm$ 2,09 ^a
Lansoprazol+İndometazin	60,64 $\pm$ 4,80 ^a	0,22 $\pm$ 0,02 ^b	174,34 $\pm$ 4,79 ^b	12,38 $\pm$ 1,80 ^{b,c}	170,65 $\pm$ 7,29 ^{b,c}	12,95 $\pm$ 1,21 ^a
İndometazin	27,31 $\pm$ 1,25 ^c	0,52 $\pm$ 0,06 ^a	191,08 $\pm$ 1,00 ^a	48,31 $\pm$ 12,70 ^a	229,34 $\pm$ 10,57 ^a	8,75 $\pm$ 0,04 ^b
Betanin 100+İndometazin	41,41 $\pm$ 4,66 ^b	0,23 $\pm$ 0,03 ^b	166,24 $\pm$ 7,95 ^{b,c}	13,75 $\pm$ 1,53 ^b	168,18 $\pm$ 8,55 ^c	8,57 $\pm$ 0,01 ^c
Betanin 200+İndometazin	49,71 $\pm$ 9,58 ^{a,b}	0,15 $\pm$ 0,00 ^c	154,66 $\pm$ 6,20 ^c	10,50 $\pm$ 0,89 ^{b,c}	164,20 $\pm$ 8,84 ^c	8,58 $\pm$ 0,05 ^c
Betanin 300+İndometazin	57,52 $\pm$ 7,16 ^{a,b}	0,14 $\pm$ 0,00 ^c	138,05 $\pm$ 15,71 ^c	8,81 $\pm$ 0,36 ^c	160,26 $\pm$ 2,92 ^c	8,59 $\pm$ 0,03 ^c
p*	0,002	0,001	0,004	0,001	0,001	0,001

*; Kruskall Wallis. COX-1; siklooksijenaz-1 (ng/ml), COX-2; siklooksijenaz-2 (ng/ml), TNF- α ; Tümör nekrozis faktör alfa (pg/ml), IL-1 α ; İnterlökin-1alfa (pg/ml), IL-6; İnterlökin-6 (pg/ml), PGE₂; prostoglandin E₂ (pg/ml),. ^{a, b, c}; Farklı harfler aynı sütunda istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir.

Tablo 14. İndometazin ile indüklenmiş ülser modelinde COX-1, COX-2, TNF- α , IL-1 α , IL-6 ve PGE₂ ELISA sonuçlarının gruplar arası farkın testi.

Karşılaştırılan Gruplar	Parametreler					
	COX-1	COX-2	TNF- α	IL-1 α	IL-6	PGE ₂
	p					
Kontrol ile Lansoprazol+İndometazin	0,263	0,242	0,389	0,103	0,067	0,210
Kontrol ile İndometazin	0,001*	0,003*	0,003*	0,000*	0,025*	0,000*
Kontrol ile Betanin 100+İndometazin	0,213	0,488	0,882	0,040*	0,021*	0,000*
Kontrol ile Betanin 200+İndometazin	0,450	0,000*	0,217	0,494	0,005*	0,000*
Kontrol ile Betanin 300+İndometazin	0,649	0,000*	0,344	0,981	0,002*	0,000*
Lansoprazol+İndometazin ile İndometazin	0,000*	0,000*	0,031*	0,001*	0,000*	0,002*
Lansoprazol+İndometazin ile Betanin 100+İndometazin	0,021*	0,629	0,474	0,653	0,610	0,000*
Lansoprazol+İndometazin ile Betanin 200+İndometazin	0,065	0,002*	0,039*	0,335	0,277	0,000*
Lansoprazol+İndometazin ile Betanin 300+İndometazin	0,503	0,000*	0,007*	0,098	0,171	0,000*
İndometazin ile Betanin 100+İndometazin	0,023*	0,000*	0,005*	0,002*	0,000*	0,003*
İndometazin ile Betanin 200+İndometazin	0,007*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
İndometazin ile Betanin 300+İndometazin	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,002*
Betanin 100+İndometazin ile Betanin 200+İndometazin	0,619	0,000*	0,168	0,161	0,560	0,423
Betanin 100+İndometazin ile Betanin 300+İndometazin	0,092	0,000*	0,275	0,038*	0,384	0,945
Betanin 200+İndometazin ile Betanin 300+İndometazin	0,229	0,507	0,768	0,479	0,771	0,464

Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi. Gruplar arası istatistiksel farkın önemliliği; * p<0,05. COX-1; siklooksijenaz-1 (ng/ml), COX-2; siklooksijenaz-2 (ng/ml), TNF- α ; Tümör nekrozis faktör alfa (pg/ml), IL-1 α ; İnterlökin-1alfa (pg/ml), IL-6; İnterlökin-6 (pg/ml), PGE₂; prostoglandin E₂ (pg/ml).

4.4.1. Plazma COX-1 Düzeyi

COX-1 düzeyi değerlendirildiğinde kontrol grubunda $49,67 \pm 4,53$ ng/ml seviyelerindeyken indometazin grubunda $27,31 \pm 1,25$ ng/ml seviyesine düşmüştür. Betaninin tüm dozlarını COX-1 düzeyi bakımından indometazin grubuna göre kıyasladığımızda istatistiksel olarak aralarında anlamlı farklılık bulunduğu ve betaninin doza bağlı olarak COX-1 düzeyini arttırdığı tespit edilmiştir. Bİ-100 grubunda COX-1 düzeyi bakımından lansoprazol grubuna göre kıyasladığımızda istatistiksel olarak aralarında anlamlı farklılık bulunduğu ($p=0,021$), Bİ-200 ve Bİ-300 grubunda ise lansoprazol grubuna göre kıyasladığımızda istatistiksel olarak aralarında anlamlı farklılık bulunmadığı görülmüştür (sırasıyla $p=0,065$ ve $p=0,503$).

4.4.2. Plazma COX-2 Düzeyi

COX-2 düzeyi değerlendirildiğinde kontrol grubunda $0,27 \pm 0,03$ ng/ml seviyelerindeyken indometazin grubunda $0,52 \pm 0,06$ ng/ml seviyesine yükselmiştir. Betaninin tüm dozlarını COX-2 düzeyi bakımından indometazin grubuna göre kıyasladığımızda istatistiksel olarak aralarında anlamlı farklılık bulunduğu ($p=0,001$) ve betaninin doza bağlı olarak COX-2 düzeyini düşürdüğü tespit edilmiştir. Bİ-100 grubunda COX-2 düzeyi bakımından lansoprazol grubuna göre kıyasladığımızda istatistiksel olarak aralarında anlamlı farklılık bulunmadığı ve değerlerin birbirine yakın olduğu, Bİ-200 ve Bİ-300 grubunda ise lansoprazol grubuna göre kıyasladığımızda düşük olduğu istatistiksel olarak aralarında anlamlı farklılık bulunduğu görülmüştür (sırasıyla $p=0,002$ ve $p=0,001$).

4.4.3. Plazma TNF- α Düzeyi

TNF- α düzeyi değerlendirildiğinde kontrol grubunda $164,70 \pm 8,70$ pg/ml seviyesindeyken indometazin grubunda $191,08 \pm 1,00$ pg/ml seviyesine yükselmiştir. Betaninin tüm dozlarını TNF- α düzeyi bakımından indometazin grubuna göre kıyasladığımızda istatistiksel olarak aralarında anlamlı farklılık bulunduğu ve betaninin doza bağlı olarak TNF- α düzeyini düşürdüğü tespit edilmiştir. Bİ-200 ve Bİ-300 gruplarında TNF- α düzeyi bakımından lansoprazol grubuna göre kıyasladığımızda istatistiksel olarak aralarında anlamlı farklılık bulunduğu (sırasıyla $p=0,039$ ve

p=0,007), sadece Bİ-100 grubu ile lansoprazol grubu arasında istatistiksel olarak aralarında anlamlı farklılık bulunmadığı görülmüştür (p=0,474).

4.4.4. Plazma IL-1 α Düzeyi

IL-1 α düzeyi değerlendirildiğinde kontrol grubunda 10,28 $\pm$ 2,15 pg/ml seviyesindeyken indometazin grubunda 48,31 $\pm$ 12,70 pg/ml seviyesine yükselmiştir. Betaninin tüm dozlarını IL-1 α düzeyi bakımından indometazin grubuna göre kıyasladığımızda istatistiksel olarak aralarında anlamlı farklılık bulunduğu ve betaninin doza bağlı olarak IL-1 α düzeyini düşürdüğü tespit edilmiştir (sırasıyla p=0,002, p=0,001 ve p=0,001). Bİ-300 grubunda en düşük IL-1 α seviyesi elde edilmesine rağmen, tüm betanin gruplarında IL-1 α düzeyi bakımından lansoprazol grubuna göre kıyasladığımızda istatistiksel olarak aralarında anlamlı farklılık bulunmadığı görülmüştür (p>0,05).

4.4.5. Plazma IL-6 Düzeyi

IL-6 düzeyi değerlendirildiğinde kontrol grubunda 183,70 $\pm$ 1,37 pg/ml seviyesindeyken indometazin grubunda 229,34 $\pm$ 10,57 pg/ml seviyesine yükselmiştir. Betaninin tüm dozlarının IL-6 düzeyi bakımından indometazin grubuna göre kıyasladığımızda istatistiksel olarak aralarında anlamlı farklılık olduğu (p=0,001) ve betaninin doza bağlı olarak IL-6 düzeyini düşürdüğü tespit edilmiştir. Tüm betanin gruplarında IL-6 düzeyi bakımından lansoprazol grubuna göre kıyasladığımızda istatistiksel olarak aralarında anlamlı farklılık bulunmadığı görülmüştür (p>0,05).

4.4.6. Plazma PGE₂ Düzeyi

PGE₂ düzeyi değerlendirildiğinde kontrol grubunda 17,26 $\pm$ 2,09 pg/ml seviyesindeyken indometazin grubunda 8,75 $\pm$ 0,04 pg/ml seviyesine düşmüştür. PGE₂ düzeyinin Bİ-100 grubunda 8,57 $\pm$ 0,01 pg/ml, Bİ-200 grubunda 8,58 $\pm$ 0,05 pg/ml, Bİ-300 grubunda 8,59 $\pm$ 0,03 pg/ml olduğu tespit edilmiştir. Betaninin tüm dozlarını PGE₂ düzeyi bakımından indometazin grubuna göre

kıyasladığımızda düşük olduğu ve istatistiksel olarak aralarında anlamlı farklılık bulunduğu (sırasıyla $p=0,003$, $p=0,001$ ve $p=0,002$) ve tüm betanin gruplarında PGE_2 düzeyi bakımından lansoprazol grubuna göre kıyasladığımızda düşük olduğu ve istatistiksel olarak aralarında anlamlı farklılık bulunduğu görülmüştür ($p=0,001$).

4.5. Deneysel Gruplara Ait Patolojik Bulgular

4.5.1. Deneysel Gruplara Ait Histopatolojik Bulgular

Kontrol grubundaki hayvanların mide doku örneklerinde herhangi bir histopatolojik değişikliğe rastlanmadı (Resim 7). Kontrol grubu ve diğer deneysel gruplara ait histopatolojik lezyonların skorları ve mikroskobik ülser alanları Tablo 15’de verilmiştir. Mide dokularının mikroskobik skorlamaları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında indometazin grubunda anlamlı olarak en yüksek düzeyde olduğu ve Bİ-100 grubuyla aralarında fark olmadığı görüldü ($p=0,471$). Fakat indometazin grubuyla karşılaştırıldığında Bİ-200 ve Bİ-300 gruplarında patolojik skorların istatistiksel olarak azaldığı belirlendi (sırasıyla $p=0,035$ ve $p=0,008$). Mide dokularının mikroskobik ülser alanları istatistiksel olarak kıyaslandığında indometazin ve Bİ-100 grubunda anlamlı olarak en yüksek olduğu kontrol ve lansoprazol+indometazin grubunda ise en düşük olduğu görüldü. Bİ-200 ve Bİ-300 grupları arasında anlamlı bir fark olmadığı ($p=0,607$), ancak indometazin grubu ile karşılaştırıldığında Bİ-200 ve Bİ-300 gruplarının ülser alanlarının istatistiksel olarak daha az olduğu belirlendi (sırasıyla $p=0,003$ ve $p=0,013$).

Tablo 15. Mide dokusunun patolojik skoru ve mikroskobik ülserlerin alan ölçüm sonuçları.

Gruplar	Skor	Mikroskobik ülser alanı (μm^2)
Kontrol	0,00 $\pm$ 0,00 ^e	0,00 $\pm$ 0,00 ^c
Lansoprazol+İndometazin	0,87 $\pm$ 0,12 ^d	180,51 $\pm$ 180,51 ^c
İndometazin	3,00 $\pm$ 0,00 ^a	86297,30 $\pm$ 38768,71 ^a
Betanin 100+İndometazin	2,75 $\pm$ 0,25 ^{a,b}	61018,25 $\pm$ 12797,49 ^a
Betanin 200+İndometazin	2,25 $\pm$ 0,36 ^{b,c}	23477,40 $\pm$ 11514,85 ^b
Betanin 300+İndometazin	2,12 $\pm$ 0,29 ^c	17103,47 $\pm$ 6823,28 ^b
p*	0,001	0,001

*; Kruskall Wallis. ^{a, b, c, d, e}; Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

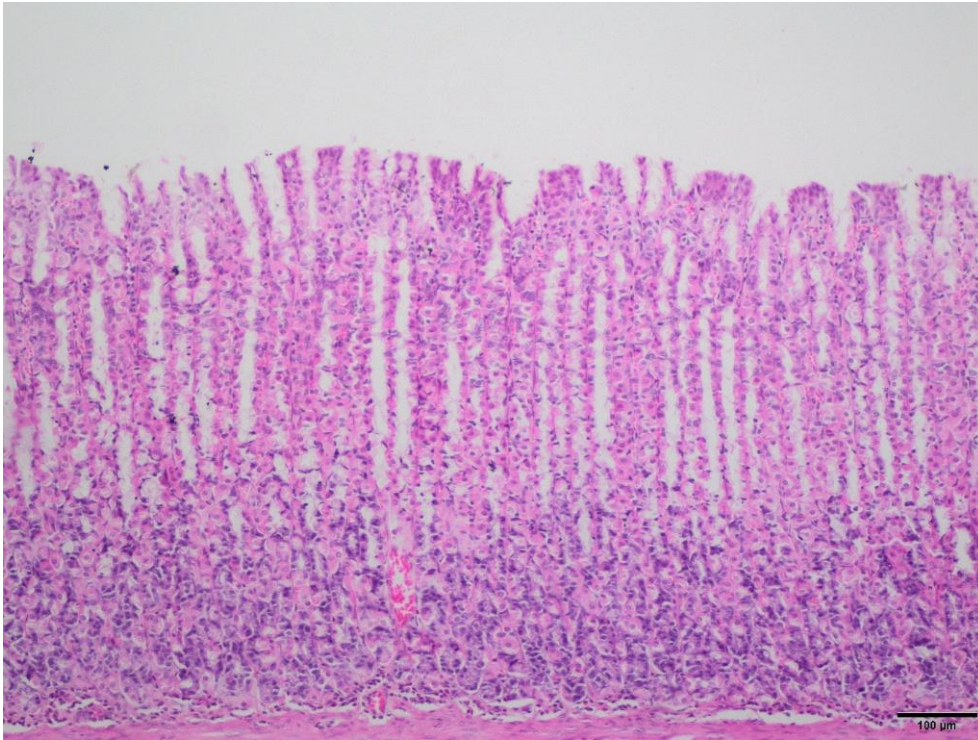
Lansoprazol+İndometazin grubunda hafif şiddette vasküler değişiklikler ile epitellerde hafif şiddette dejenerasyon ile nekroz görüldü (Resim 8). Sadece 3 olguda hafif eroziv değişiklikler görülürken hiçbir olguda ülser görülmedi. Histopatolojik lezyonlar değerlendirildiğinde, ülsera karşı koruyucu etkinlik beklenen Bİ-300 grubuna kıyasla lansoprazolün ülser oluşumuna karşı daha etkin olduğu görüldü.

İndometazin grubunda mide dokularında yüzey epitellerinde çok şiddetli dejeneratif/nekrotik değişiklikler mevcuttu (Resim 9). Genel olarak, şiddetli epitel hasarı ve kaybı sonucu mukozanın yaygın bir şekilde incelendiği görüldü. Olguların tümünde çok sayıda ülser odağı bulunurken bazı olgularda ülser odaklarının serozaya dek uzandığı dikkati çekti.

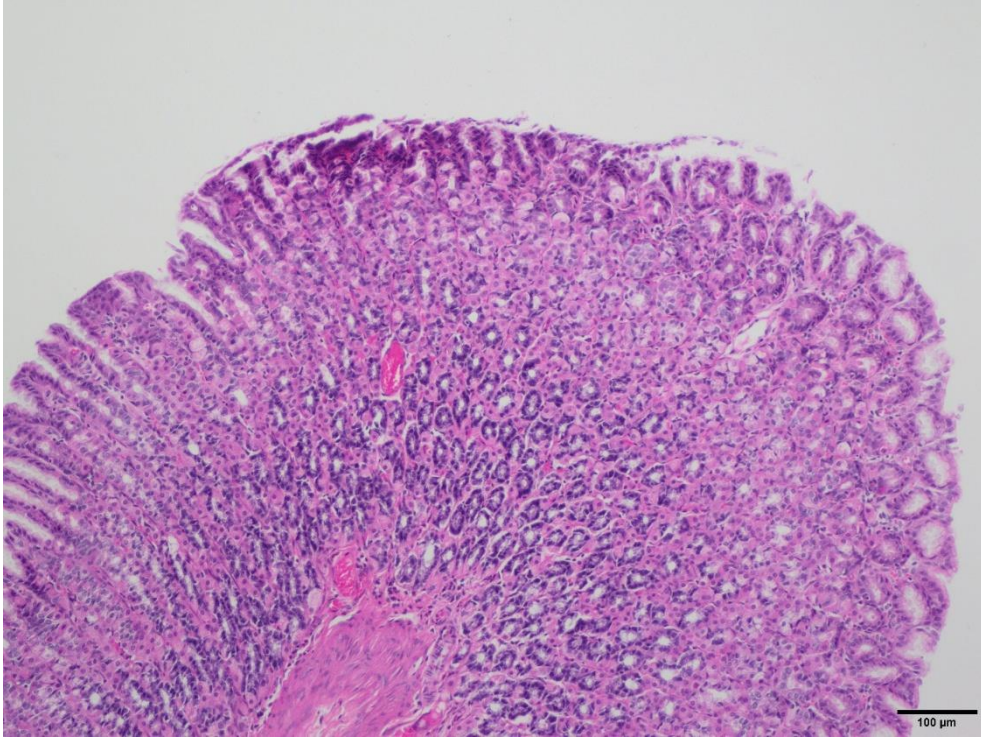
İndometazin ile indüklenmiş ve koruyucu olarak betanin uygulanan gruplar içerisinde en şiddetli histopatolojik lezyonlar Bİ-100 grubunda görüldü. 1 olgu dışında tüm ratların mide dokularında şiddetli vasküler değişikliklerin yanı sıra şiddetli dejenerasyon ve çok sayıda ülser odağı görüldü (Resim 10).

Bİ-200 grubunda belirlenen histopatolojik lezyonlar Bİ-300 grubundaki hayvanlarda benzer şekilde izlendi. Vasküler değişiklikler ve epitel dejenerasyonu ön plandayken ülser alanının birinde epitelizasyonun başladığı dikkati çekti (Resim 11).

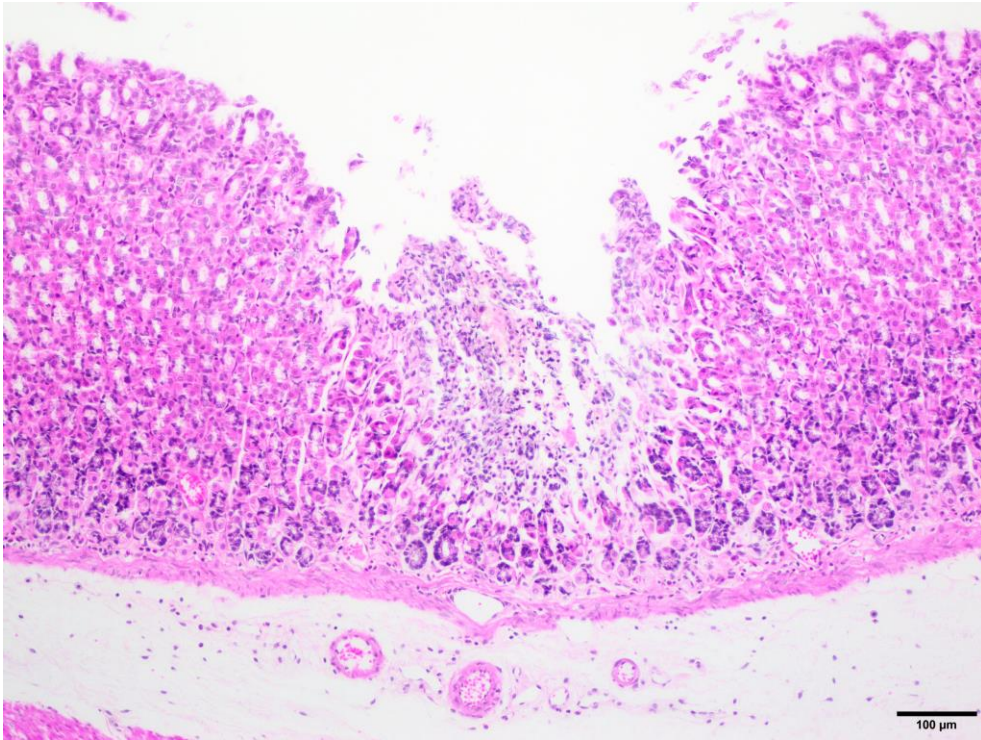
Bİ-300 grubunda submukozadaki damarlarda hiperemi ve interstisyumda ödem mevcuttu. İki olguda ise fokal kanama odaklarına rastlandı. Bu alanlarda az sayıda mast hücreleri görülürken, 1 olguda hafif şiddette mononükleer hücre infiltrasyonu belirlendi. Mukoza epitellerinde yer yer dejeneratif değişiklikler ile yüzeyde dökülmüş epitel hücreleri mevcuttu (Resim 12). Bu olgularda yüzey epitelinin bazı alanlarında az sayıda hücre grubunda nekrotik değişiklikler göze çarptı. 3 olguda birkaç adet ülser odağının olduğu belirlendi. Ülser oluşumunun çok şiddetli olduğu indometazin grubuna kıyasla antiülser etkinliği beklenen betanin gruplarının her birinin farklı derecelerde de olsa ülserle karşı etkili olduğu; en az doku hasarının Bİ-300 grubunda meydana geldiği belirlendi.



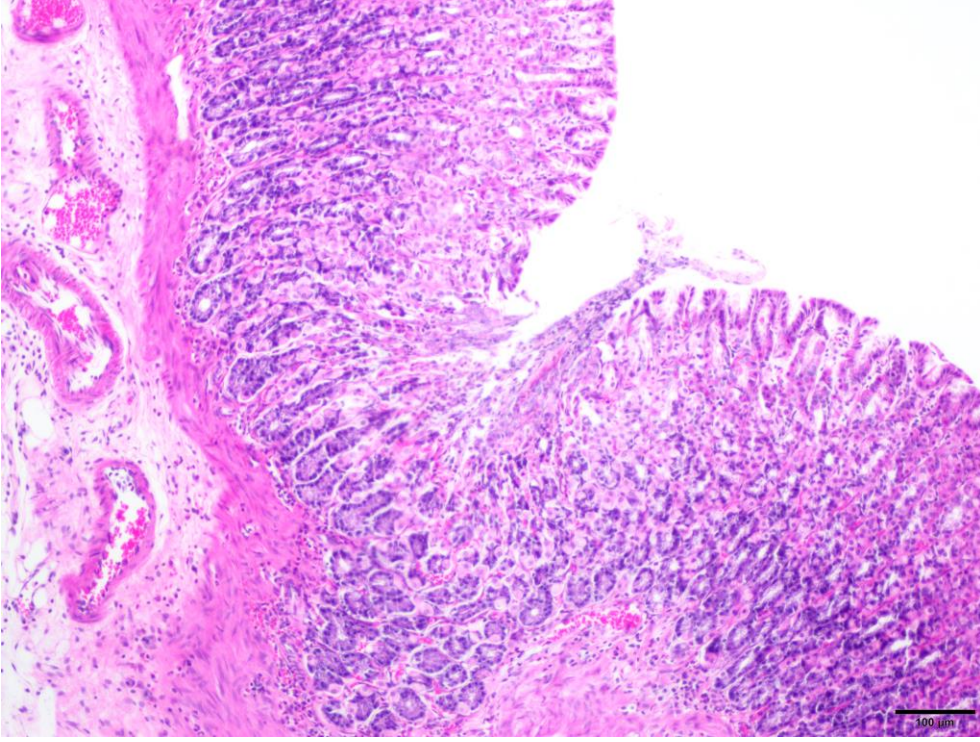
Resim 7. Herhangi bir lezyon görülmeyen mide dokusu, Kontrol grubu, H.E.



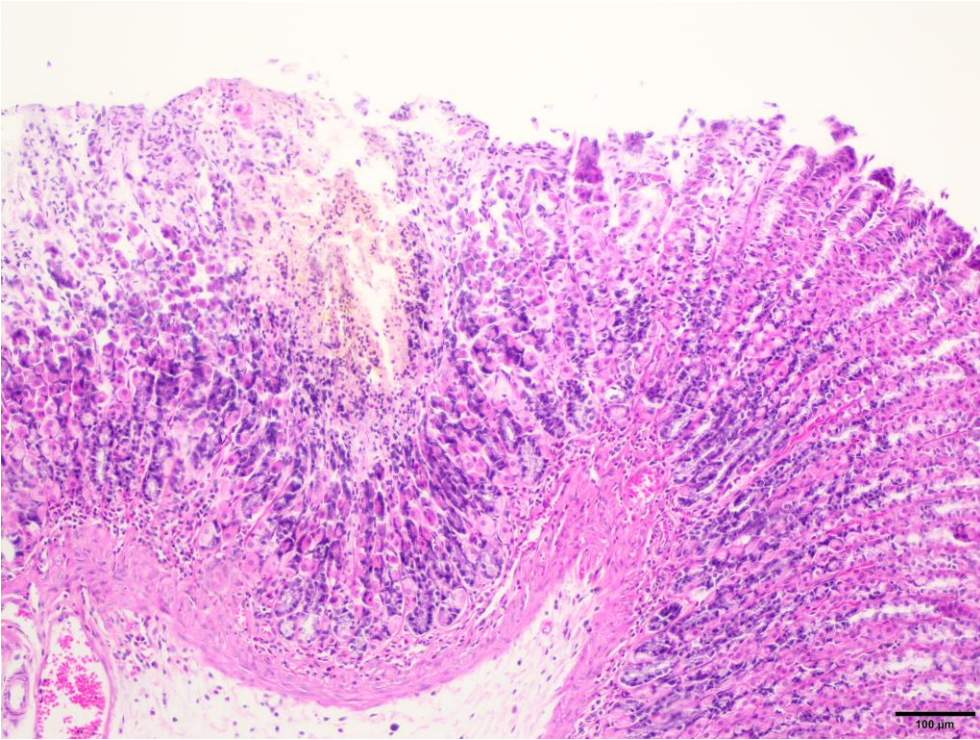
Resim 8. Mide mukozasının yüzeyinde sınırlı kalan hafif şiddette dejeneratif-nekrotik değişiklikler, Lansoprazol+indometazin grubu, H.E.



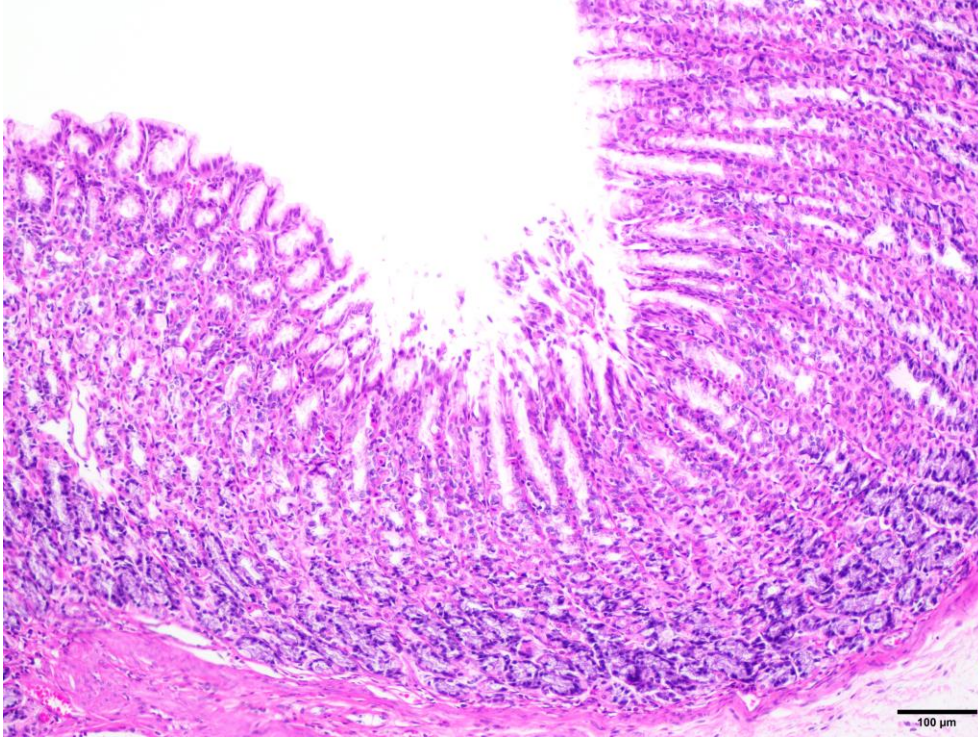
Resim 9. Mide mukozasında yüzey epitellerinde çok şiddetli dejeneratif/nekrotik değişiklikler, İndometazin grubu, H.E.



Resim 10. Mide mukozasında yüzey epitellerinde dejeneratif/nekrotik değişiklikler, Bİ-100 grubu, H.E.



Resim 11. Mukoza epitelinde dejeneratif/nekrotik değişiklikler ile birlikte kısmi rejeneratif sahalar. Bİ-200 grubu, H.E.

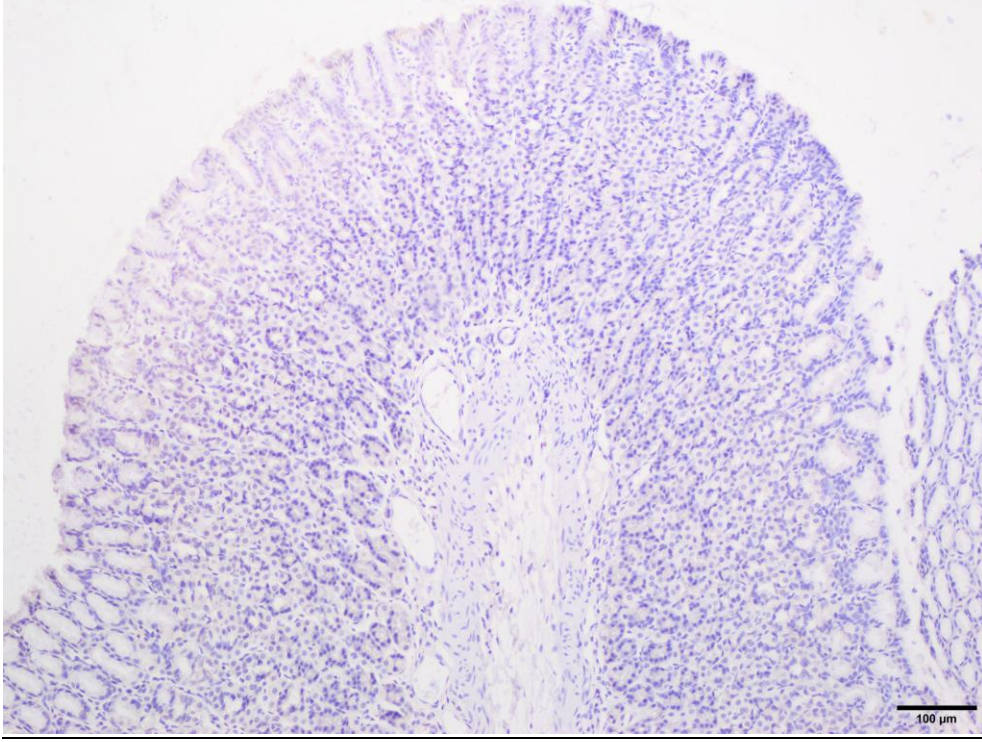


Resim 12. Mukoza epitellerinde yer yer dejeneratif değişiklikler ile yüzeyde dökülmüş epitel hücreleri. Bİ-300 grubu, H.E.

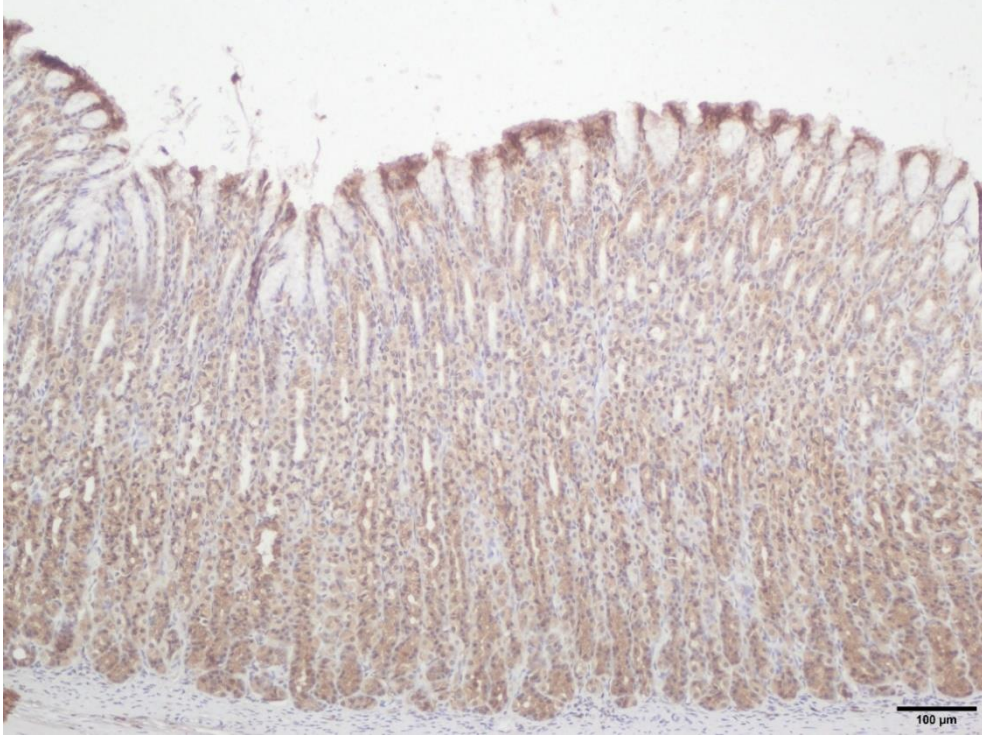
4.5.2. DeneySEL GrUplara Ait İmmunohistokimyasal Bulgular

Kontrol grubunda çok az sayıda epitel hücresinde çok zayıf kaspaz-3 immunreaksiyonu (Resim 13), nispeten fazla sayıda hücrede orta şiddette bcl-2 immunreaksiyonu elde edildi (Resim 14). İndometazin grubunda kaspaz-3 ekspresyonu özellikle ülser sahalarında dikkati çekti. Bu alanlarda ve bu alanların sınır komşuluğunda pozitif reaksiyon veren hücre sayısının ve boyanma şiddetinin yüksek olduğu belirlendi (Resim 15). Benzer sahalarda bcl-2 ekspresyonu çok zayıftı (Resim 16). Lansoprazol+indometazin grubunda kaspaz-3 ekspresyonu bakımından pozitif reaksiyon veren hücre sayısı ve immunpozitiflik yoğunluğu oldukça hafif şiddetteydi (Resim 17). Bcl-2 ekspresyonu ise mukozal hücrelerde şiddetli pozitifliği (Resim 18). Bİ-100 grubunda kaspaz-3 ekspresyonu diğer betanin gruplarına kıyasla daha fazlayken (Resim 19); bcl-2 ekspresyon seviyesinin az olduğu görüldü (Resim 20). Bİ-200 grubunda kaspaz-3 ekspresyonunun Bİ-100 grubuna göre daha az, bcl-2 ekspresyonunun ise Bİ-100'e göre daha fazla olduğu görüldü. Bİ-300 grubunda kaspaz-3 ekspresyonunun (Resim 21) hem immunpozitif hücre yoğunluğu hem de şiddeti açısından Lansoprazol+indometazin ve Bİ-200 gruplarına benzer olduğu;

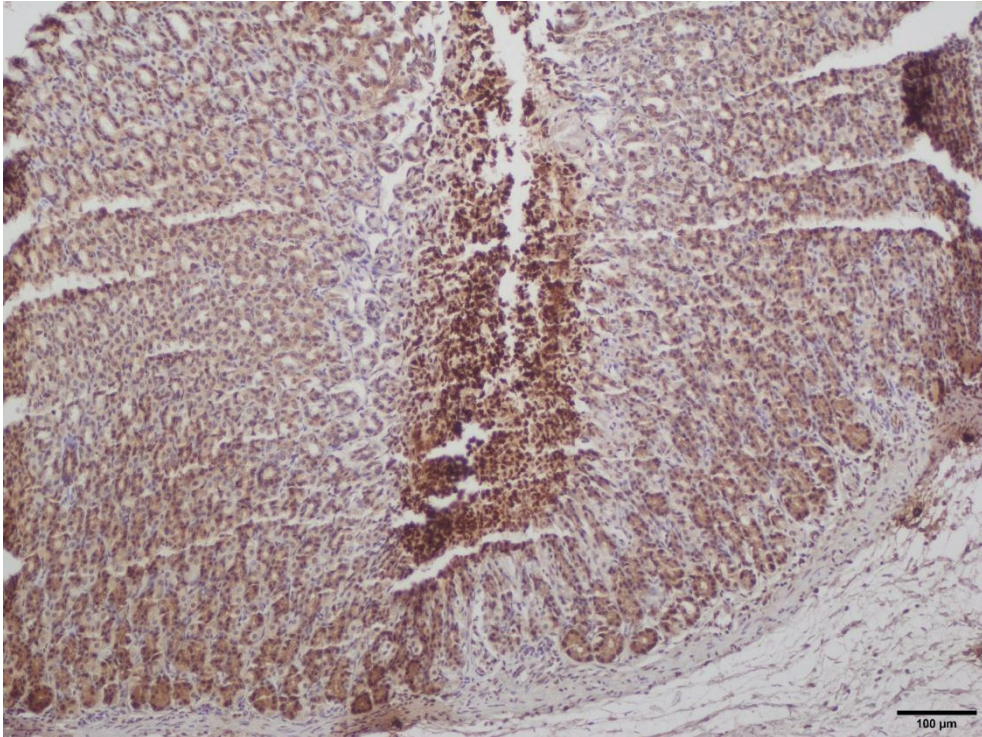
Lansoprazol+indometazin grubundaki bcl-2 ekspresyonuna yakın yoğunlukta immunpozitif reaksiyonlar elde edildi (Resim 22).



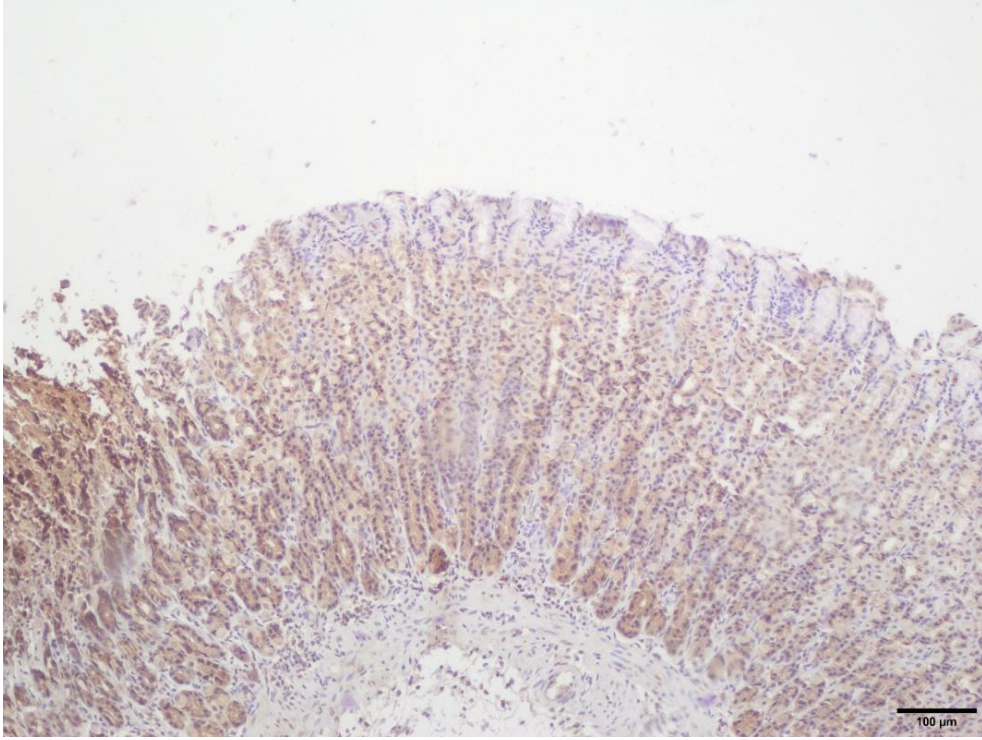
Resim 13. Lezyonsuz mukoza epiteli ve negatif ya da çok zayıf immunreaksiyonlar.
Kontrol grubu, Anti kaspaz-3, İmmunohistokimya, ABC Metot.



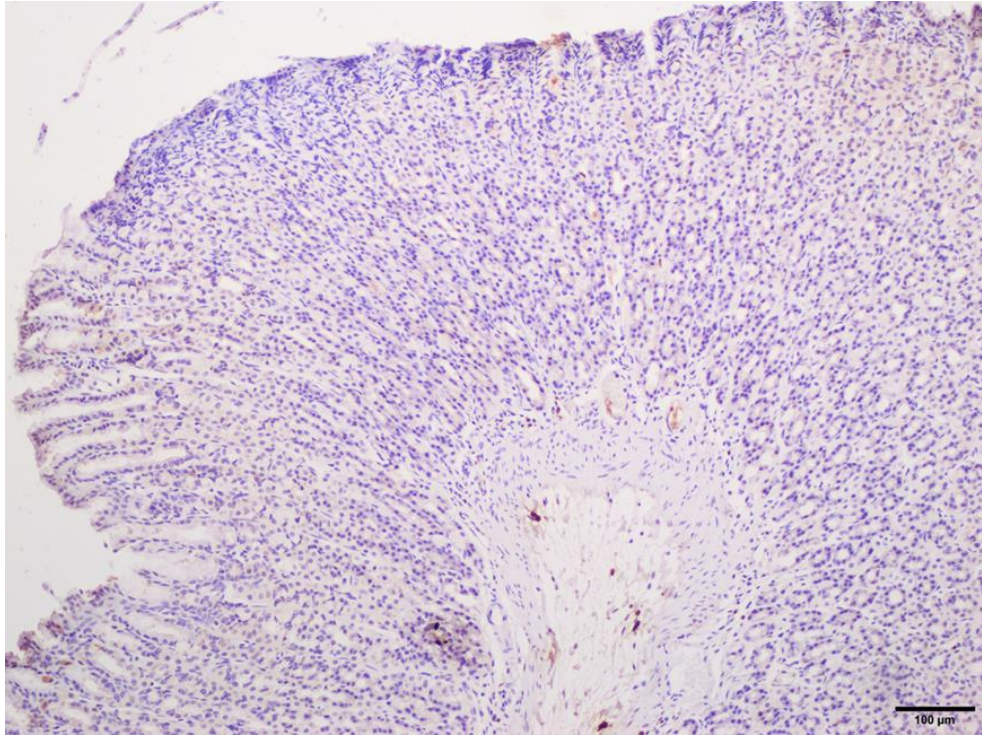
Resim 14. Lezyonsuz mukoza epitelinde pozitif immunreaksiyonlar. Kontrol grubu, Anti Bcl-2, İmmunohistokimya, ABC Metot.



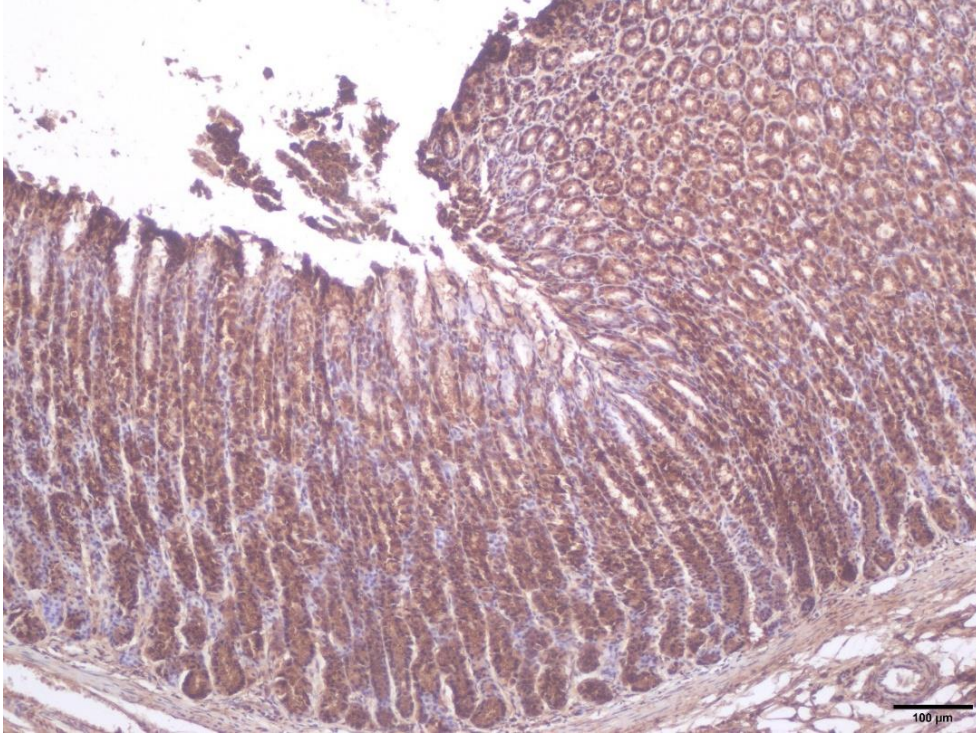
Resim 15. Derin ülser alanı ve sınır komşuluğundaki dokuda pozitif immunreaksiyonlar. İndometazin grubu, Anti kaspaz-3, İmmunohistokimya, ABC Metot.



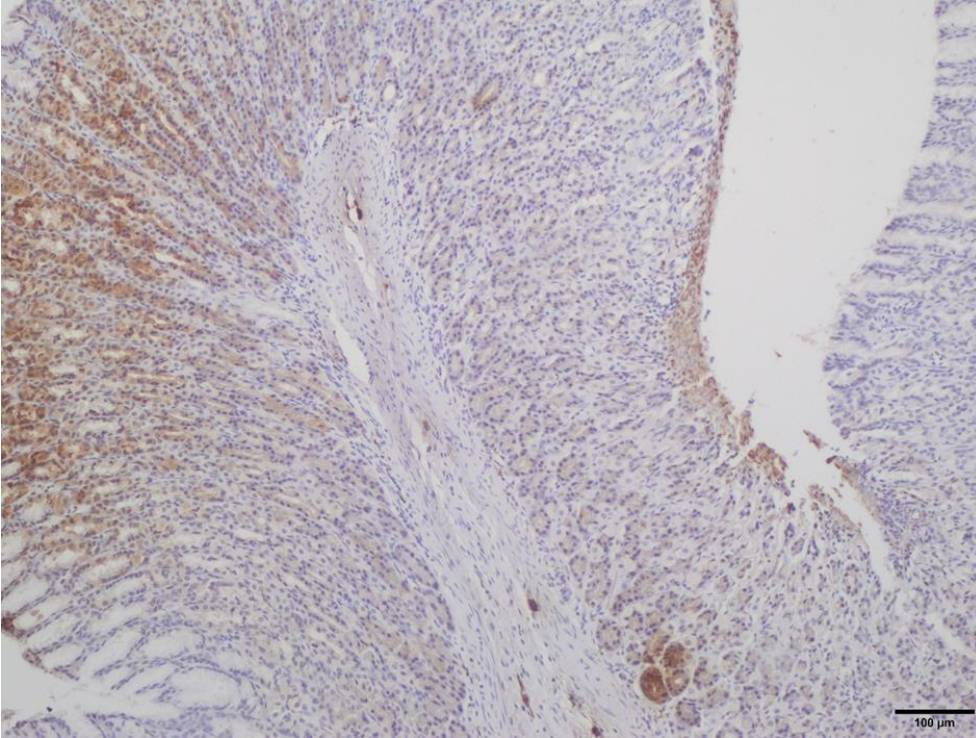
Resim 16. Ülser alanı ve sınır komşuluğundaki dokuda pozitif immunreaksiyonlar. İndometazin grubu, Anti Bcl-2, İmmunohistokimya, ABC Metot.



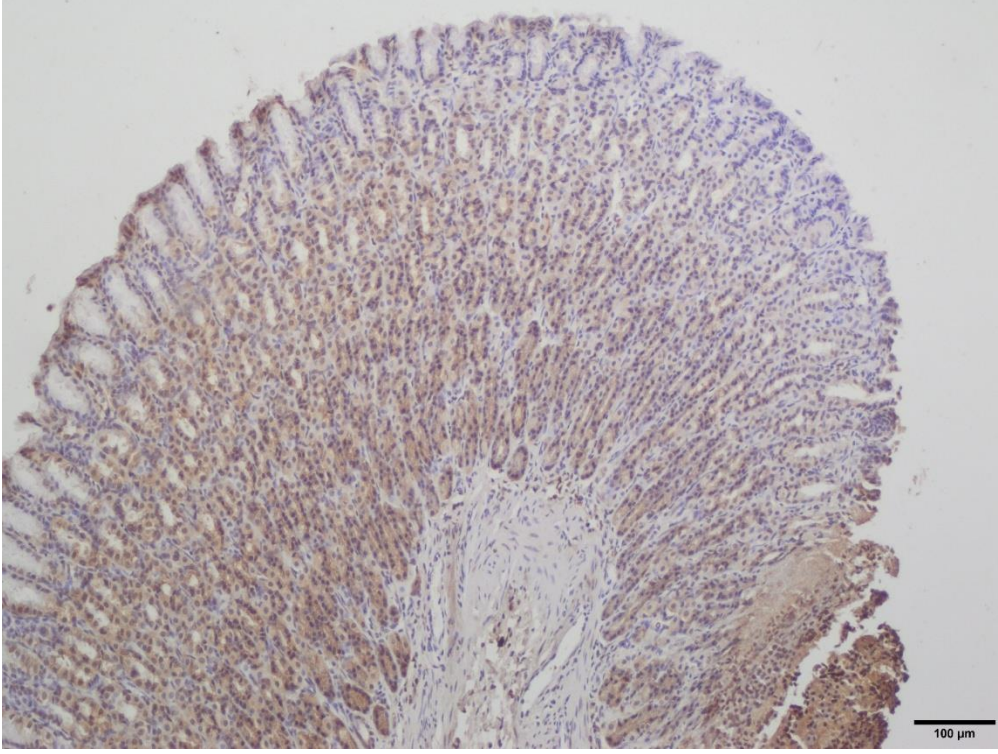
Resim 17. Mukoza yüzeyinde dejeneratif nekrotik saha komşuluğunda hafif şiddette pozitif immunreaksiyonlar. Lansoprazol+İndometazin grubu, Anti kaspaz-3, İmmunohistokimya, ABC Metot.



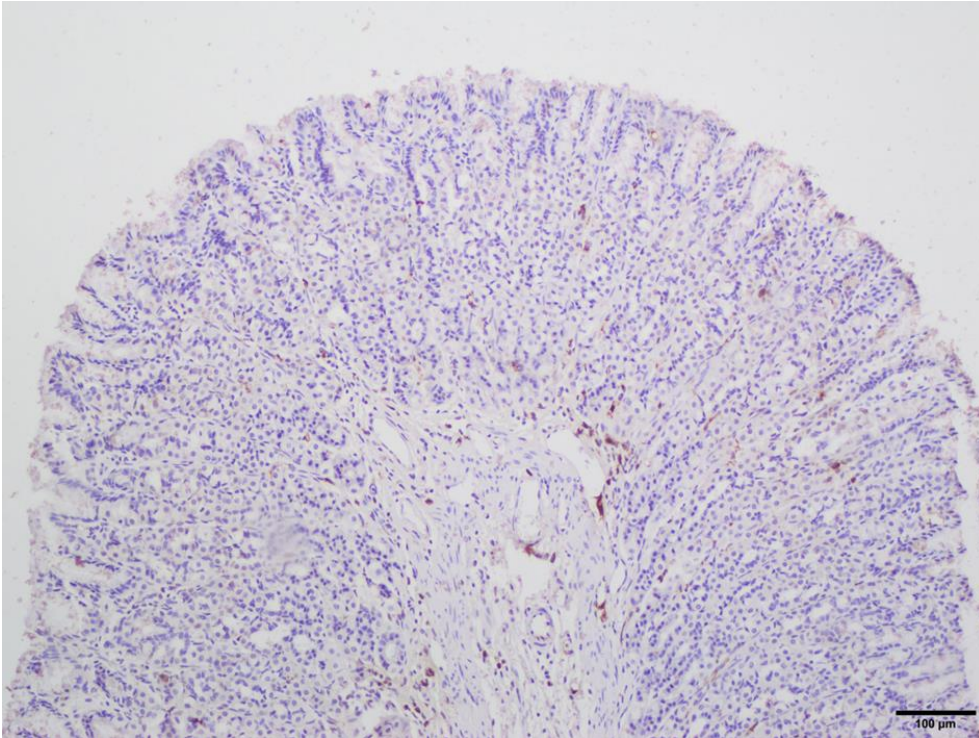
Resim 18. Dejeneratif-nekrotik saha komşuluğunda tüm mukozda görülen pozitif immunreaksiyonlar. Lansoprazol+İndometazin grubu, Anti Bcl-2, İmmunohistokimya, ABC Metot.



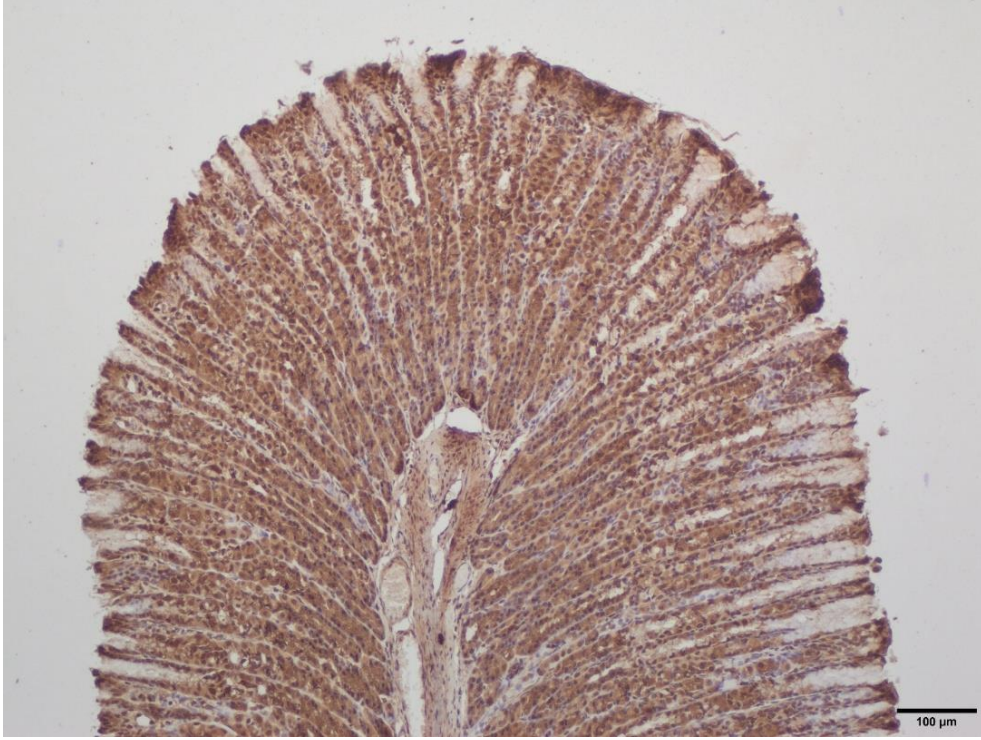
Resim 19. Kaspaz-3 ekspresyonunu gösteren immunpozitif hücreler, Bİ-100 grubu, Anti kaspaz-3, İmmunohistokimya, ABC Metot.



Resim 20. Bcl-2 ekspresyonunu gösteren immunpozitif hücreler, Bİ-100 grubu, Anti Bcl-2, İmmunohistokimya, ABC Metot.



Resim 21. Mukoza yüzeyinde hafif şiddette pozitif immunreaksiyonlar. Bİ-300 grubu, Anti kaspaz-3, İmmunohistokimya, ABC Metot.



Resim 22. Mukoza yüzeyinde güçlü ve yoğun pozitif immunreaksiyonlar. Bİ-300 grubu, Anti Bcl-2, İmmunohistokimya, ABC Metot.

5. TARTIŞMA

Dünya nüfusunun yaklaşık %10'unu etkileyen gastrik ülser, insan gastrointestinal sisteminde yaygın görülen hastalıklardan biridir. Gastrik ülserin başlıca sebepleri arasında stres, sigara, *H. pylori* enfeksiyonu ve steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçların sık kullanımı yer almaktadır (Gomaa ve diğerleri, 2018). Gastrik ülserlerin etiyojisi tam olarak anlaşılamamakla birlikte, gelişimindeki temel mekanizma koruyucu faktörler (epitelyal hücreler arasındaki sıkı bağlantılar, mikrosirkülasyon, bikarbonat üretimi, mukus salgılanması, yeterli prostaglandin ve nitrik oksit seviyeleri) ile agresif faktörler (artmış gastrik asit salınımı, pepsin aktivitesi, safra tuzu salınımı ve etanol) arasındaki dengenin bozulmasıdır. Gastrik ülserin patogenezi karmaşık olduğundan, gastrik mukozanın doğal savunma yeteneğini artıran, inflamasyonu ve mide asidi salgısını azaltarak tedavide kritik rol oynayabilecek güvenli, etkili ve toksik olmayan ajanların belirlenmesi araştırmaların odak noktası haline gelmiştir (Ermis ve diğerleri, 2023).

NSAİİ'lerin gastrik peroksidleri inhibe edip mukozal H₂O₂ ve hidroksil radikali seviyelerini artırarak lipid peroksidasyonuna ve mukozal hasara neden olabildiği ve hücresele antioksidan sistemleri bloke ederek ROT oluşumuna ve oksidatif hasara neden olduğu bildirilmiştir. Buna karşın organizmalar ROT toksisitesi ve doku hasarına karşı enzimatik ve enzimatik olmayan savunma mekanizmalarına sahiptir (Odabaşoğlu ve diğerleri, 2008).

Ratlarda indometazin ile oluşturulan ülser, gastrik ülserlerin patofizyolojisi ve farmakolojisi üzerine araştırmalar yapmak için standart bir model olarak kabul edilmektedir. İndometazinin mide mukozasında hasar yaptığı birçok araştırmada gösterilmiştir (Özbakiş Dengiz ve diğerleri, 2007; Gomaa ve diğerleri, 2018; Odabaşoğlu ve diğerleri, 2008; Polat ve diğerleri, 2011; Boyacıoğlu ve diğerleri, 2016).

Bu deneysel ülser modeli ilaçların veya bileşiklerin antiülser potansiyellerini ve etki mekanizmalarını belirleyebilmek için önemlidir. Çalışmamız kapsamında indometazin ile gastrik ülser oluşturulmuş ratlarda betaninin koruyucu etkileri araştırılmış olup mide dokusunun antioksidan (SOD, CAT, GSH) ve oksidan parametre (MDA) ile plazma inflamatuvar sitokinler (TNF- α , IL-1 α , IL-6) ve inflamasyon biyobelirteçleri (COX-1, COX-2, PGE₂) ve mide dokusundaki patolojik değişimler araştırıldı.

Saad ve diğerlerinin (2023) yaptığı bir çalışmada kırmızı pancar özütü, ülser alanları ve ülser indeksini azaltmış; 200 mg/kg, 400 mg/kg ve 800 mg/kg kırmızı pancar özütü takviyesi verilen ratlara iyileştirici indeksinin sırasıyla %78,1, %78,4 ve %78 oranında olduğu ve etanolün neden olduğu patolojik hasarı iyileştirdiği bildirilmiştir. Karampour ve diğerlerinin (2019) etanol ile indüklenmiş mide ülseri çalışmasında, ratlara koruyucu amaçla 50 mg/kg, 100 mg/kg ve 200 mg/kg dozlarında oral yolla betanin verilmiş olup çalışma sonucuna göre 100 mg/kg ve 200 mg/kg betanin gruplarında ülser alanlarının anlamlı olarak azaldığı, etanol grubuna göre daha küçük ve epitel ile sınırlı olduğu bildirilmiştir.

B. vulgaris köklerinin metanolik ekstraktının antiülser aktivitesinin pylorus ligasyonu, etanol ve soğuk kısıtlama stresi ile indüklenen ülserlere karşı etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada *B. vulgaris*'in metanolik ekstraktının uygulanması kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, ülser indeksinde anlamlı bir azalmaya yol açtığı ve lezyonları azalttığı bildirilmiştir. 200 mg/kg ve 400 mg/kg *B. vulgaris*'in metanolik ekstre uygulanan gruplarda pılör ligasyonu modelinde ülser inhibisyonu sırası ile %68,98 ve %100, etanol modelinde sırası ile %66,93 ve %96,94, soğuk stres modelinde her iki dozda da %100 olarak bildirilmiştir (Jagtap ve Deore, 2018).

Samyuktha ve diğerlerinin (2017) yapmış olduğu ve *B. vulgaris*'in etanolik kök ekstraktının ratlarda antiülser aktivitesinin değerlendirildiği bir çalışmada, pancar kökü ekstraktı, sitoprotektif etkinliği ile doza bağımlı olarak ülser indeksinin değerlerini etanol grubuyla ($39,21 \pm 1,49 \text{ mm}^2$) karşılaştırıldığında (200 mg/kg dozunda $26,21 \pm 0,86 \text{ mm}^2$ ve 400 mg/kg dozunda $20,12 \pm 1,89 \text{ mm}^2$) azaltmıştır. *B. vulgaris*'in etanolik ekstraktının çalışması değerlendirildiğinde, 400 mg/kg dozunda ülser iyileşmesinin yanında mukozanın normal olduğu ve inflamatuvar hücrelerin bulunmadığı gözlemlenmiştir. Hijazi ve diğerlerinin (2018) yaptığı benzer bir çalışmada 2 hafta boyunca günde oral yolla 100 mg/kg, 200 mg/kg ve 300 mg/kg betanin verilen ratlarda etanol uygulamasından 2 saat önce de aynı dozlarda betanin oral olarak verilmiş olup, betaninin mide ülserini sırası ile %34,27, %81,01 ve %88,25 oranında önlediği görülmüştür.

Saidi ve diğerlerinin (2023) yaptığı ve betalain açısından zengin ekstraktın (BZE) antiülser etkisinin araştırıldığı bir çalışmada 800 mg/kg dozunda pulp ve 800 mg/kg dozunda kabuk BZE takviyesinin, etanol ile indüklenmiş mide ülseri olan sıçanlarda, ülser indeksini %41 ve %68 oranında azalttığı bildirilmiştir. Çalışmamızda makroskobik bulgular değerlendirildiğinde indometazin uygulanan grupta mide dokusunda $43,90 \pm 7,32 \text{ mm}^2$ ülser alanı ölçüldü. İndometazin uygulaması öncesi 100 mg/kg, 200 mg/kg ve 300 mg/kg dozlarında betanin verilmesi, mide ülser alanlarını sırasıyla $18,83 \pm 4,51 \text{ mm}^2$, $11,32 \pm 2,60 \text{ mm}^2$ ve $9,38 \pm 3,47 \text{ mm}^2$ 'ye düşürdü. 100 mg/kg, 200 mg/kg ve 300 mg/kg betanin verilmesinin antiülseratif etkisinin sırasıyla %57,12, %74,21 ve

%78,63 oranında olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre betanin ile ülser sayısındaki azalma, önceki çalışmalarla uyumlu olup mide antioksidan kapasitesinin uyarılması, inflamasyonun baskılanması ve lipid peroksidasyonunun azalması ile ilişkili olabilir.

İndometazinin mide hasarının oluşumunda COX-1 enzim aktivitesini inhibe ederek oluşturduğu inflamatuvar etkisinin yanında ROT'un ve lipid peroksidasyonunun rolü de bulunmaktadır. Pro oksidanlar, mukozal hücrelerin antioksidan sistemlerini hızla bloke ederek ROT'un oluşumuna neden olur ve sonucunda oksidatif hasar meydana gelir. Ancak, organizmalar reaktif oksijen türlerinin zararlı etkilerine ve doku hasarına karşı enzimatik ve enzimatik olmayan savunma sistemleri geliştirmiştir. Bunlar SOD, CAT ve GSH bağımlı enzimler ve bu enzimatik savunma sistemlerinin bir parçasıdır (Odabaşoğlu ve diğerleri, 2008). SOD, GPx, glutatyon redüktaz ve heme oksijenaz-1 (HO-1) gibi antioksidan enzimlerin artışları, oksidatif stresle ilişkili gastrointestinal ülserlere karşı önemli bir etki mekanizması olabilir. HO-1, hem molekülünü biliverdin ve karbonmonoksit parçalayarak gastrointestinal hücreleri oksidatif hasardan korur ve bağırsak ile midede ROT indüksiyonunun ardından iltihabı ve doku hasarını baskılar (Cheng ve diğerleri, 2016).

Organizmalarda reaktif oksijen türlerinin neden olduğu hasarı önlemek amacıyla çeşitli antioksidan belirteçler bulunmaktadır. Bu antioksidan belirteçlerden başlıcaları SOD, GSH ve CAT enzimleridir. Bunlardan SOD enzimi, hücre içinde oluşan süperoksit radikallerini azaltarak bunları hidrojen peroksit dönüştürür. Ortaya çıkan H_2O_2 ise, CAT ve GPx enzimleri tarafından suya (H_2O) dönüştürülerek hücreye zarar verme potansiyeli olan bu molekül zararsız hale getirilir (Taşdemir ve Boyacıoğlu, 2019).

CAT, peroksizomlarda bulunur ve H_2O_2 'i suya ve oksijene çevirir. İndometazinin neden olduğu oksidatif strese bağlı olarak CAT aktivitesi artabilir. Polat ve diğerlerinin (2011) yaptığı bir çalışmada ratlardaki indometazin ile indüklenmiş mide ülserinde deksmedetomidinin antiülseratif etkisine bakıldığında indometazin ile CAT aktivitesinin arttığı, SOD aktivitesinin düştüğü, famotidin ve deksmedetomidinin tüm dozlarının CAT aktivitesini önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir. Boyacıoğlu ve diğerlerinin (2016) ratlardaki indometazin ile indüklenmiş mide ülseri çalışmasında indometazin uygulamasıyla sıçanların mide dokularında CAT aktivitesi yükselmiş, SOD aktivitesi azalmış iken hem likopen uygulaması ve hem de lansoprazol uygulanmasıyla CAT aktivitesi azalmış, SOD aktivitesi ise yükselmiştir. Odabaşoğlu ve diğerlerinin (2008) yaptığı indometazinin sıçanlarda oluşturduğu inflamasyon ve gastrointestinal etkileri çalışmasında indometazin ile SOD aktivitesinin düştüğü bildirilmiştir. Özbakış Dengiz ve

diğerleri (2007)'nin yaptığı bir çalışmada indometazin uygulanan dokularda CAT aktivitesi artmış, SOD aktivitesi azalmıştır.

Çalışmamızda indometazin grubunda kontrol grubuna göre SOD aktivitesi anlamlı olarak azalmış ve CAT aktivitesi de anlamlı olarak yükselmiştir. Tüm betanin gruplarında ise indometazin grubuna göre anlamlı olarak SOD aktivitesi yükselmiş ($p<0,05$), CAT aktivitesi ise Bİ-200 ve Bİ-300 gruplarında indometazin grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır (sırasıyla $p=0,009$ ve $p=0,006$). İndometazin ile CAT aktivitesindeki bu artışın, süperoksit radikallerini nötralize etmek amacıyla olabileceği ve ayrıca süperoksit radikallerinin asidik pH (4,8) koşullarında H_2O_2 ve peroksil radikallerine dönüşüp indometazin uygulanan sıçanların mukozal dokularında SOD aktivitesinin reaktif O_2 radikalini H_2O_2 'ye dönüştürmek için yetersiz kalmış olabileceği düşünülmektedir. Betanin gruplarında SOD aktivitesinin yükselmesinin nedeni betaninin indometazin ile yükselen süperoksit radikalini etkisiz hale getirme potansiyeli bulunması olabilir.

Han ve diğerlerine (2014) göre paraquat kaynaklı karaciğer hasarında betaninin etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada paraquat grubuna kıyasla betaninin SOD aktivitesini artırdığı bildirilmiştir. Da Silva ve diğerlerine göre (2019), hiperlihidemik diyetle beslenen sıçanlarda karaciğer dokusunda değişiklikler ve antioksidan enzim aktivitelerinin değerlendirildiği bir çalışmada, betaninin SOD enzim aktivitesini artırdığı bildirilmiştir. Saidi ve diğerlerinin (2023) yaptığı ve betalain açısından zengin ekstraktın antiülser etkisinin araştırıldığı bir çalışmada 800 mg/kg dozunda pulp ve 800 mg/kg dozunda kabuk BZE takviyesinin SOD enzim aktivitesini artırdığı bildirilmiştir.

GSH en güçlü hücrel antioksidandır (Tesoriere ve diğerleri, 2004). Dokulardaki GSH ve GSH'a bağlı enzimlerin antioksidan ve detoksifikasyon özellikleri ile mide dokusunda yüksek yoğunlukta bulunduğu ayrıca indometazin kaynaklı doku hasarını kontrol etmede koruyucu etkiler sunduğu ve yapılan çalışmalarda indometazin uygulanmış gastrik dokularda bu antioksidan parametrelerin seviyelerinin düştüğü, mide hasarı ve lipid peroksidasyonu olduğu bildirilmiştir (Özbakış Dengiz ve diğerleri, 2007; Odabaşoğlu ve diğerleri, 2008; Polat ve diğerleri, 2011). GSH seviyesindeki düşüş, hücreyi oksidatif zarara karşı daha hassas hale getirirken GSH'a bağlı kritik biyokimyasal süreçlerin işleyişini de sekteye uğratar. Detoksifikasyon ve oksidatif stresle mücadelede GPx ve glutatyon transferaz (GST) gibi enzimler, GSH'u bir kofaktör olarak kullanmakta olup GSH ayrıca C ve E vitaminleri gibi önemli nonenzimatik antioksidanların yeniden aktif hale getirilmesinde de görev alır (Valko ve diğerleri, 2007). Yapılan araştırmalarda elde edilen bulgular ülser oluşumunun mide dokusundaki GSH düzeylerinde azalmaya yol açtığı

ve antioksidanlar ile bitki ekstraktlarının mide dokusundaki GSH seviyeleri üzerinde belirleyici bir etkisi olduğu bildirilmiştir (Chattopadhyay ve diğerleri, 2006; Lee ve diğerleri, 2014).

Çalışmamızda indometazin grubuna göre tüm betanin gruplarında GSH düzeyinin doza bağlı olarak anlamlı düzeyde arttığı tespit edilmiştir (sırasıyla $p=0,002$, $p=0,001$ ve $p=0,001$). Bunun nedeni indometazin tarafından arttırılan ROT için betaninin bu ROT'u nötralize ederek GSH tüketimini azaltıp ayrıca glutatyon redüktaz enziminin artışına yol açması olabilir. Çalışmamızla uyumlu olarak Arslan Acaröz (2022) tarafından yapılan ve sodyum florür ile oksidatif stres oluşturulan ratlarda betaninin koruyucu etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada betanin uygulaması ile sodyum florür grubuna kıyasla kalp, karaciğer, akciğer, böbrek, beyin, testis doku ve kan örneklerinde GSH düzeyinin yükseldiği bildirilmiştir. Han ve diğerlerine (2014) göre paraquat kaynaklı karaciğer hasarında betaninin etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada paraquat grubuna kıyasla betaninin GSH seviyesini arttırdığı bildirilmiştir. Al-Bishri ve diğerlerine (2025) göre etanol ile indüklenen gastrik mukoza hasarına karşı kırmızı pancar ekstraktının GSH düzeyini arttırdığı bildirilmiştir.

MDA, lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak incelenmiş ve *H. pylori* enfeksiyonunun mide mukozasında oksidatif stres oluşturduğu, bunun da lipid peroksidasyonuna yol açarak MDA düzeylerini artırdığı belirtilmiştir (Santra ve diğerleri, 2000). İndometazin tarafından indüklenen ratların mide dokularında MDA düzeyinin yükselmesi ve SOD aktivitesinin azalmasının nedeni lipid peroksidasyonu ve mukozal hasara yol açan serbest radikal üretimi ile ilgilidir. Serbest radikaller antioksidan enzim aktivitelerini engeller ve lipid peroksidasyonunu başlatır (Odabaşoğlu ve diğerleri, 2006).

Çalışmamızda indometazin ile yükselen MDA düzeyinin Bİ-100, Bİ-200 ve Bİ-300 gruplarında anlamlı olarak düştüğü, en fazla düşüşün Bİ-300 grubunda olduğu ($p=0,001$) görülmüştür. Gastrik dokuda MDA seviyesinin Boyacıoğlu ve diğerlerine (2016) göre indometazin uygulamasına yanıt olarak ROT'un aşırı üretimine bağlı arttığı, çalışmamızda betanin gruplarında MDA düzeyinin düşmesinin nedeni ise betaninin serbest radikalleri doğrudan nötralize etmesiyle oksidatif stresi önleyerek lipid peroksidasyonu azaltması olabilir. Çalışmamızla uyumlu olarak Wu ve diğerlerinin (2023) betaninin farelerde lipopolisakkarit (LPS) kaynaklı akut akciğer hasarına karşı inflamatuvar yanıt ve oksidatif strese etkisinin araştırıldığı bir çalışmada *in vitro* LPS kaynaklı RAW 264.7 hücrelerinde ve akut akciğer hasarlı farelerde betanin ile MDA seviyesinin düştüğü bildirilmiştir. Karampour ve diğerlerinin (2019) yapmış olduğu çalışmada etanol ile indüklenen gastrik ülser çalışmasında betaninin MDA düzeyini düşürdüğü bildirilmiştir. Han ve diğerlerine (2014) göre paraquat kaynaklı karaciğer hasarında betaninin etkilerinin araştırıldığı bir

çalışmada paraquat grubuna kıyasla betaninin MDA düzeyini düşürdüğü bildirilmiştir. Al-Bishri ve diğerlerine (2025) göre etanol ile indüklenen gastrik mukoza hasarına karşı kırmızı pancar ekstraktının MDA düzeyini düşürdüğü bildirilmiştir. Da Silva ve diğerlerine göre (2019), hiperlipidemik diyetle beslenen sıçanlarda karaciğer dokusunda değişiklikler ve antioksidan enzim aktivitelerinin değerlendirildiği bir çalışmada, betanin alımının MDA düzeyini düşürdüğü bildirilmiştir.

NF- κ B, bir transkripsiyon faktörü olup, doğuştan gelen bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde rol oynayan ve aynı zamanda genel mitokondriyal işlevlere katkı sağlayan önemli bir unsur olarak kabul edilmektedir (Sheu ve diğerleri, 2024). Oksidatif stres ve inflamasyon birbirleriyle yakından ilişkili olup oksidatif stres ve ROT, ölmekte olan hücrelerden salınan moleküllerin bağışıklık sistemi tarafından tanınmasıyla inflamasyonu tetikler. Bu süreçte, aktif nötrofiller, makrofajlar ve granüositler ROT salgılar ve böylece ROT ve diğer faktörler inflamatuvar lökositleri uyarak NF- κ B'nin aktivasyonuna yol açar. Bu aktivasyon, inflamatuvar ve doğuştan gelen bağışıklık tepkilerini düzenleyen genlerin yanı sıra inflamatuvar kemokinler ve sitokinleri, ayrıca COX-2 ve İNOS gibi molekülleri kodlayan genlerin ekspresyonunu yönetir (Tan ve diğerleri, 2015).

Önceki bir araştırma bulgularında kırmızı pancar betalainlerinin gentamisin kaynaklı NF- κ B, TNF- α ve IL-6 seviyelerindeki artışı engellediğini ve betalainlerin inflamasyonun başlangıcına yol açan sitokinlerin üretimini azalttığı ve betalainlerin lipooksijenaz ve COX-2 gibi enzimlerin faaliyetlerini inhibe etme yeteneğine sahip olduğunu göstermiştir (Esatbeyoglu ve diğerleri, 2015). Başka bir çalışmada, kırmızı pancar özütünün mide inflamasyonu ile ilişkili önemli enzimleri, özellikle COX'u, COX'un aktif bölgesine yakın olan Tyr-385 ve Ser-530 kalıntılarıyla etkileşerek inhibe edebileceği belirtilmiştir. Betalainlerin antiinflamatuvar etkisi, interselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) gibi inflamasyonu tetikleyen hücrel medyatörlere karşı olan etkileriyle de açıklanabilir; bu molekül, betalainler tarafından önemli ölçüde baskılanmaktadır (Saad ve diğerleri, 2023).

Çalışmamızda, indometazin grubuna göre betaninin doza bağlı olarak COX-1 düzeyini arttırdığı tespit edilmiştir. İndometazin grubunda mide hasarı sonucu COX-2 seviyesinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yükseldiği gözlemlenmiştir ($p=0,003$). Betanin uygulaması ile doza bağlı olarak COX-2 düzeyi düşmüştür ($p<0,05$). Bu durumda betaninin antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerinin olduğu ve COX-2'yi seçici olarak inhibe etme yeteneğinin bulunduğu ve betaninin NF- κ B aktivasyonunu inhibe ederek COX-2 düzeyini düşürdüğü düşünülmektedir. Oksidatif stresin azalması COX-2 ekspresyonunun veya aktivitesinin azalmasına da yol açabilir

(Silva ve diğerleri, 2022). Çalışmamızla uyumlu olarak Reddy ve diğerlerinin (2005) yaptığı bir çalışmada betaninin, *in vitro* olarak COX-2'yi %97 oranında inhibe ettiği görülmüştür. Tan ve diğerlerinin (2015) yaptığı bir çalışmada betanin, *Sprague dawley* sıçanlarının böbreklerinde akut oksidatif stres ve inflamasyon modelinde COX-2 üzerinde inhibitör etki göstermiştir. Wu ve diğerlerinin (2023) yaptığı çalışmada betanin ile COX-2 düzeyinin düştüğü bildirilmiştir.

İnflamasyon proinflamatuvar sitokinlerin (IL-6, TNF- α) ve antiinflamatuvar mediyatörlerin (IL-10 gibi) salınımı ile tanımlanabilen karmaşık bir bağışıklık süreci olup, akut inflamasyon ilk risk faktörlerinin saldırısına yanıt olarak gerçekleşir, risk faktörleri ortadan kalkarsa akut yanıt da ortadan kalkar, eğer kalkmaz ise akut yangı böylece kronik hale geçer (Hijazi ve diğerleri, 2018). İnflamasyon ve sitokinler arasındaki ilişkiyi gösterebilmek için yapılan bir çalışmada inflamasyon ile etanol kaynaklı gastrik ülser hasarının seyri arasında ilişki ortaya konulmuştur. Etanolün makrofajlar tarafından IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretilmesini başlatan inflamatuvar yanıtı başlattığı ve bunun sonucu inflamasyon bölgesinde nötrofillerin birikmesini teşvik ederek konneksinin parçalanmasına ve mukozal bariyerin tahrip olmasına yol açtığı görülmüştür. Bu proinflamatuvar sitokinler ayrıca oksijen kaynaklı serbest radikallerin miktarını artırabilir ve böylece gastrik ülserlerin oluşumunu kolaylaştırabilir (Zhou ve diğerleri, 2020). Yapılan başka bir çalışmada indometazinin TNF- α , IL-6, IL-1 β , NF- κ B düzeylerini arttırarak gastrik hasara yol açtığı bildirilmiştir (Alfadil, 2024).

Bizim çalışmamızda sitokinlerden plazma TNF- α , IL-1 α ve IL-6 düzeyleri kontrol grubuna göre indometazin grubunda anlamlı olarak yükselmiş ve Bİ-100, Bİ-200 ve Bİ-300 gruplarında indometazin grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır ($p<0,05$). Böylece betanin uygulamasının inflamatuvar belirteçleri azalttığı ve güçlü antiinflamatuvar özellik gösterdiği görüldü. Bu sonuçlar betaninin mide ülserlerine karşı inflamatuvar yanıtı baskılayarak koruyucu bir etki gösterdiğini ve inflamasyon ile ilişkili doku hasarını hafifletmedeki potansiyel terapötik değerini vurgulamaktadır. Bunun nedeni betaninin sitokin üretimindeki etkisinden dolayı NF- κ B aktivasyonunu inhibe etmesi olabilir. Çalışmamızla uyumlu olarak Silva ve diğerlerine (2022) göre subkutan ve oral olarak erkek swiss farelere uygulanan betanin, inflamatuvar sitokinlerden TNF- α ve IL- β düzeyini düşürmüştür. Wu ve diğerlerine (2023) göre betanin'in LPS'ye maruz kalan RAW 264.7 hücrelerinde proinflamatuvar sitokin düzeylerine etkisinin araştırıldığı *in vitro* bir çalışmada kontrol hücreleriyle karşılaştırıldığında, betanin ile IL-6, IL-1 β ve TNF- α düzeylerinde anlamlı bir azalma olduğu gözlenmiştir. Al-Bishri ve diğerlerine (2025) göre etanol ile indüklenen gastrik mukoza hasarına karşı siklodekstrin modifiye sulu kırmızı pancar ekstraktının olası koruyucu etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, kırmızı pancar ekstraktının TNF- α ve IL-6 düzeylerindeki

artışları anlamlı şekilde azalttığı bildirilmiştir. Benzer olarak Pietrzkowski ve arkadaşlarına (2010) göre osteoartrit ile ilişkili rahatsızlıklar ve iltihap göstergeleri üzerine kırmızı pancar ekstraktının kapsüllerinin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada kırmızı pancar ekstraktının TNF- α ve IL-6 seviyesini azalttığı bildirilmiştir.

Serbest radikal oluşumunun artışı, inflamatuvar sitokinlerin özellikle TNF- α gibi aşırı üretimin yanında PGE₂ sentezinin baskılanması indometazin ile oluşan gastrik ülserlerin patogenezinde etkili olmaktadır (Gomaa ve diğerleri, 2018). Laboratuvar hayvanlarında yapılan deneyler, COX-1'e bağımlı PGE₂ azalmasının mide mukozal kan akışında bir azalmaya neden olduğunu, COX-2 inhibisyonunun ise lökosit yapışmasını arttırdığını göstermiştir (Wallace ve diğerleri, 2000). İndometazinin, mukozal PGE₂ azalmasıyla gastrik mukozal hasara yol açtığı bilinmektedir. Gastrik hasarın güçlenmesindeki altta yatan mekanizmalar, mukozal savunma parametreleri, PGE₂ ve GSH seviyelerinde belirgin bir azalma ve proinflamatuvar sitokin, TNF- α 'da önemli bir artış ve nötrofillerin birikimi/infiltrasyonu ile ilişkilidir (Alp Yildirim ve diğerleri, 2015).

Mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK), hücre içi bilgi iletiminin ortak yolu olarak sinyal iletim sürecinde görev alır ve aktivasyonu, çeşitli toksik maddelerin neden olduğu hasar ve yangı süreçlerinde kritik bir rol oynar. Sinyal kaskadlarının aktive edilmesiyle birlikte ekstraselüler sinyalle düzenlenen kinaz (ERK) ve p38-MAPK çekirdeğe geçiş yapar ve ardından çekirdek içerisindeki transkripsiyon faktörü NF- κ B fosforilasyona uğrayarak yangı ile ilişkili genlerin salınmasını düzenler (Chang ve diğerleri, 2015). Üç temel MAPK yolu bulunmakta olup bunlar ERK, jun N-terminal kinaz (JNK) ve p38-MAPK kaskadlarıdır. Bu üç ana MAPK yolunun her birinin aktivasyonu COX-2 mRNA ve protein sentezini indükler (McGinty ve diğerleri, 2000).

LPS'in indüklediği ve betanin ile NF- κ B ve MAPK sinyal yollarının inhibisyonu yoluyla verilen inflamatuvar yanıtların araştırıldığı *in vitro* bir çalışmada, RAW 264.7 hücrelerinde 1-50 μ M arasındaki konsantrasyonda betanin içeren kültür ortamında PGE₂ ve COX-2 düzeylerinin konsantrasyona bağlı olarak belirgin olarak azaldığı ve betaninin proinflamatuvar mediatörlerin üzerindeki etkilerini anlamak için betanin ile ön işleme tabi tutulmuş hücrelerin 10 ve 50 μ M'de IL-6 ekspresyonunu ise önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir. Betanin uygulanan hücrelerde, yalnızca LPS ile uyarılmış hücrelere kıyasla NF- κ B'nin transkripsiyon düzeyi belirgin şekilde baskılanmış olup, bu da betaninin LPS'nin RAW 264.7 hücrelerinde tetiklediği NF- κ B transkripsiyon aktivitesini engellediğini göstermektedir (Sheu ve diğerleri, 2024).

Çalışmamızda betaninin tüm dozlarını PGE₂ düzeyi bakımından indometazin grubuna göre kıyasladığımızda düşük olduğu ve istatistiksel olarak aralarında anlamlı farklılık bulunduğu (sırasıyla p=0,003, p=0,001 ve p=0,002) ve tüm betanin gruplarında PGE₂ düzeyi bakımından lansoprazol grubuna göre kıyasladığımızda düşük olduğu ve istatistiksel olarak aralarında anlamlı farklılık bulunduğu görülmüştür (p=0,001). Bunun nedeni Sheu ve arkadaşlarının (2024) belirttiği gibi betaninin antiinflamatuvar etkisinin MAPK'ın fosforilasyonunun baskılanmasıyla ilişkili olabilir.

Çalışmamızın histopatolojik parametreleri değerlendirildiğinde, indometazin grubunda mide dokularında yüzey epitellerinde çok şiddetli dejeneratif/nekrotik değişiklikler ile şiddetli epitel hasarı ve kaybı sonucu mukozanın yaygın bir şekilde incelendiği görüldü. Bazı olgularda ülser odaklarının serozaya dek uzandığı da görüldü. Betanin gruplarında mukoza epitellerinde yer yer dejeneratif değişiklikler ile yüzeyde dökülmüş epitel hücreleri mevcut olup indometazin grubuna kıyasla betanin gruplarının her birinin farklı derecelerde de olsa ülserle karşı etkili olduğu; en az doku hasarının Bİ-300 grubunda meydana geldiği belirlendi. Çalışmamızla uyumlu olarak Karampour ve diğerlerinin (2019) yapmış oldukları bir çalışmada etanol ile gastrik ülser oluşturulan grupta midenin mukozal tabakasında ülserlerin olduğu, mukozal bez hücrelerinde nekroz, kanama ve hiperemilerin olduğu; betanin uygulanan gruplarda ise histopatolojik lezyonların doza bağlı olarak azaldığı bildirilmiş olup ilgili çalışma sonucuna göre 100 mg/kg betanin ile 200 mg/kg betanin gruplarında ülser alanlarının anlamlı olarak azaldığı ve epitel ile sınırlı olduğu bildirilmiştir.

Apoptoz birçok doku türünün gelişimi ve homeostazi için gerekli olup kaspazlar bu apoptoz yolaklarının temel bileşenleridir. Aktive edildiklerinde çeşitli hidroliz reaksiyonlarını tetikleyerek hücre ölümüne yol açarlar ve yapılan bir çalışmada kaspaz-3'ün etanol ile uyarıldığında gastrik dokularda hücre ölümüne neden olarak mukozal hasara yol açtığı bildirilmiştir (Ayhan ve diğerleri, 2023). İndometazinin tetiklediği kaspaz-3 aktivasyonu gastrik epitel hücrelerin apoptozu sürecinde önemli bir patolojik mekanizma olup paeonolün indometasin kaynaklı ülser üzerindeki koruyucu etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, apoptoz belirteci olan kaspaz 3 geninin ülser grubunda anlamlı şekilde yükseldiği görülmüştür (Hafez ve diğerleri, 2019).

Betanin'in gürültü ve skrotal hipertermiye bağlı testis toksisitesine karşı koruyucu etkisi için apoptoz, oksidatif stres ve inflamasyonun rolünün araştırıldığı bir çalışmada betaninin, gürültü ve skrotal hipertermiye bağlı akut testis toksisitesine karşı oksidatif stres, apoptoz ve inflamasyonu inhibe ederek koruyucu etkiler gösterdiği ortaya koyulmuştur. Betanin uygulaması, sadece gürültüye veya skrotal hipertermiye maruz kalan sıçanlara kıyasla hücre canlılığını önemli ölçüde

artırmıştır. Erken ve geç apoptoz oranları da gürültü ve skrotal hipertermiye maruz kalan gruplarda artmış, betanin tedavisi bu oranları azaltmıştır (Bijani ve diğerleri, 2023).

Pancar suyunun isoproterenol ile indüklenen miyokardiyal hasar üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, isoproterenola maruz bırakılan sıçanlarda kaspaz-3 ve bax'ın ekspresyonunun artması ve bcl-2'nin azalması ile apoptotik hasarlar görülmüş olup, pancar suyu (150-300 mg/kg) ile ön tedavinin kaspaz-3, bax protein ekspresyonunu azalttığı, antiapoptotik bcl-2 protein ekspresyonunu arttırdığı görülmüştür. Yapılan çalışma ile pancar suyunun oksidatif stres, inflamasyon ve apoptozu azaltarak kardiyak fonksiyon bozukluğu ve yapısal hasarı hafiflettiği sonucuna varılmıştır (Raish ve diğerleri, 2019).

Önceki çalışmalarla uyumlu olarak çalışmamızda indometazin grubunda kaspaz-3 ekspresyonunun fazla, bcl-2 ekspresyonunun çok zayıf olduğu, lansoprazol+indometazin grubunda kaspaz-3 ekspresyonunun hafif şiddette, bcl-2 ekspresyonunun ise mukozal hücrelerde şiddetli olduğu görüldü. Bİ-300 grubunda kaspaz-3 ekspresyonunun hem immunpozitif hücre yoğunluğu hem de şiddeti açısından lansoprazol+indometazin ve Bİ-200 gruplarına benzer olduğu, lansoprazol+indometazin grubundaki bcl-2 ekspresyonuna yakın yoğunlukta immunpozitif reaksiyonlar verdiği görüldü. İmmunohistokimyasal olarak kaspaz-3 ve bcl-2 reaktivitelerinin değerlendirildiği bu çalışmamızda deney gruplarında elde edilen immunreaksiyon sonuçlarına göre özellikle Bİ-200 ve Bİ-300 gruplarındaki koruyucu etkinliğin apoptotik ve antiapoptotik dengenin organizmanın lehine gelişmesi sonucu elde edildiği görüldü. Güçlü bir antioksidan olan betaninin, antioksidan etkileri sayesinde bcl-2 ekspresyonunu indükleyerek apoptozisi azaltma potansiyeli olduğu düşünülmüştür. Artan dozlarda kullanılan bu etkin madde ile oksidatif stresin azalması ve bu yol ile mitokondriyal fonksiyonların normalizasyonunun sağlandığı öne sürülebilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar hekimlikte ağrı, ateş ve yangıyı hafifletmek için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Ancak bu ilaçlar, oksidatif strese yol açarak gastrointestinal hasar veya peptik ülserlere neden olmaktadır. Buna karşın meyve ve sebzelerden elde edilen fitokimyasallar, sağlığa olan faydalı etkileriyle tanınmakta olup, antioksidan savunma sistemini ve endojen veya ekzojen savunma mekanizmalarını düzenleyerek, NSAİİ'lere bağlı gastrointestinal mukozal oksidatif hasarlara karşı koruma sağlayabilir (Cheng ve diğerleri, 2016).

Son yıllarda antiülser etkili doğal ürünlerin geliştirilmesi üzerine yoğun çalışmalar yapılmış ve bitki özleri ile bitkisel bileşiklerin güvenli, etkili, düşük maliyetli ve küresel düzeyde rekabetçi olmalarıyla önemleri daha da artmıştır (Jagtap ve Deore, 2018).

Betanin, pancara kırmızı rengi veren doğal bir pigmenttir. Antioksidan, antiinflamatuvar ve antikanser özellikleri nedeniyle de araştırmalara konu olmaktadır. Yapılan toksisite testinde erkek *wistar* sıçanlara 2 g/kg gibi yüksek miktarda kırmızı pancar betalainleri verilip 15 gün takip edildiğinde fizyolojik toksisite ve ölüm görülmediği bildirilmiş olup kullanımı güvenilirdir (Saad ve diğerleri, 2023).

Çalışmamızda indometazin grubunda ülser oluşumu gerçekleşmiş olup kontrol ve lansoprazol+indometazin gruplarında ülser oluşumu makroskopik ve patolojik olarak görülmemiştir. Betanin gruplarına baktığımızda koruyucu etkinliğin doza bağlı olarak arttığı ve en yüksek koruyucu etkinin 300 mg/kg betanin+indometazin grubunda olduğu tespit edilmiştir.

Bütün antioksidan ve oksidan parametreler, ELISA sonuçları, makroskopik ve mikroskopik sonuçlar ele alındığında betaninin mide ülserinde doza bağlı bir şekilde koruyucu etkisi olduğu ve aynı zamanda antioksidan ve antiinflamatuvar etkiler de gösterdiği belirlenmiştir.

Çalışmamızda, akut ülser modelinde umut verici sonuçlar elde edilmiştir. Betaninin doğal bir antioksidan, antiinflamatuvar ve antiülser gıda katkı maddesi olarak hastalıklar üzerindeki uzun dönem etkilerini belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

- Abdelkader Saidi, S., Al-Shaikh, T. M. ve Hamden, K. (2023). Evaluation of Gastroprotective Effect of Betalain-Rich Ethanol Extract from *Opuntia stricta* var. *Dillenii* Employing an In Vivo Rat Model. *Journal of Food Quality*, 2023, 35–37. doi:10.1155/2023/2215454.
- Abdelwahab, S. I. (2013). Protective mechanism of gallic acid and its novel derivative against ethanol-induced gastric ulcerogenesis: Involvement of immunomodulation markers, Hsp70 and Bcl-2-associated X protein. *International Immunopharmacology*, 16(2), 296–305. doi:10.1016/j.intimp.2013.04.005.
- Abu-Baih, D. H., Gomaa, A. A. R., Abdel-Wahab, N. M., Abdelaleem, E. R., Zaher, A. M. A., Hassan, N. F., ... Abdelwahab, M. F. (2024). Apium extract alleviates indomethacin-induced gastric ulcers in rats via modulating the VEGF and IK- κ B/NF- κ B p65 signaling pathway: insights from in silico and in vivo investigations. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 24(1), 1–22. doi:10.1186/s12906-023-04333-w.
- Aebi, H. (1984). [13] Catalase in Vitro. *Methods in Enzymology*, 105(C), 121–126. doi:10.1016/S0076-6879(84)05016-3.
- Ahmed, M. A. E., Mohanad, M., Ahmed, A. A. E., Aboulhoda, B. E. ve El-Awdan, S. A. (2021). Mechanistic insights into the protective effects of chlorogenic acid against indomethacin-induced gastric ulcer in rats: Modulation of the cross talk between autophagy and apoptosis signaling. *Life Sciences*, 275(March), 119370. doi:10.1016/j.lfs.2021.119370.
- Akbar Hussain, E., Sadiq, Z. ve Zia-Ul-Haq, M. (2018). *Sources of Betalains. Betalains: Biomolecular Aspects Springer International Publishing AG, part of Springer Nature 2018.* doi:10.1007/978-3-319-95624-4_2.
- Akşit, H. ve Bildik, A. (2008). Apoptozis. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* (2008) 19(1): 55-63, 19, 55–63.
- Akyüz, F. ve Demir, K. (2002). Gastrointestinal Fizyopatoloji. *Klinik Gelişim*, 22, 77–80.
- Al-aboud, M., (2018). Effect of red beetroot (*Beta vulgaris* L.) intake on the level of some hematological tests in a group of female volunteers. *ISABB Journal of Food and Agriculture Science*, 8, 10-17.

- Al-Bishri, W. M., Mousa, R. M. A. ve Alghamdi, H. A. S. (2025). Innovative approaches for beetroot (*Beta Vulgaris* L.) aqueous extraction by cyclodextrins and its use to alleviate ethanol induced gastric ulcer in rats. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 33(1), 1–19. doi:10.1007/s44446-025-00008-4.
- Albasher, G., Almeer, R., Alarifi, S., Alkhtani, S., Farhood, M., Al-Otibi, F. O., ... Rizwana, H. (2019). Nephroprotective Role of *Beta vulgaris* L. Root Extract against Chlorpyrifos-Induced Renal Injury in Rats. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2019. doi:10.1155/2019/3595761.
- Albuquerque, B. R., Heleno, S. A. 8., Oliveira, M. B. P. P., Barros, L. ve Ferreira, I. C. F. R. (2021). Phenolic compounds: Current industrial applications, limitations and future challenges. *Food and Function*, 12(1), 14–29. doi:10.1039/d0fo02324h.
- Alfadil, A. (2024). Gastroprotective Effect of 2,3-Dimethylquinoxaline Against Indomethacin-Induced Gastric Ulcer in Rat. *Journal of Inflammation Research*, 17(March), 1983–1994. doi:10.2147/JIR.S453425.
- Alghamdi, O. A. (2023). The protective effects of betanin against experimental gastric ulcer by reduction of ROS and suppression of inflammatory genes via NF- κ B, iNOS, COX-2 and TNF- α pathways. *Journal of Chemistry and Nutritional Biochemistry*, 4(2), 51–77. doi:10.48185/jcnb.v4i2.951.
- Alp, H., Tutun, H., Altıntaş, L., Kaplan, H. M., Şingirik, E., Kahraman, İ. ve Adresi, Y. (2021). Metforminin Melanom Cilt Kanseri Hücreleri Üzerindeki Etkisinin Araştırılması Investigating of Effects of Metformin on Melanoma Skin Cancer Metforminin Melanom Cilt Kanserine Etkisi-Alp ve ark. *Araştırma Genel Tıp Dergisi*, 31(2), 111–115.
- Alp Yildirim, F. I., Uyanik, Ö., Özyoğurtçu, H., Gürel, A. I., Atukeren, Pi., Gümüştas, K., ... Uydeş-Doğan, S. (2015). Aggravating effect of atorvastatin on indomethacin-induced gastric injury: Focus on PGE2, TNF- α , neutrophils and iNOS. *Prostaglandins and Other Lipid Mediators*, 121, 53–62. doi:10.1016/j.prostaglandins.2015.07.002.
- Arabacı Tamer, S., Eskiler, G. G. ve Ercan, F. (2024). Gastroprotective effect of vanillic acid against ethanol-induced gastric injury in rats: involvement of the NF- κ B signalling and anti-apoptosis role. *Molecular Biology Reports*, 51(1). doi:10.1007/s11033-024-09672-6.

- Arslan Acaröz, D. (2022) *Sodyum Florür İle Oksidatif Stres Oluşturulan Ratlarda Betaninin Muhtemel Koruyucu Etkinliğinin Araştırılması*. Doktora Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.
- Ayhan, T., Güler, M. can, Eraslan, E., Bozhüyük, M. R., Nur, F., Ekinci Akdemir, F. N., ... Güven, E. Ç. (2023). Gastroprotective Effects of Jujuba (*Ziziphus jujuba*) Fruit Extract Against the Ethanol-Related Gastric Ulcer in Rats, *Journal Of Contemporary Medicine*, 13(6), 1046–1052. doi:10.16899/jcm.1317273.
- Azeredo, H. M. C. (2009). Betalains: Properties, sources, applications, and stability - A review. *International Journal of Food Science and Technology*, 44(12), 2365–2376. doi:10.1111/j.1365-2621.2007.01668.x.
- Baião, D. dos S., Silva, D. V. T. da, Aguila, E. M. Del ve Paschoalin, V. M. F. (2017). Nutritional, Bioactive and Physicochemical Characteristics of Different Beetroot Formulations. *Food Additives*, (June). doi:10.5772/intechopen.69301.
- Banjara, S., Suraweera, C. D., Hinds, M. G. ve Kvansakul, M. (2020). The Bcl-2 family: Ancient origins, conserved structures, and divergent mechanisms. *Biomolecules*, 10(1), 1–21. doi:10.3390/biom10010128.
- Barrett, E.K., Barman, M., Brooks, S.L., Yuan, X.J., (2019). *Ganong's Medical Physiology 26th Edition*.
- Bedard, K. ve Krause, K. H. (2007). The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: Physiology and pathophysiology. *Physiological Reviews*, 87(1), 245–313. doi:10.1152/physrev.00044.2005.
- Bhattacharyya, A., Chattopadhyay, R., Mitra, S. ve Crowe, S. E. (2014). Oxidative stress: An essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. *Physiological Reviews*, 94(2), 329–354. doi:10.1152/physrev.00040.2012.
- Bi, W. P., Man, H. Bin ve Man, M. Q. (2014). Efficacy and safety of herbal medicines in treating gastric ulcer: A review. *World Journal of Gastroenterology*, 20(45), 17020–17028. doi:10.3748/wjg.v20.i45.17020.
- Bijani, S., Hosseini, M.-J. ve Naserzadeh, P. (2023). Protective effects of Betanin against noise and scrotal hyperthermia on testicular toxicity in wistar rats: Role of oxidative stress, apoptosis, and inflammation. *Endocrine Abstracts*, 10(19), e38289. doi:10.1530/endoabs.94.p379.

- Bindu, S., Mazumder, S. ve Bandyopadhyay, U. (2020). Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective. *Biochemical Pharmacology*, 180(April). doi:10.1016/j.bcp.2020.114147.
- Boyacıoğlu, M., Kum, C., Sekkin, S., Yalinkilinc, H. S., Avci, H., Epikmen, E. T. ve Karademir, U. (2016). The effects of lycopene on DNA damage and oxidative stress on indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Clinical Nutrition*, 35(2), 428–435. doi:10.1016/j.clnu.2015.03.006.
- Čanadanović-Brunet, J. M., Savatović, S. S., Četković, G. S., Vulić, J. J., Djilas, S. M., Markov, S. L. ve Cvetković, D. D. (2011). Antioxidant and antimicrobial activities of beet root pomace extracts. *Czech Journal of Food Sciences*, 29(6), 575–585. doi:10.17221/210/2010-cjfs.
- Capper, T. E., Houghton, D., Stewart, C. J., Blain, A. P., McMahon, N., Siervo, M., ... Stevenson, E. J. (2020). Whole beetroot consumption reduces systolic blood pressure and modulates diversity and composition of the gut microbiota in older participants. *NFS Journal*, 21(July), 28–37. doi:10.1016/j.nfs.2020.08.001.
- Chang, X., Luo, F., Jiang, W., Zhu, L., Gao, J., He, H., ... Yan, T. (2015). Protective activity of salidroside against ethanol-induced gastric ulcer via the MAPK/NF- κ B pathway in vivo and in vitro. *International Immunopharmacology*, 28(1), 604–615. doi:10.1016/j.intimp.2015.07.031.
- Chang, P. Y., Hafiz, M. S. ve Boesch, C. (2018). Beetroot juice attenuates glycaemic response in healthy volunteers. *Proceedings of the Nutrition Society*, 77(OCE4), 2822. doi:10.1017/s0029665118001714.
- Chattopadhyay, I., Bandyopadhyay, U., Biswas, K., Maity, P. ve Banerjee, R. K. (2006). 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*, 40(8), 1397–1408. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2005.12.016.
- Chen, G., Xie, X., Peng, F., Wang, T., Chen, J., Li, G., ... Peng, C. (2022). Protective effect of the combination of essential oil from patchouli and tangerine peel against gastric ulcer in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 282(May 2021), 114645. doi:10.1016/j.jep.2021.114645.
- Chen, L., Wei, S., He, Y., Wang, X., He, T., Zhang, A., ... Zhao, Y. (2023). Treatment of Chronic

Gastritis with Traditional Chinese Medicine: Pharmacological Activities and Mechanisms. *Pharmaceuticals*, 16(9). doi:10.3390/ph16091308.

Chen, P., Shen, Y., Shi, H., Ma, X., Lin, B., Xiao, T., ... Geng, F. (2016). Gastroprotective effects of Kangfuxin-against ethanol-induced gastric ulcer via attenuating oxidative stress and ER stress in mice. *Chemico-Biological Interactions*, 260, 75–83. doi:10.1016/j.cbi.2016.10.021.

Chen, Y., Wang, X., Yu, Y., Xiao, Y., Huang, J., Yao, Z., ... Xu, C. (2018). Serum exosomes of chronic gastritis patients infected with *Helicobacter pylori* mediate IL-1 α expression via IL-6 trans-signalling in gastric epithelial cells. *Clinical and Experimental Immunology*, 194(3), 339–349. doi:10.1111/cei.13200.

Cheng, Y.-T., Chi, C. L. ve Gow, C. Y. (2016). *Phytochemicals enhance antioxidant enzyme expression to protect against NSAID-induced oxidative damage of the gastrointestinal mucosa. Molecular Nutrition & Food Research*. doi:10.1002/mnfr.201600659.This.

Chhikara, N., Kushwaha, K., Sharma, P., Gat, Y. ve Panghal, A. (2019). Bioactive compounds of beetroot and utilization in food processing industry: A critical review. *Food Chemistry*, 272, 192–200. doi:10.1016/j.foodchem.2018.08.022.

Chunxian Chen. (2015). *Pigments in Fruits and Vegetables Genomics and Dietetics Springer New York Heidelberg Dordrecht London DOI 10.1007/978-1-4939-2356-4*.

Clifford, T., Constantinou, C. M., Keane, K. M., West, D. J., Howatson, G. ve Stevenson, E. J. (2016). The plasma bioavailability of nitrate and betanin from *Beta vulgaris rubra* in humans. *European Journal of Nutrition*, 56(3), 1245–1254. doi:10.1007/s00394-016-1173-5.

Clifford, T., Howatson, G., West, D. J. ve Stevenson, E. J. (2015). The potential benefits of red beetroot supplementation in health and disease. *Nutrients*, 7(4), 2801–2822. doi:10.3390/nu7042801.

Conover, WJ. 1999. *Practical Nonparametric Statistics (3 ed., ss. 272–288)*. New York: John Wiley & Sons. doi:10.1080/00401706.2000.10486067.

Crofford, L. J., Lipsky, P. E., Brooks, P., Abramson, S. B., Simon, L. S. ve Van De Putte, L. B. A. (2000). Basic biology and clinical application of specific cyclooxygenase-2 inhibitors. *Arthritis and Rheumatism*, 43(1), 4–13. doi:10.1002/1529-0131(200001)43:1<4::AID-ANR2>3.0.CO;2-V.

Culling CFA, Allison RT BW (1985) *Cellular Pathology Technique*, 4th ed. Butterworth & Co.

(Publishers) Ltd, London.

- Çimen, Ç., Öter, Ç., Demir, H. ve Savran, A. (2005). Rat Eritrositlerinden Elde Edilen Katalaz Enziminin Karakterizasyonu ve Kinetiğinin İncelenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16(1), 15–20.
- Da Silva, D. V. T., Pereira, A. D., Boaventura, G. T., Ribeiro, R. S. D. A., Verícimo, M. A., De Carvalho-Pinto, C. E., ... Paschoalin, V. M. F. (2019). Short-term betanin intake reduces oxidative stress in wistar rats. *Nutrients*, 11(9), 1–16. doi:10.3390/nu11091978.
- Daure, E., Ross, L. ve Webster, C. R. L. (2017). Gastroduodenal ulceration in small animals: Part 1. Pathophysiology and epidemiology. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 53(1), 1–10. doi:10.5326/JAAHA-MS-6635.
- Delgado-Vargas, F., Jimenez, A. R. ve Paredes-Lopez, O. (2000). Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains - Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40:3. doi:10.1080/10408690091189257.
- Dorababu, M., Prabha, T., Priyambada, S., Agrawal, V. K., Aryya, N. C. ve Goel, R. K. (2004). Effect of Bacopa monniera and Azadirachta indica on gastric ulceration and healing in experimental NIDDM rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, 42(4), 389–397.
- Duysak, L., GÜLABOĞLU, M., YÜKSEL, T. N., HALICI, Z., CANAYAKIN, D. ve DEMİR, G. M. (2023). Protective Effects of Ethanol Extract from Hippophae rhamnoides L. Leaves against Indomethacin-Induced Gastric Ulcer in Rats. *Black Sea Journal of Health Science*, 6(4), 697–704. doi:10.19127/bshealthscience.1336015.
- Eamlamnam, K., Patumraj, S., Visedopas, N. ve Thong-Ngam, D. (2006). Effects of Aloe vera and sucralfate on gastric microcirculatory changes, cytokine levels and gastric ulcer healing in rats. *World Journal of Gastroenterology*, 12(13), 2034–2039. doi:10.3748/wjg.v12.i13.2034.
- El-Ashmawy, N. E., Khedr, E. G., El-Bahrawy, H. A. ve Selim, H. M. (2016). Gastroprotective effect of garlic in indomethacin induced gastric ulcer in rats. *Nutrition*, 32(7–8), 849–854. doi:10.1016/j.nut.2016.01.010.
- El-Mostafa, K., El Kharrassi, Y., Badreddine, A., Andreoletti, P., Vamecq, J., El Kebbij, M. S., ... Cherkaoui-Malki, M. (2014). Nopal cactus (Opuntia ficus-indica) as a source of bioactive compounds for nutrition, health and disease. *Molecules*, 19(9), 14879–14901. doi:10.3390/molecules190914879.

- El-Shafey, R. S., Baloza, S. H., Mohammed, L. A., Nasr, H. E., Soliman, M. M., Ghamry, H. I. ve Elgendy, S. A. (2022). The ameliorative impacts of wheat germ oil against ethanol-induced gastric ulcers: Involvement of anti-inflammatory, antiapoptotic, and antioxidant activities. *Toxicology Research*, 11(2), 325–338. doi:10.1093/toxres/tfac012.
- Eminler, A. T., Uslan, M. İ., Köksal, A. Ş. ve Parlak, E. (2014). Non-Steroid Anti-İnflamatuvar İlaçların Üst Gastrointestinal Sistem Yan Etkileri ve Önlenmesi. *Güncel Gastroenteroloji* 18/3, 333–338.
- Epikmen, E. T., İpek, E. ve Tunca, R. (2023). Immunoreactivity of infiltrating macrophages during gastric ulcer healing in rats. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 47(5), 496–506. doi:10.55730/1300-0128.4318.
- Ermis, A., Aritici Colak, G., Acikel-Elmas, M., Arbak, S. ve Kolgazi, M. (2023). Ferulic Acid Treats Gastric Ulcer via Suppressing Oxidative Stress and Inflammation. *Life*, 13(2). doi:10.3390/life13020388.
- Eroğlu, MN. 2020. *Farklı dozlarda alınan pancar suyunun submaksimal koşu performansına etkisi*, Yüksek Lisans Tezi. Bursa Uludag Üniversitesi, Eğitim Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
- Esatbeyoglu, T., Wagner, A. E., Motafakkerazad, R., Nakajima, Y., Matsugo, S. ve Rimbach, G. (2014). Free radical scavenging and antioxidant activity of betanin: Electron spin resonance spectroscopy studies and studies in cultured cells. *Food and Chemical Toxicology*, 73, 119–126. doi:10.1016/j.fct.2014.08.007.
- Esatbeyoglu, T., Wagner, A. E., Schini-Kerth, V. B. ve Rimbach, G. (2015). Betanin-A food colorant with biological activity. *Molecular Nutrition and Food Research*, 59(1), 36–47. doi:10.1002/mnfr.201400484.
- Esteves, L. C., Pinheiro, A. C., Pioli, R. M., Penna, T. C., Baader, W. J., Correra, T. C. ve Bastos, E. L. (2018). Revisiting the Mechanism of Hydrolysis of Betanin. *Photochemistry and Photobiology*, 94(5), 853–864. doi:10.1111/php.12897.
- Farzaei, M. H., Abdollahi, M. ve Rahimi, R. (2015). Role of dietary polyphenols in the management of peptic ulcer. *World Journal of Gastroenterology*, 21(21), 6499–6517. doi:10.3748/wjg.v21.i21.6499.
- Frank, T., Conrad, F., Carle, R., Bitsch, I., Quaas, D., Straß, G., ... Netzel, M. (2005). Urinary pharmacokinetics of betalains following consumption of red beet juice in healthy humans, *Pharmacological Research*, 52, 290–297. doi:10.1016/j.phrs.2005.04.005.

- Fu, Y., Shi, J., Xie, S. Y., Zhang, T. Y., Soladoye, O. P. ve Aluko, R. E. (2020). Red Beetroot Betalains: Perspectives on Extraction, Processing, and Potential Health Benefits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(42), 11595–11611. doi:10.1021/acs.jafc.0c04241.
- Fujii, J., Homma, T. ve Osaki, T. (2022). Superoxide Radicals in the Execution of Cell Death. *Antioxidants*, 11(3). doi:10.3390/antiox11030501.
- Furst DE, Ulrich RW, Prakash S. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, disease modifying antirheumatic drugs, nonopioid analgesics and drugs used in gout. In: Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ, editors. *Basic and Clinical Pharmacology*. 12nd ed. United States: McGraw Hill; 2012.
- Özbakış Dengiz, G., Odabasoglu, F., Halici, Z., Suleyman, H., Çadirci, E. ve Bayir, Y. (2007). Gastroprotective and Antioxidant Effects of Amiodarone on Indomethacin-induced Gastric Ulcers in Rats. *Archives of Pharmacal Research*, 30(11), 1426–1434. doi:10.1248/yakushi.129.861.
- García-Rayado, G., Navarro, M. ve Lanás, A. (2018). NSAID induced gastrointestinal damage and designing GI-sparing NSAIDs. *Expert Review of Clinical Pharmacology*, 11(10), 1031–1043. doi:10.1080/17512433.2018.1516143.
- Gengatharan, A., Dykes, G. A. ve Choo, W. S. (2015). Betalains: Natural plant pigments with potential application in functional foods. *Lwt*, 64(2), 645–649. doi:10.1016/j.lwt.2015.06.052.
- Gliszczyńska-Świgło, A., Szymusiak, H. ve Malinowska, P. (2006). Betanin, the main pigment of red beet: Molecular origin of its exceptionally high free radical-scavenging activity. *Food Additives and Contaminants*, 23(11), 1079–1087. doi:10.1080/02652030600986032.
- Gomaa, A. M. S., Abd El-Mottaleb, N. A. ve Aamer, H. A. (2018). Antioxidant and anti-inflammatory activities of alpha lipoic acid protect against indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 101, 188–194. doi:10.1016/j.biopha.2018.02.070.
- Guha, P., Dey, A., Chatterjee, A., Chattopadhyay, S. ve Bandyopadhyay, S. K. (2010). Pro-ulcer effects of resveratrol in mice with indomethacin-induced gastric ulcers are reversed by l-arginine: Research Paper. *British Journal of Pharmacology*, 159(3), 726–734. doi:10.1111/j.1476-5381.2009.00572.x.
- Guidobono, F., Pagani, F., Ticozzi, C., Sibilia, V., Pecile, A. ve Netti, C. (1997). Protection by

- amylin of gastric erosions induced by indomethacin or ethanol in rats. *British Journal of Pharmacology*, 120(4), 581–586. doi:10.1038/sj.bjp.0700941.
- Gutteridge, J. M. C. (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*, 41(12), 1819–1828. doi:10.1093/clinchem/41.12.1819.
- Hafez, H. M., Morsy, M. A., Mohamed, M. Z. ve Zenhom, N. M. (2019). Mechanisms underlying gastroprotective effect of paeonol against indomethacin-induced ulcer in rats. *Human and Experimental Toxicology*, 38(5), 510–518. doi:10.1177/0960327118818254.
- Halıcı, Z., Polat, B., Cadirci, E., Topcu, A., Karakus, E., Kose, D., ... Bayir, Y. (2016). Inhibiting renin angiotensin system in rate limiting step by aliskiren as a new approach for preventing indomethacin induced gastric ulcers. *Chemico-Biological Interactions*, 258, 266–275. doi:10.1016/j.cbi.2016.09.011.
- Hammady, M. (2024). Application of Immunohistochemistry in Rat Models of Erosive Gastritis. *Egyptian Journal of Veterinary Science(Egypt)*, 55(4), 1021–1036. doi:10.21608/EJVS.2023.241929.1637.
- Han, J., Zhang, Z., Yang, S., Wang, J., Yang, X. ve Tan, D. (2014). Betanin attenuates paraquat-induced liver toxicity through a mitochondrial pathway. *Food and Chemical Toxicology*, 70, 100–106. doi:10.1016/j.fct.2014.04.038.
- Han, J., Tan, C., Wang, Y., Yang, S. ve Tan, D. (2015). Betanin reduces the accumulation and cross-links of collagen in high-fructose-fed rat heart through inhibiting non-enzymatic glycation. *Chemico-Biological Interactions*, 227, 37–44. doi:10.1016/j.cbi.2014.12.032.
- Harirforoosh, S., Asghar, W. ve Jamali, F. (2013). Adverse effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs: An update of gastrointestinal, cardiovascular and renal complications. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 16(5), 821–847. doi:10.18433/j3vw2f.
- Herbach, K. M., Stintzing, F. C. ve Carle, R. (2006). Betalain stability and degradation - Structural and chromatic aspects. *Journal of Food Science*, 71(4). doi:10.1111/j.1750-3841.2006.00022.x.
- Hijazi, H. H., Rezq, A. A. ve Elgazar, A. F. (2018). Studying Anti-inflammatory and Anti-Peptic Ulcer Effects of Aqueous Extract of Red Beetroots on Male Rats. *International Journal of Pharmacy & Life Sciences*, 9(3), 5741-5747.

- Hilário, M. O. E., Terreri, M. T. ve Len, C. A. (2006). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: Cyclooxygenase 2 inhibitors. *Jornal de Pediatria*, 82(SUPPL. 2), 206–212. doi:10.2223/JPED.1560.
- Islam, H., Siddiqui, A., Islam, R., Islam, T. ve Ahmed, S. (2024). NSAID-induced Gastric Ulcer Disease : A Deleterious Connection NSAID-induced Gastric Ulcer Disease : A Deleterious, doi:10.24976/Discover.Med.202436188.165.
- Isnain, F. S., Liao, N. C., Tsai, H. Y., Hsu, J. L., Tsai, P. J., Wardani, A. K. ve Chen, Y. K. (2023). Protective Effect of Ethanolic Extract of Djulis Hull on Indomethacin-Induced Gastric Injury. *Applied Sciences (Switzerland)*, 13(1). doi:10.3390/app13010594.
- Jagtap, M. J. ve Deore, A. B. (2018). Antiulcer Activity of Methanolic Extract of Roots of Beta Vulgaris, Chenopodiaceae. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, 10(6), 454–459. doi:10.25004/ijpsdr.2018.100605.
- Jarczак, D. ve Nierhaus, A. (2022). Cytokine Storm - Definition, Causes, and Implications, *International Journal of Molecular Sciences* 1–30, 11740; <https://doi.org/10.3390/ijms231911740>.
- Kang, H. C., Menias, C. O., Gaballah, A. H., Shroff, S., Taggart, M. W., Garg, N. ve Elsayes, K. M. (2013). Beyond the GIST: Mesenchymal tumors of the stomach. *Radiographics*, 33(6), 1673–1690. doi:10.1148/rg.336135507.
- Kanner, J., Harel, S. ve Granit, R. (2001). Betalains - A new class of dietary cationized antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11), 5178–5185. doi:10.1021/jf010456f.
- Kapadia, G. J., Rao, G. S., Ramachandran, C., Iida, A., Suzuki, N. ve Tokuda, H. (2013). Synergistic cytotoxicity of red beetroot (Beta vulgaris L.) extract with doxorubicin in human pancreatic, breast and prostate cancer cell lines. *Journal of Complementary & Integrative Medicine*, 10(1), 1–10. doi:10.1515/jcim-2013-0007.
- Karabulut, H. ve Gülay, M. Ş. (2016). Antioksidanlar. MAE Vet Fak Ders. 1(1):65-76, 1(1).
- Karampour, N. S., Arzi, A., Rezaie, A., Pashmforosh, M. ve Rad, H. (2019). Gastroprotective effects of betanin against ethanol-induced gastric ulcer in rats. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 14(3). doi:10.5812/jjnpp.14473.
- Kassab, S. E., Khedr, M. A., Ali, H. I. ve Abdalla, M. M. (2017). Discovery of new indomethacin-based analogs with potentially selective cyclooxygenase-2 inhibition and observed

diminishing to PGE2 activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 141, 306–321. doi:10.1016/j.ejmech.2017.09.056.

Kathiravan, T., Nadanasabapathi, S. ve Kumar, R. (2014). Standardization of process condition in batch thermal pasteurization and its effect on antioxidant, pigment and microbial inactivation of Ready to Drink (RTD) beetroot (*Beta vulgaris* L.) juice. *International Food Research Journal*, 21(4), 1305–1312.

Kaya S. *Veteriner Farmakoloji* (5. baskı), cilt 2, Kaya S, Pirinçci İ, Ünsal A, Traş B, Bilgili A, Akar F (eds) Medisan Yayınevi, Ankara, 2009.

Kayaalp, SO.(2018), *Akılcı Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. Kayaalp SO (ed). Pelikan Yayıncılık,13.Baskı, Ankara, 1409-1422.

Kaynak, A., Başkan, Z. N. ve Doğan, M. (2024). Kırmızı pancar (*Beta vulgaris* L.): Besinsel bileşimi, antioksidan özellikleri ve sağlık faydaları, *Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciences*, 7(1):52-61, <https://doi.org/10.46239/ejbcs.1395054>.

Khan, M. I. ve Giridhar, P. (2015). Plant betalains: Chemistry and biochemistry. *Phytochemistry*, 117, 267–295. doi:10.1016/j.phytochem.2015.06.008.

Ko, E. Y. ve Sabanegh, E. S. (2014). The role of nutraceuticals in male fertility. *Urologic Clinics of North America*, 41(1), 181–193. doi:10.1016/j.ucl.2013.08.003.

Kohen, R. ve Nyska, A. (2002). Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology*, 30(6), 620–650. doi:10.1080/01926230290166724.

Kumar, P. S., Bhaumik, A., Chopra, M. ve Devi, K. N. (2016). Evaluation of Anti diabetic activity of Ethanolic Extract of Beet Root (EEBT-Beta vulgaris) against Streptozocin induced diabetic Rats. *Journal of drug discovery and Therapeutics* 4(37), 1–6. <http://www.jddt.in/index.php/jddt/article/view/360> adresinden erişildi.

L. Kierszenbaum, A. ve L. Tres, L. (2016). *Histology and Cell Biology an Introduction to Pathology 4th*.

Lanas, A., Bajador, E., Serrano, P., Fuentes, J., Carreño, S., Guardia, J., Sanz, M., Montoro, M., Sáinz, R. (2000). Antiinflammatory Drugs , and the Risk of Upper Gastrointestinal Bleeding. *The New England Journal of Medicine*, 21;343(12):834-9. doi: 10.1056/NEJM200009213431202.

- Lechner, J. F. ve Stoner, G. D. (2019). Red beetroot and betalains as cancer chemopreventative agents. *Molecules*, 24(8). doi:10.3390/molecules24081602.
- Lechner, J. F., Wang, L., Rocha, C. M., Larue, B., Henry, C., McIntyre, C. M., ... Stoner, G. D. (2010). Drinking Water with Red Beetroot Food Color Antagonizes Esophageal Carcinogenesis in N-Nitrosomethylbenzylamine-Treated Rats. *Journal Of Medicinal Food*, 13(3), 733–739.
- Lee, I. C., Baek, H. S., Kim, S. H., Moon, C., Park, S. H., Kim, S. H., ... Kim, J. C. (2014). Effect of diallyl disulfide on acute gastric mucosal damage induced by alcohol in rats. *Human and Experimental Toxicology*, 34(3), 227–239. doi:10.1177/0960327114537095.
- Li, Q. J., WANG, Z. G., XIE, Y., LIU, Q., HU, H. L. ve GAO, Y. X. (2020). Mechanistic evaluation of gastro-protective effects of KangFuXinYe on indomethacin-induced gastric damage in rats. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 18(1), 47–56. doi:10.1016/S1875-5364(20)30004-2.
- Ligumsky, M., Golanska, E. M., Hansen, D. G. ve Kauffman, G. L. (1983). Aspirin can inhibit gastric mucosal cyclo-oxygenase without causing lesions in rat. *Gastroenterology*, 84(4), 756–761. doi:10.1016/0016-5085(83)90143-9.
- Lim, S. H., Bae, S., Lee, H. S., Han, H. K. ve Choi, C. I. (2023). Effect of Betanin, the Major Pigment of Red Beetroot (*Beta vulgaris* L.), on the Activity of Recombinant Human Cytochrome P450 Enzymes. *Pharmaceuticals*, 16(9). doi:10.3390/ph16091224.
- Lin, K., Wang, Z., Wang, E., Zhang, X., Liu, X., Feng, F., ... Wang, Y. (2024). Targeting TRPV1 signaling: Galangin improves ethanol-induced gastric mucosal injury. *Journal of Ethnopharmacology*, 335, 118605. doi:10.1016/j.jep.2024.118605.
- Liou, G. Y. ve Storz, P. (2010). Reactive oxygen species in cancer. *Free Radical Research*, 44(5), 479–496. doi:10.3109/10715761003667554.
- Liu, Y. H., Zhang, Z. B., Zheng, Y. F., Chen, H. M., Yu, X. T., Chen, X. Y., ... Su, Z. R. (2015). Gastroprotective effect of andrographolide sodium bisulfite against indomethacin-induced gastric ulceration in rats. *International Immunopharmacology*, 26(2), 384–391. doi:10.1016/j.intimp.2015.04.025.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A. ve Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118–126. doi:10.4103/0973-7847.70902.

- Lokman, M. S., Zaafar, D., Althagafi, H. A., Abdel Daim, M. M., Theyab, A., Hasan Mufti, A., ... Kassab, R. B. (2022). Antiulcer activity of proanthocyanidins is mediated via suppression of oxidative, inflammatory, and apoptotic machineries. *Journal of Food Biochemistry*, 46(2). doi:10.1111/jfbc.14070.
- Lowe, JS., Anderson, PG., (2015). *Stevens & Lowe's Human Histology*. Fourth Edition. 11(210).
- Ma, N., Sun, Y., Yi, J., Zhou, L. ve Cai, S. (2022). Chinese sumac (*Rhus chinensis* Mill.) fruits alleviate indomethacin-induced gastric ulcer in mice by improving oxidative stress, inflammation and apoptosis. *Journal of Ethnopharmacology*, 284(October 2021), 114752. doi:10.1016/j.jep.2021.114752.
- Maqbool, H., Safeena, M. P., Abubacker, Z., Azhar, M. ve Kumar, S. (2021). Effect of beetroot peel dip treatment on the quality preservation of Deccan mahseer (*Tor khudree*) steaks during frozen storage (-18°C). *Lwt, Food Science and Technology*. 151, 112222. doi:10.1016/j.lwt.2021.112222.
- Margis, R., Dunand, C., Teixeira, F. K. ve Margis-Pinheiro, M. (2008). Glutathione peroxidase family - An evolutionary overview. *FEBS Journal*, 275(15), 3959–3970. doi:10.1111/j.1742-4658.2008.06542.x.
- Martinez, R. M., Longhi-Balbinot, D. T., Zarpelon, A. C., Staurengo-Ferrari, L., Baracat, M. M., Georgetti, S. R., ... Casagrande, R. (2014). Anti-inflammatory activity of betalain-rich dye of *Beta vulgaris*: Effect on edema, leukocyte recruitment, superoxide anion and cytokine production. *Archives of Pharmacal Research*, 38(4), 494–504. doi:10.1007/s12272-014-0473-7.
- Mathews, K. A. (2002). Non-steroidal anti-inflammatory analgesics : a review of current practice, *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 12(2), 89-97.
- McGinty, A., Foschi, M., Chang, Y. W. E., Han, J., Dunn, M. J. ve Sorokin, A. (2000). Induction of prostaglandin endoperoxide synthase 2 by mitogen-activated protein kinase cascades. *Biochemical Journal*, 352(2), 419–424. doi:10.1042/0264-6021:3520419.
- Melcarne, L., García-Iglesias, P. ve Calvet, X. (2016). Management of NSAID-associated peptic ulcer disease. *Expert Review of Gastroenterology and Hepatology*, 10(6), 723–733. doi:10.1586/17474124.2016.1142872.
- Meo, S. Di, Venditti, P., Federico, N., Dipartimento, I. I., Monte, U., Angelo, S. ve Cinthia, V. (2020). Evolution of the Knowledge of Free Radicals and Other Oxidants, *Hindawi*

- Micheletti Lorizola, IM., Érica Miyamoto, J., Luiza Figueiredo Vieira, A., Rocchetti Sumere, B., Maria Neves Bezerra, R., Alberto Torsoni, M., ... Dário Capitani, C. (2021). Beet (*Beta vulgaris* L.) stalk and leaf supplementation changes the glucose homeostasis and inflammatory markers in the liver of mice exposed to a high-fat diet. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, Volume 2, 100018. doi:10.1016/j.fochms.2021.100018.
- Miller, M. J. S., MacNaughton, W. K., Zhang, X. J., Thompson, J. H., Charbonnet, R. M., Bobrowski, P., ... Sandoval, M. (2000). Treatment of gastric ulcers and diarrhea with the Amazonian herbal medicine sangre de grado. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, 279(1 42-1), 192–200. doi:10.1152/ajpgi.2000.279.1.g192.
- Mirończuk-Chodakowska, I., Witkowska, A. M. ve Zujko, M. E. (2018). Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Advances in Medical Sciences*, 63(1), 68–78. doi:10.1016/j.advms.2017.05.005.
- Morise, Z., Komatsu, S., Fuseler, J. W., Granger, D. N., Perry, M., Issekutz, A. C. ve Grisham, M. B. (1998). ICAM-1 and P-selectin expression in a model of NSAID-induced gastropathy. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, 274(2 37-2). doi:10.1152/ajpgi.1998.274.2.g246.
- Motawi, T. K., Ahmed, S. A., El-Boghdady, N. A., Metwally, N. S. ve Nasr, N. N. (2020). Impact of betanin against paracetamol and diclofenac induced hepato-renal damage in rats. *Biomarkers*, 25(1), 86–93. doi:10.1080/1354750X.2019.1697365.
- Musumba, C., Pritchard, D. M. ve Pirmohamed, M. (2009). Review article: Cellular and molecular mechanisms of NSAID-induced peptic ulcers. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 30(6), 517–531. doi:10.1111/j.1365-2036.2009.04086.x.
- Nahla, T. K., Wisam, S. U. ve Tariq, N. M. (2018). Antioxidant activities of beetroot (*Beta vulgaris* L.) extracts. *Pakistan Journal of Nutrition*, 17(10), 500–505. doi:10.3923/pjn.2018.500.505.
- Nalini, S., Ramakrishna, B. S., Mohanty, A. ve Balasubramanian, K. A. (1992). Hydroxyl radical formation in human gastric juice. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 7(5), 497–501. doi:10.1111/j.1440-1746.1992.tb01027.x.
- Ngamwonglumlert, L., Devahastin, S. ve Chiewchan, N. (2017). Natural colorants: Pigment

stability and extraction yield enhancement via utilization of appropriate pretreatment and extraction methods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(15), 3243–3259. doi:10.1080/10408398.2015.1109498.

Nguelefack, T. B., Feumebo, C. B., Ateufack, G., Watcho, P., Tatsimo, S., Atsamo, A. D., ... Kamanyi, A. (2008). Anti-ulcerogenic properties of the aqueous and methanol extracts from the leaves of *Solanum torvum* Swartz (Solanaceae) in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 119(1), 135–140. doi:10.1016/j.jep.2008.06.008.

Nikan, M. ve Manayi, A. (2019). *Beta vulgaris* L. *Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements*. Chapter 3-5, 153-158 doi:doi.org/10.1016/B978-0-12-812491-8.00021-7.

Nirmal, N. P., Medhe, S., Dahal, M., Koirala, P., Nirmal, S., Al-Asmari, F. ve Xu, B. (2024). Betalains protect various body organs through antioxidant and anti-inflammatory pathways. *Food Science and Human Wellness*, 13(3), 1109–1117. doi:10.26599/FSHW.2022.9250093.

Nordberg, J. ve Arnér, E. S. J. (2001). Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(11), 1287–1312. doi:10.1016/S0891-5849(01)00724-9.

Odabaşoğlu, F., Cakir, A., Suleyman, H., Aslan, A., Bayir, Y., Halici, M. ve Kazaz, C. (2006). Gastroprotective and antioxidant effects of usnic acid on indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 103(1), 59–65. doi:10.1016/j.jep.2005.06.043.

Odabaşoğlu, F., Halici, Z., Cakir, A., Halici, M., Aygun, H., Suleyman, H., ... Atalay, F. (2008). 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*, 591(1–3), 300–306. doi:10.1016/j.ejphar.2008.06.075.

Ohkawa, H., Ohishi, N. ve Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95(2), 351–358. doi:10.1016/0003-2697(79)90738-3.

Okuyan, D. (2023). BCL-2 Protein Ailesi ve Kanser. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 28(3), 1218–1232. doi:10.53433/yyufbed.1220984.

Orrenius, S. (2007). Reactive oxygen species in mitochondria-mediated cell death. *Drug Metabolism Reviews*, 39(2–3), 443–455. doi:10.1080/03602530701468516.

Özcan, K. ve Ersus Bilek, S. (2018). Kırmızı Pancardan Renk Maddesi Üretimi ve Stabilitésinin

Sağlanması. *Akademik Gıda*, 439–449. doi:10.24323/akademik-gida.505529.

Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G. ve Yönden, Z. (2015). Oxidative stress and its impacts on intracellular lipids, proteins and DNA. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6(3), 331–336. doi:10.5799/ahinjs.01.2015.03.0545.

Ozougwu, J. C. (2016). The Role of Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Oxidative Stress. *International Journal of Research in Pharmacy and Biosciences*, 3(6), 1–8.

Pietrzkowski Z, Nemzer B, Spórna A, Stalica P, Tresher W, Keller R, Wybraniec S (2010) Influence of betalain-rich extract on reduction of discomfort associated with osteoarthritis. *New Medicine* 1:12–17.

Pedreño, M. A. ve Escribano, J. (2001). Correlation between antiradical activity and stability of betanine from *Beta vulgaris* L roots under different pH, temperature and light conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(7), 627–631. doi:10.1002/jsfa.851.

Penissi A & Piezzi R (1999). Effect of dehydroleucodine on mucus production. A quantitative study. *Digestive Diseases*. Volume 44, pages 708–712.

Polat, B., Albayrak, Y., Suleyman, B., Dursun, H., Odabasoglu, F., Yigiter, M., ... Suleyman, H. (2011). Antiulcerative effect of dexmedetomidine on indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Pharmacological Reports*, 63(2), 518–526. doi:10.1016/S1734-1140(11)70518-7.

Qian, S., Wei, Z., Yang, W., Huang, J., Yang, Y. ve Wang, J. (2022). The role of BCL-2 family proteins in regulating apoptosis and cancer therapy. *Frontiers in Oncology*, 12, 1–16. doi:10.3389/fonc.2022.985363.

Qiu, R., Chen, S., Hua, F., Bian, S., Chen, J., Li, G. ve Wu, X. (2021). Betanin prevents experimental abdominal aortic aneurysm progression by modulating the TLR4/NF-κB and Nrf2/HO-1 pathways. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 44(9), 1254–1262. doi:10.1248/bpb.b21-00042.

Raish, M., Ahmad, A., Ahmad, M., Khalid, A., Abdul, M. A. ve Altaf, A. (2019). Beetroot juice alleviates isoproterenol-induced myocardial damage by reducing oxidative stress, inflammation, and apoptosis in rats. *3 Biotech*, 9(4), 1–11. doi:10.1007/s13205-019-1677-9.

Raish, M., Shahid, M., Bin Jordan, Y. A., Ansari, M. A., Alkharfy, K. M., Ahad, A., ... Al-Jenoobi, F. I. (2021). Gastroprotective Effect of Sinapic Acid on Ethanol-Induced Gastric Ulcers in Rats: Involvement of Nrf2/HO-1 and NF-κB Signaling and Antiapoptotic Role. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 1–15. doi:10.3389/fphar.2021.622815.

- Ransy, C., Vaz, C., Lombès, A. ve Bouillaud, F. (2020). Use of H₂O₂ to cause oxidative stress, the catalase issue. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(23), 1–14. doi:10.3390/ijms21239149.
- Reddy, M. K., Alexander-Lindo, R. L. ve Nair, M. G. (2005). Relative inhibition of lipid peroxidation, cyclooxygenase enzymes, and human tumor cell proliferation by natural food colors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(23), 9268–9273. doi:10.1021/jf051399j.
- Repetto, M. G. ve Llesuy, S. F. (2002). Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 35(5), 523–534. doi:10.1590/S0100-879X2002000500003.
- Rosenberg, L., Palmer, J. R., Zauber, A. G., Warshauer, M. E., Stolley, P. D. ve Shapiro, S. (1991). A hypothesis: Nonsteroidal anti-inflammatory drugs reduce the incidence of large-bowel cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 83(5), 355–358. doi:10.1093/jnci/83.5.355.
- Saad, F., Al-Shaikh, T. M., Zouidi, F., Taher, M. A., Saidi, S. A. ve Hamden, K. (2023). Betalain-Enriched Beetroots Exhibit Antiulcer and Anti-inflammatory Potentials. *Journal of Food Processing and Preservation*, Volume 2023, 1–11. doi:10.1155/2023/9522830.
- Sadowska-Bartosz, I. ve Bartosz, G. (2021). Biological properties and applications of betalains. *Molecules*, 26(9), 1–36. doi:10.3390/molecules26092520.
- Samyuktha, K., Chinnala, K. M., Prathiba, G., Rajendhar, D. ve Smana Reddy, P. (2017). Evaluation of anti ulcer activity of ethanolic root extract of Beta vulgaris in rats. *IJBPC International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*, 6(7), 1763–1767.
- Santos, A. M., Lopes, T., Oleastro, M., Pereira, T., Alves, C. C., Seixas, E., ... Guerreiro, A. S. (2018). Cyclooxygenase inhibition with curcumin in Helicobacter pylori infection. *Nutrire*, 43(1), 1–7. doi:10.1186/s41110-018-0070-5.
- Santra, A., Chowdhury, A., Chaudhuri, S., Das Gupta, J., Banerjee, P. K. ve Mazumder, D. N. (2000). Oxidative stress in gastric mucosa in Helicobacter pylori infection. *Indian journal of gastroenterology : official journal of the Indian Society of Gastroenterology*, 19(1), 21–23.
- Schoen, R. T. ve Vender, R. J. (1989). Mechanisms of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced gastric damage. *The American Journal of Medicine*, 86(4):449-58. doi:10.1016/0002-9343(89)90344-6.

- Shah, S., Cappell, K., Sedgley, R., Pelletier, C., Jacob, R., Bonafede, M. ve Yadlapati, R. (2023). Healthcare costs among patients with newly diagnosed helicobacter pylori infection in the United States: a linked claims-EHR study. *Journal of Medical Economics*, 26(1), 1227–1236. doi:10.1080/13696998.2023.2263252.
- Shaik, R. A. (2024). Parthenolide alleviates indomethacin-induced gastric ulcer in rats via antioxidant, anti-inflammatory, and antiapoptotic activities. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 397(10), 7683–7695. doi:10.1007/s00210-024-03110-x.
- Sheu, M.-J., Chen, S.-Y., Chyau, C.-C., Lin, Y.-C. ve Duh, P.-D. (2024). Mitigation of LPS-Induced Inflammatory Responses Via Inhibition of NF- κ B and MAPK Signaling Pathways by Betanin, a Coloring Agent. *Journal of Food and Nutrition Research*, 12(1), 26–33. doi:10.12691/jfnr-12-1-3.
- Silva, M.I.G, Sousa F.C.F. *Gastric Ulcer Etiology*. In: Chai Y, eds. Peptic ulcer disease. 1st ed. Croatia; 2011, p:3-28.
- Silva, D. V. T., dos Santos Baião, D., de Oliveira Silva, F., Alves, G., Perrone, D., Del Aguila, E. M. ve Flosi Paschoalin, V. M. (2019). Betanin, a natural food additive: Stability, bioavailability, antioxidant and preservative ability assessments. *Molecules*, 24(3). doi:10.3390/molecules24030458.
- Silva, D. V. T. da, Baião, D. dos S., Ferreira, V. F. ve Paschoalin, V. M. F. (2021). Betanin as a multipath oxidative stress and inflammation modulator: a beetroot pigment with protective effects on cardiovascular disease pathogenesis. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(2), 539–554. doi:10.1080/10408398.2020.1822277.
- Simmons, D. L., Botting, R. M. ve Hla, T. (2004). Cyclooxygenase isozymes: The biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacological Reviews*, 56(3), 387–437. doi:10.1124/pr.56.3.3.
- Simões, S., Lopes, R., Campos, M. C. D., Marruz, M. J., da Cruz, M. E. M. ve Corvo, L. (2019). Animal models of acute gastric mucosal injury: Macroscopic and microscopic evaluation. *Animal Models and Experimental Medicine*, 2(2), 121–126. doi:10.1002/ame2.12060.
- Singh, N., Singh, A. ve Masih, D. (2019). Red beetroot: A source of natural colourant and antioxidants: A review. ~ 162 ~ *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(4), 162–166.
- Slomiany, A., Slomiany, B. L. ve Horowitz, M. I. (1975). Studies on changes in lipid profiles of

- the rat gastric mucosa with stress ulcers. *Clinica Chimica Acta*, 59(2), 215–226. doi:10.1016/0009-8981(75)90032-7.
- Song, W., Derito, C. M., Liu, M. K., He, X., Dong, M. ve Liu, R. H. (2010). Cellular antioxidant activity of common vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(11), 6621–6629. doi:10.1021/jf9035832.
- Srivastava, R. P., Kumar, S., Singh, L., Madhukar, M., Singh, N., Saxena, G., ... Rustagi, S. (2023). Major phenolic compounds, antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic activities of *Selinum carvifolia* (L.) collected from different altitudes in India. *Frontiers in Nutrition*, 10, 1–16. doi:10.3389/fnut.2023.1180225.
- Sulakhiya, K., Patel, V., Saxena, R., Dashore, J., Srivastava, A. ve Rathore, M. (2016). Effect of *Beta vulgaris* Linn. leaves extract on anxiety- and depressive-like behavior and oxidative stress in mice after acute restraint stress. *Pharmacognosy Research*, 8(1), 1–7. doi:10.4103/0974-8490.171100.
- Süleyman, H., Albayrak, A., Bilici, M., Cadirci, E. ve Halici, Z. (2010). Different mechanisms in formation and prevention of indomethacin-induced gastric ulcers. *Inflammation*, 33(4), 224–234. doi:10.1007/s10753-009-9176-5.
- Sun, V. I., Oberley, L. ve U', V. (1988). 497 2Present address: Radiation Research Laboratory, 14 Medical Laboratories, The University of Iowa. *Clinical Chemistry*, 34(3), 497–500. <https://academic.oup.com/clinchem/article-abstract/34/3/497/5661714> adresinden erişildi.
- Susam, S., İlhan, N., Tedik, F., Berk, B. ve İlhan, A. Ş. (2023). The protective effect of tangeretin and pomegranate separately and in combination on ethanol-induced acute gastric ulcer model. *Cukurova Medical Journal*, 48(3), 859–867. doi:10.17826/cumj.1314757.
- Tan, D., Wang, Y., Bai, B., Yang, X. ve Han, J. (2015). Betanin attenuates oxidative stress and inflammatory reaction in kidney of paraquat-treated rat. *Food and Chemical Toxicology*, 78, 141–146. doi:10.1016/j.fct.2015.01.018.
- Tanaka, A., Araki, H., Hase, S., Komoike, Y. ve Takeuchi, K. (2002). Up-regulation of COX-2 by inhibition of COX-1 in the rat: A key to NSAID-induced gastric injury. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics, Supplement*, 16(2), 90–101. doi:10.1046/j.1365-2036.16.s2.22.x.
- Taşdemir, B. ve Boyacıoğlu, M. (2019). Ratlarda İndometazinle Oluşturulan Gastrik Ülser Üzerine Silimarinin Koruyucu Etkileri. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 13(3), 109–

114. doi:10.32707/ercivet.595636.

- Taştekin, E., Ayvaz, S., Usta, U., Aydogdu, N., Cancilar, E. ve Oz Puyan, F. (2018). Indomethacin-induced gastric damage in rats and the protective effect of donkey milk. *Archives of Medical Science*, 14(3), 671–678. doi:10.5114/aoms.2016.59645.
- Tesoriere, L., Butera, D., Pintaudi, A. M., Allegra, M. ve Livrea, M. A. (2004). Supplementation with cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit decreases oxidative stress in healthy humans : a comparative study with vitamin C 1 – 3. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80(2), 391–395. doi:10.1093/ajcn/80.2.391.
- Tietze, F. (1969). Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: Applications to mammalian blood and other tissues. *Analytical Biochemistry*, 27(3), 502–522. doi:10.1016/0003-2697(69)90064-5.
- Tomatır, A. G. (2003). Apoptoz : Programlı Hücre Ölümü. *T Klin Tıp Bilimleri*, 499–508.
- Toth, S., Jonecova, Z., Mareta, M., Curgali, K., Kalpakidis, T., Pribula, M., ... Kruzliak, P. (2019). The effect of Betanin parenteral pretreatment on Jejunal and pulmonary tissue histological architecture and inflammatory response after Jejunal ischemia-reperfusion injury. *Experimental and Molecular Pathology*, 110, 104292. doi:10.1016/j.yexmp.2019.104292.
- Tural, K., Ozden, O., Bilgi, Z., Merhan, O., Ermutlu, C. S. ve Aksoyek, A. (2019). Protective Effects of Betanin against Oxidative Stress in a Peripheral Artery Vasospasm Model in Rat. *Journal of Investigative Surgery*, 34(2), 208–213. doi:10.1080/08941939.2019.1587555.
- Uslu, G. A. ve Uslu, H. (2019). Sıçanlarda İndometazin ile İndüklenen Mide Ülseri Üzerine Krom Pikolinatın Koruyucu Etkileri, *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 8(3), 237-244.
- Üstündağ, H., Taş, N. G., Kurt, N., Issin, G., Danışman Kalındemirtaş, F. ve Karakuş, S. (2024). Potential Role of *Laurus nobilis* Essential Oil in Reducing Indomethacin-Induced Gastric Ulcer in Rats. *Online Türk Sağlık Bilimleri Dergisi*, 9(1), 89–96. doi:10.26453/otjhs.1417755.
- Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M. ve Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160(1), 1–40. doi:10.1016/j.cbi.2005.12.009.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M. ve Telser, J. (2007). Free radicals

- and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39(1), 44–84. doi:10.1016/j.biocel.2006.07.001.
- Van Velzen, A. G., Sips, A. J. A. M., Schothorst, R. C., Lambers, A. C. ve Meulenbelt, J. (2008). The oral bioavailability of nitrate from nitrate-rich vegetables in humans. *Toxicology Letters*, 181(3), 177–181. doi:10.1016/j.toxlet.2008.07.019.
- Vdoviaková, K., Petrovová, E., Maloveská, M., Krešáková, L., Teleky, J., Elias, M. Z. J. ve Petrášová, D. (2016). Surgical anatomy of the gastrointestinal tract and its vasculature in the laboratory rat. *Gastroenterology Research and Practice*, 2016. doi:10.1155/2016/2632368.
- Wallace, J. L. ve Mcknight, G. W. (1993). Characterization of a simple animal model for nonsteroidal anti-inflammatory drug induced antral ulcer. *Gastrointestinal Research Group, Faculty of Medicine, The University of Calgary, Calgary AB T2N 4N1, Canada*.
- Wallace, J. L., McKnight, W., Reuter, B. K. ve Vergnolle, N. (2000). NSAID-Induced gastric damage in rats: Requirement for inhibition of both cyclooxygenase 1 and 2. *Gastroenterology*, 119(3), 706–714. doi:10.1053/gast.2000.16510.
- Wolfe, M. B. ve Singh, G. (2014). Gastrointestinal Toxicity of Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs. *The New England Journal of Medicine*, Volume 340, 1888-1899. doi:10.1056/NEJM199906173402407.
- Wootton-Beard, P. C., Moran, A. ve Ryan, L. (2011). Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin-Ciocalteu methods. *Food Research International*, 44(1), 217–224. doi:10.1016/j.foodres.2010.10.033.
- Wu, Z., Chen, L., Wang, Q., Govindasamy, C., Subramaniyan Sivakumar, A. ve Chen, X. (2023). Betanin ameliorates Lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice via inhibition of inflammatory response and oxidative stress. *Arabian Journal of Chemistry*, 16(6), 104763. doi:10.1016/j.arabjc.2023.104763.
- Wu, T., Zhang, H., Jin, Y., Zhang, M., Zhao, Q., Li, H., ... Liu, W. (2024). The active components and potential mechanisms of Wuji Wan in the treatment of ethanol-induced gastric ulcer: An integrated metabolomics, network pharmacology and experimental validation. *Journal of Ethnopharmacology*, 326, 117901. doi:10.1016/j.jep.2024.117901.
- Zhang, Q., Pan, J., Wang, Y., Lubet, R. ve You, M. (2012). Beetroot red (betanin) inhibits vinyl carbamate- and benzo(a)pyrene-induced lung tumorigenesis through apoptosis. *Molecular*

Carcinogenesis, 52(9), 686–691. doi:10.1002/mc.21907.

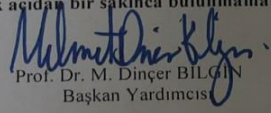
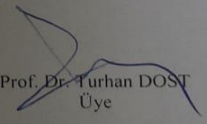
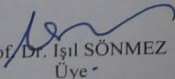
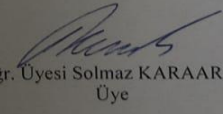
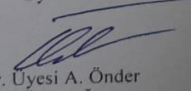
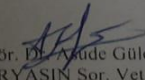
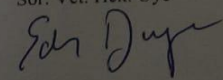
Zhou, D., Yang, Q., Tian, T., Chang, Y., Li, Y., Duan, L. R., Wang, S. W. (2020). Gastroprotective effect of gallic acid against ethanol-induced gastric ulcer in rats: Involvement of the Nrf2/HO-1 signaling and anti-apoptosis role. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 126, 110075. doi:10.1016/j.biopha.2020.110075.

Zielińska-Przyjemska, M., Olejnik, A., Kostrzewa, A., Śuczak, M., Jagodziński, P. P. ve Baer-Dubowska, W. (2012). The beetroot component betanin modulates ROS production, DNA damage and apoptosis in human polymorphonuclear neutrophils. *Phytotherapy Research*, 26(6), 845–852. doi:10.1002/ptr.3649.

Zununi Vahed, S., Ardalan, M., Khalilov, R. ve Ahmadian, E. (2019). Betanin prohibits cisplatin-induced nephrotoxicity through targeting mitochondria. *Journal of Research in Pharmacy*, 23(6), 1131–11399. doi:10.35333/jrp.2019.78.

EKLER

Ek 1 ADÜ-HADYEK

	T.C. AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU (AYDIN ADÜ-HADYEK)	
Aydın, 21.07.2022		
Oturum	: Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2022 Yılı V. Oturum	
Sayı	: 64583101/2022/60	
Proje Başlığı	: Ratlarda indometazin ile indüklenen gastrik ülsera karşı betaninin koruyucu etkilerinin araştırılması	
Proje Yürütücüsü	: Murat BOYACIOĞLU	
Proje Ekibi	: Serdar BAYIL	
	Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:	
	İnsan embriyosu ve fütusu kullanılması	
	İnsan embriyosu ve fütusu 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. Murat SARIERLER Başkan	 Prof. Dr. M. Dinçer BILGIN Başkan Yardımcısı	 Prof. Dr. Turhan DOST Üye
 Prof. Dr. Işıl SÖNMEZ Üye	Prof. Dr. Serkan BAKIRCI Üye	 Dr. Öğr. Üyesi Solmaz KARAARSLAN Üye
 Dr. Öğr. Üyesi A. Önder ÜSTÜNDAĞ Üye	Dr. Öğr. Üyesi Aysun KOÇ Üye	 Öğr. Gör. Dr. Ayşe Gülce GÜLER ORYAŞIN Sor. Vet. Hek. Üye
Hidayet YAMAN Serbest Vet. Hek. Üye	Arş. Gör. Eda Duygu İPEK Sor. Vet. Hek. Üye 	Şenay TEKİNBAŞ HAYTAP Üye.
Bu rapor, sadece Adnan Menderes Üniversitesi'nde yapılacak çalışmalar için geçerlidir.		

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“Ratlarda indometazinle indüklenen gastrik ülserle karşı betaninin koruyucu etkilerinin araştırılması” başlıklı Doktora tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

.....

Serdar BAYİL

23.06.2025

ÖZ GEÇMİŞ

Soyadı, Adı : BAYİL Serdar
Uyruk : T.C.
Doğum yeri ve tarihi : Adilcevaz / 03.03.1980
Telefon : 0 542 692 34 88
E-posta : serdar.bayil@tarimorman.gov.tr
Yabancı dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Doktora	-	
Y. Lisans	-	
Lisans	Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi	06.06.2003
Lise	Beydere Ziraat Meslek Lisesi	1998

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2000-2004	Tarım ve Orman Bakanlığı	Ziraat Teknisyeni
2004-2025	Tarım ve Orman Bakanlığı	Veteriner Hekim