

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**SIÇANLARDA İNDOMETAZİNLE OLUŞTURULAN MİDE
ÜLSERİ ÜZERİNE TETRAHİDROBİOPTERİNİN
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

DENİZ YAVUZ

**DANIŞMAN
YRD. DOÇ. DR. GÖKÇE TOPAL TANYILMAZ**

**FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
FARMAKOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2011

İstanbul ve Dok. U. Bşk.

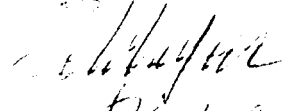
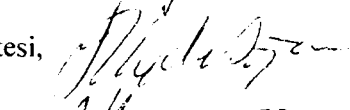
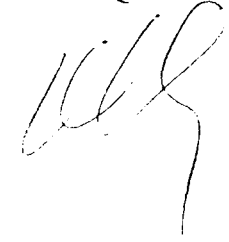
Tez No:	6.7426
Tez No:	

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı Farmakoloji Programında Ecz. Deniz Yavuz tarafından hazırlanan " Sıçanlarda İndometazinle Oluşturulan Mide Ülseri Üzerine Tetrahidrobiopterinin Etkisinin İncelenmesi" başlıklı Yüksek Lisans tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

08 / 02 / 2011

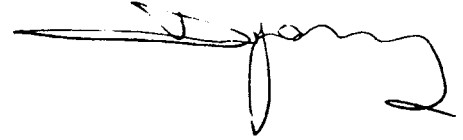
Tez Sınav Jürisi

<u>Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)</u>	<u>İmzası</u>
1.Prof. Dr. Zeliha YAZICI (İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji Anabilim Dalı)	
2.Prof. Dr. Sönmez UYDEŞ DOĞAN (İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı)	
3.Yrd. Doç. Dr. Alper OKYAR (İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı)	
4.Yrd. Doç. Dr. Gökçe TOPAL TANYILMAZ (İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı)	
5.Yrd. Doç. Dr. F. İlkay ALP YILDIRIM (İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı)	

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Deniz Yavuz



İTHAF

Aileme ithafen...

TEŞEKKÜR

Tezimin yönetilmesi ve yönlendirilmesinde yakın ilgi ve desteğini gördüğüm danışman

hocam sayın *Yrd. Doç. Dr. Gökçe TOPAL TANYILMAZ'a*

Tez çalışmalarım sırasında deneyimlerinden yararlanma fırsatı bulduğum Anabilim Dalı

başkanımız sayın *Prof. Dr. Gül BAKTIR'a*,

Değerli görüşlerinden ve bilgisinden her zaman yararlandığım Sayın Prof. Dr.

Sönmez UYDEŞ DOĞAN'a,

Tezimin deneysel kısmının gerçekleştirilmesinde önemli desteğini gördüğüm *Yrd. Doç.*

Dr. Alper OKYAR'a, Yrd. Doç. Dr. F. İlkey ALP YILDIRIM'a ve Yrd. Doç. Dr. Selçuk

TAKIR'a

Tezime katkılarından dolayı İ.Ü. Veterinerlik Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'ndan

sayın *Prof. Dr. Aydın GÜREL'e ve Yrd. Doç. Dr. Gülbin AYYILDIZ SENNAZLI'ya*,

Yüksek lisans eğitimim süresince verdikleri destekten dolayı *Dr. Ecz. Deniz KALELİ*

DURMAN'a, Dr. Ecz. Zeliha PALA KARA'ya ve Dr. Ecz. Nihan ÇARÇAK'a,

Yüksek lisans eğitimim süresince çalışma arkadaşlarım olan *Uzm. Ecz. Deniz EKER*

KIZILAY'a, Uzm. Ecz. Narin ÖZTÜRK'e ve Ecz. İsmail Hakkı ALTUN'a,

Yaşamımın her döneminde maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, her zaman teşvik ve takdirleriyle beni yüreklendiren *anneme, babama ve kardeşim Gizem'e* sonsuz

teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No : 4863

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN	İİİ
İTHAF	İV
TEŞEKKÜR	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
TABLolar LİSTESİ	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Mide.....	3
2.1.1. Midenin Yapısı ve İşlevleri	3
2.1.2. Gastroprotektif Faktörler	5
2.1.2.1. Mukus Tabakası	6
2.1.2.2. Bikarbonat (HCO_3^-) İyonları:.....	8
2.1.2.3. Mukozal Kan Akımı:	9
2.1.2.4. Prostaglandinler	10
2.1.2.5. Diğer Faktörler:.....	12
2.1.3. Gastrik Hasar Oluşumunda Rol Oynayan Faktörler	16
2.1.3.1. İnflamatuvar Mediyatörler	16
2.1.3.2. Serbest Radikaller	17
2.1.3.3. Diğer faktörler.....	19
2.2. Non-Steroidaİ Anti-İnflamatuvar İlaçlar	19
2.2.1. NSAİİ'lerin Temel Etkileri.....	22
2.2.1.1. Analjezik Etkileri	22
2.2.1.2. Antipiretik Etkileri.....	23
2.2.1.3. Antiinflamatuvar Etkileri	23
2.2.2. NSAİİ'lerin Yan Etkileri	23
2.2.3. COX-2 İnhibitörleri	24
2.2.4. NO Serbestleyen NSAİİ	26

2.2.5. NSAİİ Kaynaklı Ülser Oluşumunda Etkili Mekanizmalar	28
2.2.5.1. Prostaglandin Sentezinin İnhibisyonu	28
2.2.5.2. İnflamatuar Faktörler	29
2.2.5.3. Oksidatif yapılar ve Serbest Radikaller	31
2.2.5.4. Gastrik Motilite artışı ve Mukozal Kan Akımının Engellenmesi	32
2.2.5.5. Lokal Etki	32
2.2.6. NSAİİ'ye Bağlı Ülserin Tedavisi ve Profilaksisinde Kullanılan İlaçlar	33
2.2.6.1. Sükralfat	34
2.2.6.2. H ₂ Reseptör Blokerleri	35
2.2.6.3. Antasidler	36
2.2.6.4. Proton Pompası İnhibitörleri	37
2.2.6.5. Misoprostol	38
2.3. Tetrahidrobiopterin	39
2.3.1. Biyosentezi	39
2.3.2. BH ₄ ve NOS Aktivitesi	40
2.3.3. BH ₄ ve Endotel Disfonksiyonu	41
2.3.4. BH ₄ ve Fenilketonüri	42
3. GEREÇ VE YÖNTEM	45
3.1. Kullanılan Dency Hayvanları	45
3.2. Kullanılan Aletler	45
3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Hazırlanışları	46
3.4. Yöntem	47
3.4.1. Sıçanlarda İndometazinle Gastrik Ülser Oluşturulması	47
3.4.2. İndometazin ile Oluşturulan Gastrik Ülser Üzerine BH ₄ 'ün Etkisinin İncelenmesi	48
3.4.3. BH ₄ 'ün İndometazin ile Oluşturulan Gastrik Ülser Üzerine Etkisinde iNOS'un Rolünün İncelenmesi	50
3.4.4. BH ₄ 'ün Gastrik Ülser Oluşumu Üzerine Direkt Etkisinin İncelenmesi	52
3.4.5. Histolojik İnceleme Yöntemi	52
3.4.5.1. Mikroskopik İnceleme	52
3.4.5.2. Nötrofil Lökosit Sayısının Belirlenmesi	52
3.4.6. İstatistiksel Analiz Yöntemi	52
4. BULGULAR	54

4.1. İndometazinin Gastrik Ülser Oluşturucu Etkisi.....	54
4.2. İndometazinle oluşturulan Gastrik Ülser Üzerinde BH ₄ 'ün Etkisi.....	55
4.3. BH ₄ 'ün İndometazin Ülseri Üzerindeki Etkisinde iNOS'nin Rolü	58
4.4. BH ₄ 'ün Gastrik Mukoza Üzerindeki Direkt Etkisi.....	61
4.5. Histolojik İnceleme Sonuçları	62
5. TARTIŞMA.....	68
KAYNAKLAR.....	74
ETİK KURUL KARARI.....	85
ÖZGEÇMİŞ.....	86

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1 : NSAİİ'nin kimyasal yapılarına uygun olarak sınıflandırılması.	21
Tablo 4-1 : Sıçanlarda oral yoldan indometazin (30 mg/kg) veya çözücüsü (% 5 NaHCO ₃)	54
Tablo 4-2 : Sıçanlarda (30 mg/kg) indometazinle oluşturulan gastrik ülser lezyonları üzerinde BH ₄ 'ün (20 mg/kg) etkisi.....	57
Tablo 4-3 : Selektif iNOS inhibitörü 1400W (10 mg/kg)'nun indometazinle oluşturulan gastrik ülser lezyonları üzerindeki etkisi.	60
Tablo 4-4 : BH ₄ 'ün sıçanlarda indometazin ile oluşturulan ülser üzerine etkisine ilişkin histolojik değerler.	67
Tablo 4-5 : BH ₄ 'ün sıçanlarda indometazin ile oluşturulan ülser üzerine etkisine ilişkin inflamatuvar hücre değerleri.....	67

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1 : BH ₄ 'ün biyosentezi. – Alp ve Channon 2004'ten değiştirilerek.	40
Şekil 3-1 : Sıçanlarda indometazinle oluşturulan gastrik ülser lezyonlarına BH ₄ 'ün etkisinin incelendiği çalışmanın şeması.	49
Şekil 3-2 : BH ₄ 'ün indometazin ile oluşturulan gastrik ülser üzerine etkisinde iNOS'un rolünün incelendiği çalışmanın şeması.....	51
Şekil 4-1 : Sıçanlarda oral yoldan indometazin (30 mg/kg) veya çözücüsü (% 5 NaHCO ₃) uygulanmasının gastrik mukoza üzerindeki ülseratif etkisi.....	54
Şekil 4-2 : Sıçanlarda indometazinle oluşturulan gastrik ülser lezyonları (NaHCO ₃ + İndometazin – Kontrol)	56
Şekil 4-3 : Sıçanlarda indometazinle oluşturulan gastrik ülser lezyonları üzerinde 20 mg/kg BH ₄ 'ün etkisi.	56
Şekil 4-4 : Sıçanlarda (30 mg/kg) indometazinle oluşturulan gastrik ülser lezyonları üzerinde BH ₄ 'ün (20 mg/kg) etkisi.....	57
Şekil 4-5 : Selektif iNOS inhibitörü 1400W'nun (10 mg/kg) indometazinle oluşturulan gastrik ülser lezyonları üzerindeki etkisi.	59
Şekil 4-6 : 1400W ile birlikte BH ₄ 'ün (BH ₄ + 1400W) indometazinle oluşturulan gastrik ülser lezyonları üzerindeki etkisi.	59
Şekil 4-7 : Selektif iNOS inhibitörü 1400W (10 mg/kg)'nun indometazinle oluşturulan gastrik ülser lezyonları üzerindeki etkisi. (n: 13-22).....	60
Şekil 4-8 : Sıçanlarda indometazin (30 mg/kg) uygulanması sonunda midelerin histolojik görünümü. (n= 8). (Mikroskopik Büyütme A: 10x, B: 20x).....	63
Şekil 4-9 : Sıçanlarda indometazinle (30 mg/kg) oluşturulan gastrik ülser üzerinde BH ₄ 'ün uygulanması sonunda midelerin histolojik görünümü. (n= 8). (Mikroskopik Büyütme A: 10x, B: 20x)	64
Şekil 4-10 : Sıçanlarda indometazinle (30 mg/kg) oluşturulan gastrik ülser üzerinde 1400W'nun (A ve B) uygulanması sonunda midelerin histolojik görünümü. (n= 8).65	
Şekil 4-11 : Sıçanlarda indometazinle (30 mg/kg) oluşturulan gastrik ülser üzerinde BH ₄ + 1400W uygulanması sonunda midelerin histolojik görünümü. (n= 8). (Mikroskopik Büyütme A: 10x, B: 20x)	66

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

bFGF = Temel Fibroblast Büyüme Faktörü

BH₄= Tetrahidrobiopterin

CINC-1= Nötrofil Kemoatraktant-1

COX-1= Siklooksijenaz-1

COX-2= Siklooksijenaz-2

COX-PG= Siklooksijenaz-Prostaglandin

CGRP= Kalsitonin Gen İlişkili Peptid

EGF= Epidermal Büyüme Faktörü

ET= Endotelin

FAD= Flavin Adenin Dinükleotid

FMN= Flavin Mono Nükleotid

GTPCH= Guanidin Trifosfat Siklohidrolaz

GP_x= Glutasyon Peroksidaz

GSH= Glutasyon

GTN= Gliseril trinitrat

H₂O₂= Hidrojenperoksit

HGF= Hepatosit Büyüme Faktörü

HCO₃⁻ = Bikarbonat

ICAM-1= İntraselüler Adezyon Molekülü-1

IL-1= İnterlökin-1

IL-1 β = İnterlökin-1 beta

LPS= Lipopolisakkarit

MCP-1= Monosit Kemoatraktant protein-1

MDA= Malondialdehit

MPO= Myeloperoksidaz

NADPH= Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat

NBC= Sodyum-Bikarbonat Cotransportu

NO= Nitrik Oksit

NO₂⁻= Nitrojen Dioksit

NOS= Nitrik Oksit Sentaz

cNOS= yapısal NOS

eNOS= endotelyal NOS

iNOS= indüklenabilir NOS

nNOS= nöronal NOS

O₂⁻= Süperoksit radikal anyonu

OH⁻= Hidroksil radikali

PDGF= Platelet Türevi Büyüme Faktörü

PGE₂= Prostaglandin E₂

PGF= Trombosit kaynaklı büyüme faktörü

PGH₂= Prostaglandin G₂

PGI₂= Prostatiklin

PMN= Polinükleer lökosit

ROS= Reaktif oksijen ürünleri

cAMP= siklik Adenozin Mono Fosfat

cGMP=siklik Guanozin Mono Fosfat

SOD= Süperoksit Dismutaz

TGF= Transforme edici büyüme faktörü

TNF- α = Tümör nekroz Faktörü- α

TxA₂= Tromboksan A₂

VEGF= Vasküler endotel Kaynaklı Büyüme Faktörü

ÖZET

Yavuz, D. (2010). Sıçanlarda İndometazinle Oluşturulan Mide Ülseri Üzerine Tetrahidrobiopterinin Etkisinin İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji ABD. Yüksek Lisans, İstanbul.

Tetrahidrobiopterin (BH4) Nitrik Oksit Sentazın (NOS) enzimatik aktivitesi için gerekli olan esansiyel bir kofaktördür. Son yıllarda, BH4 takviyesinin (suplementasyonu) kardiyovasküler hastalıklarda görülen endotel fonksiyon bozukluğunu (endotel disfonksiyonu) geri döndürebildiğini gösteren çok sayıda klinik çalışma bulunmaktadır. Öte yandan, Amerikan Besin İlaç Dairesi tarafından fenilalanin hidroksilaz enziminin kofaktörü de olan BH4'ün fenilketonüri tedavisinde kullanımı onaylanmıştır. Dolayısıyla, BH4'ün vasküler etkilerinin yanı sıra non-vasküler etkilerinin de olabileceği gündeme gelmiştir. Bu nedenle, çalışmamızda indometazinle gastrik ülser oluşturulan sıçanlarda BH4'ün etkisi incelenmiştir. Kontrol grubu dışındaki sıçanlara 2 gün boyunca BH4 (20 mg/kg.) uygulanmıştır. Son gün, BH4 sıçanlara oral olarak indometazin (30 mg/kg) uygulanmasından iki saat önce verilmiştir.. Gastrik mukoza 6 saat sonra incelenerek ülserasyon alanları hem makroskobik olarak ölçülmüş (mm) hem de mikroskobik olarak değerlendirilmiştir. BH4'ün etkisine iNOS'nin ve mukozaya nötrofil infiltrasyonunun katılımı incelenmiştir. Bulgularımız, BH4'ün indometazin ile oluşturulan gastrik ülser lezyonlarını istatistiksel olarak anlamlı düzeyde şiddetlendirdiğini göstermiştir. Histopatolojik sonuçlar bu bulguları desteklemiş ve BH4'ün indometazinle oluşturulan gastrik ülseri şiddetlendirici etkisine mukozaya nötrofil infiltrasyonundaki artışın ve iNOS'nin aracılık ettiği belirlenmiştir. Öte yandan, BH4'ün gastrik mukoza üzerinde direkt ülserojen bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Sonuç olarak, çalışmamızda elde edilen bulguların BH4'ün klinikte kullanımı açısından önemli bir veri olabileceğini önermekteyiz.

Anahtar Kelimeler : BH4, İndometazin, Gastrik Ülser, iNOS, Nötrofil infiltrasyonu

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 4863

ABSTRACT

Yavuz D, (2010). Effects of Tetrahydrobiopterin On Indomethacin Induced Gastric Ulcer in Rats. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Pharmacology, Master Thesis. İstanbul.

Tetrahydrobiopterin (BH4) is an essential co-factor required for enzymatic activity of NOS. In recent years, there were several clinical studies that have reported the beneficial effects of BH4 supplementation on endothelial dysfunction observed in cardiovascular diseases. BH4 is also cofactor of phenylalanin hydroxylase and therefore BH4 was approved as a drug for the treatment of patients with phenylketonuria by US Food and Drug Administration. Therefore, despite the vascular effects of BH4, its non-vascular effects have been the focus considerable of investigations. Hence, in this study, the effect of BH4 on indomethacin-induced gastric ulcers in rats were investigated. The rats received BH4 (20mg/kg p.o.) for 2 days. On the last day, indomethacin (30mg/kg p.o.) administered to 18-h fasting for to induce gastric ulcers. BH4 was given two hours before indomethacin administration. The gastric mucosa examined 6 h later. In another group of experiments, the direct effect of BH4 on gastric mucosa was investigated. Ulcer lesions were measured macroscopically (mm) and also evaluated microscopically. We tried to enlighten the action mechanism of BH4 by investigating contribution of iNOS and also neutrophil infiltration. Macroscopic results showed that 20 mg/kg BH4 statistically significantly aggravated ulcer lesions. It was also determined that the effect of BH4 on aggravation of indomethacin induced gastric ulcer is related to an increased neutrophil infiltration to gastric mucosa as well as to iNOS. Furthermore, it was found that BH4 has no direct ulcerogenic effect on gastric mucosa. In conclusion, our results may offer considerable data in the clinical use of BH4.

Key Words: BH₄, Indomethacin, Gastric Ulcer, iNOS, Neutrophil Infiltration

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 4863

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Non-steroidal anti-inflamatuar ilaçlar (NSAİİ) analjezik, antipiretik, antiinflamatuar etkilerinden dolayı romatoit artrit ve osteoartrit gibi inflamatuvar hastalıkların tedavisinde kullanılabilmektedir. Ancak bu ilaçların kronik olarak kullanımı sırasında gastrointestinal sistem üzerinde dispeptik semptomlar, kanama ya da ülser gibi yan etkiler oluşabilmektedir. NSAİİ'ye bağlı ülser oluşumunun mekanizması tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte bu olumsuz etkilere gastrik motilitede artışın, inflamatuvar faktörlerin ve serbest radikallerin fazlaca artışı, nötrofil lökosit infiltrasyonunun, lipid peroksidasyonunun, yararlı prostaglandinlerin sentezinin azalmasının ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) düzeylerindeki artışın aracılık ettiği öne sürülmektedir. Gastrik mukozanın bütünlüğünün korunması vazokonstriktör ve vazodilatör maddeler arasındaki dengeyle ilişkilidir. Endotelyal vazodilatörler olan prostasiklin, prostaglandin E₂ ve nitrik oksit (NO), gastrik mukozada yeterli kan akımının oluşumunu sağlarken, endotelin-1 ve tromboksan A₂ mukozal kan akımını kısıtlayarak gastrik mukozal hasarı kötüleştiren vazokonstriktörlerdir. Deneysel ülser modellerinde, NSAİİ'nin ülserasyon bölgesinde gastrik mukozal kan akımını azalttığı gösterilmiştir. Birçok farklı çalışmada ise NSAİİ'ye bağlı gelişen gastrointestinal hasarlarda oksidatif stresin arttığı gösterilmiştir. Bu nedenle, vazodilatör, antioksidan ya da antiinflamatuar özellikteki ilaçların NSAİİ'lerin gastrointestinal sistem üzerindeki ülseratif yan etkilerinin azaltılmasında etkili olabilecekleri öngörülmektedir.

Tetrahidrobiopterin (BH₄), L-arjininden NO sentezine aracılık eden NOS enzimin esansiyel kofaktörüdür. BH₄ yetersizliğinde NOS enziminin NO yerine süperoksit iyonları ürettiği gösterilmiş ve bu durumda NOS'nin kenetsizlenmesi reaksiyonu olarak tanımlanmıştır. Son yıllardaki çalışmalar, eNOS'nin kenetsizlenmesi reaksiyonunun kardiyovasküler hastalıklarda görülen endotel fonksiyon bozukluğu (endotel disfonksiyonu) gelişiminde önemli bir rol oynadığını ortaya koymuştur.

BH₄ miktarlarının yetersizliğinin BH₄'ün oksidatif stresle özellikle de peroksinitrit (ONOO⁻) ile oksitlenmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. BH₄'ün oksidatif stresle kimyasal inaktivasyonu eNOS kenetsizlenmesine neden olur ve böylece hem NO'nun azalması hem de oksidatif stresin artması sonucunda endotel disfonksiyonunun oluşumunu tetiklediği öne sürülmektedir. Son 10 yıl içerisinde ise, kardiyovasküler hastalıklarda görülen endotel disfonksiyonu üzerine dışarıdan BH₄ takviyesinin (suplemantasyonun) etkilerini inceleyen çeşitli klinik çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda BH₄ takviyesinin endotel disfonksiyonunu geri döndürebildiği gösterilmiştir. Ayrıca, BH₄ NOS'nin yanı sıra fenilalanin hidroksilaz enziminin de kofaktörüdür. Bu nedenle, FDA tarafından fenilketonüri hastalarında BH₄'ün sentetik bir formülasyonu olan sapropterinin kullanımının onaylanması BH₄'ün vasküler etkilerinden bağımsız olarak da kullanımını ön plana çıkarmıştır.

Öte yandan, BH₄'ün gastrointestinal sistem üzerine olan etkileri ise tam olarak da bilinmemektedir. Bu nedenle çalışmamızda, son dönemlerde gerek vasküler etkileri gerekse de fenilketonüri tedavisinde kullanımı ile gündeme gelen BH₄'ün sıçanlarda indometazinle ile oluşturulacak deneysel gastrik ülser modeli üzerindeki etkilerinin araştırılması hedeflenmiştir.

Bu amaçla BH₄ 2 gün süreyle 20mg/kg dozda sıçanlara uygulanmıştır. BH₄ sıçanlara oral olarak ve indometazin (30mg/kg) uygulanmasından iki saat önce verilmiştir. BH₄'ün gastrik ülser lezyonları üzerindeki etkisine iNOS'nin ve mukozaya nötrofil infiltrasyonunun katılımı değerlendirilmiştir. Çalışmamızda ayrıca BH₄'ün gastrik mukoza üzerinde direkt bir ülserojenik etkisinin olup olmadığı da incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mide

2.1.1. Midenin Yapısı ve İşlevleri

Mide, diafragmanın altında, karın boşluğunun üst bölümünde yer almış, sindirim kanalının en geniş bölümüdür. Kabaca J harfi şeklinde olup iki eğriliği, iki deliği, dört bölümü vardır. Midenin ön duvarı paries anterior, arka duvarı ise paries posterior olarak adlandırılır. Bu iki duvar, uzun eksen boyunca sağda ve solda birer eğrilikte birleşmişlerdir. Sağ taraftaki konkav eğriliğe küçük eğrilik (curvatura minor) sol taraftaki konveks eğriliğe büyük eğrilik (curvatura major) denir. Midenin yukarıda yemek borusu ile birleşen deliğine ostium cardiacum, 12 parmak bağırsağına açılan alt deliğine ise ostium pyloricum denir. Her iki delik etrafında içerik akışını kontrol eden sfinkterler vardır. Bunlardan pilorik delik etrafındaki sfinkter daha güçlüdür ve ancak belirli bir pH'daki sıvı veya kimusun geçişine izin verir (Yıldırım 2002 p. 74).

Mide beş bölümden oluşmaktadır (Yıldırım 2002 p. 74-76):

Kardia Bölümü (cardia, pars cardiaca)

Fundus Bölümü (fundus gastricus)

Mide Cismi (corpus gastricum)

Pilorik Bölüm (pars pylorica)

Pilor (pylorus)

Mide duvarı dört tabakadan oluşmaktadır:

1) Mukoza Tabakası: Midenin iç yüzeyi mide mukozası ile kaplıdır. Mide mukozasında iki önemli tip tübüler bez bulunur. Bunlar oksintik (gastrik) bezler ve pilorik bezlerdir. Oksintik (asid oluşturan) bezler hidroklorik asid, pepsinojen, ileumda B12 vitamininin emilimi için gerekli olan intrinsik faktör ve mukus salgılar. Pilorik bezler esas olarak pilor mukozasını koruyan mukus ve gastrin hormonu ve az miktarda da pepsinojen salgılar.

Midenin tübüler bezlerinde bu maddeleri salgılayan 4 tip hücre bulunmaktadır:

Peptik (Esas) Hücreler: Pepsinojen salgılarlar.

Pariyetal (Oksintik) Hücreler: Hidroklorik asid ve intrinsik faktör salgılarlar.

Müköz Boyun Hücreleri: Mukus salgılarlar.

Endokrin Hücreler: Serotonin, enteroglukagon ve histamin salgılarlar (Yıldırım 2002 p. 76).

2) Submukoza Tabakası: Kan damarları, sinir ağı (Meissner pleksusu), lenf damarları ve lefoid doku elemanları içeren gevşek bağ dokusundan oluşmaktadır.

3) Muskuler Tabaka: Muskuler tabaka 3 katmanlı ve kalındır. En dıştaki kas lifleri longitudinal, ortadakiler sirküler, en içtekiler ise obliktir.

4) Seröz Tabaka: En dıştaki tabakadır. Peritonun visseral yaprağından oluşmuştur (Yıldırım M, 2002 p. 76).

Gastrointestinal kanalın tonusu ve motilitesi ile salgılama ve absorpsiyon fonksiyonları enterik sinir sistemi adı verilen bir sinir sistemi tarafından kontrol edilmektedir. Enterik sinir sistemi longitudinal ve sirküler kas tabakaları arasında yer alan myenterik pleksus (Auerbach pleksusu) ve submukoza tabakasında yer alan submüköz pleksus (Meissner pleksusu)'tan meydana gelmiştir. Meissner pleksusu mide

barsak mukozasındaki dış salgı bezlerinin işlevini düzenlerken myenterik plexus mide-barsak hareketlerini kontrol eder (Kayaalp 2009, p. 1361).

Midenin üç temel motor fonksiyonu vardır (Yıldırım 2002, p. 76):

Fazla miktarda besinin duodenumda işlenebilecek duruma gelinceye kadar depo edilmesi

Besinlerin kimus adı verilen yarı sıvı hale gelinceye kadar mide salgılarıyla karıştırılması

İnce barsaklarda sindirim ve emilim için yeterli süreyi sağlamak amacıyla besinlerin yavaş bir şekilde mideden ince barsağa boşaltılması.

2.1.2. Gastroprotektif Faktörler

Gastrointestinal kanal, sıklıkla kendini savunmak zorunda olduğu zararlı maddelere maruz kalmaktadır. Bunlar, gastrik parietal hücreler tarafından üretilen fazla miktarda asid, toksinler, iskemi/reperfüzyon hasarları veya *Helicobacter pylori* gibi enfeksiyonlardır. Hasara sebep olan bu stimülan maddelerden mide dokusunu korumak için midede pek çok bariyer bulunmaktadır (Ham ve Kaunitz 2007). Gastrik mukozal bariyerin ilk bölümü lümene serbestlenen asid, bikarbonat (HCO_3), mukus, antibakteriyel maddeler (immünoglobulinler ve laktoferrin) ve yüzey aktif fosfolipidlerdir. Mukozal defansın ikinci bölümü asidle yaralanmalara karşı dayanıklı ve zararlı maddelerin pasif difüzyonuna karşı önemli bir bariyer olan epitel tabakasıdır. Sinir sistemi ve bazı inflamatuvar mediyatörler tarafından modüle edilen mikrosirkülasyon, mukozal defansın üçüncü bölümünü oluşturur. Asid veya toksinlerin mukozaya geri difüzyonu, sinirsel uyarılara bağlı olarak mukozal kan akımını artırır. Bu durum hasarın sınırlandırılması ve yaraların onarılması açısından önemlidir. Defansın dördüncü bölümü lamina propria içerisine yerleşmiş çeşitli immünoisitlerden (mast hücreleri ve makrofajlar) oluşan mukozal immün sistemdir.

Gastrik mukozal defansın ayrıca nitrik oksit, poliaminler, hormonlar ve sitokinleri ihtiva eden moleküler bir bölümü de bulunmaktadır (Wallace ve Ma 2001).

2.1.2.1. Mukus Tabakası

Mide mukozası yapışkan viskoelastik mukoz jel tabakası ile kaplıdır. Bu tabaka, lümen ve apikal hücre yüzeyleri arasında bulunan pepsin ve diğer makromoleküller için geçirgenliği az olan fiziksel bir bariyer sağlar. Viskoz ve jel formundaki mukus jelinin özellikleri, ağırlığının yaklaşık % 3-5'ini oluşturan musin glikoproteinleri, kalan % 95'ini oluşturan az miktarda lipid, nükleik asitler, proteinler, imünoglobulinlerle birlikte sudan ileri gelmektedir (Flemström ve Isenberg 2001). Mide salgıları ve eksojen yollarla alınan çeşitli maddeler (alkol, non-steroidal anti inflamatuvar ilaçlar vs.) mide mukozasında hasar oluşturur. Ancak mukoza, kendisini çok hızlı tamir edebildiği için, bu hasar mukozanın en üst yüzeyinde görülen hafif aşınmalar şeklinde ortaya çıkar ve mide dokusuna zarar verecek maddelerin daha derin tabakalara geçişi mukus tabakası sayesinde engellenir (Wallace ve Granger 1996).

Mukusun iki farklı fiziksel formu bulunmaktadır. Bunlar, lümene daha yakın olan ve dışarıdan bir kuvvetle emildiğinde uzaklaştırılabilen çözünebilir mukus tabakası ve hemen bunun altında yer alan, kalıcı özellikteki sabit mukus tabakasıdır. Sabit mukus tabakası antrum, korpus ve kolonda bulunur ve oldukça dayanıklıdır. Ancak, primer olarak emilimin gerçekleştiği duodenum, jejunum ve ileumda oldukça incedir, hatta yer yer hiç bulunmaz. In vivo şartlarda sabit mukus tabakası midede stabil ve koruyucu bir bariyer oluştururken, yüzysel çözünebilir mukus tabakası, sindirim işlevi sırasında midedeki aşındırıcı etkilerle büyük oranda zarar görüp uzaklaştırılabilir. Bu yüzeyel aşınma mukozanın hızlı metabolik faaliyetleri sayesinde kısa zamanda onarılır (Allen ve Flemström 2005).

Mukus tabakasının etki ve koruyuculuk derecesini belirleyen iki faktör vardır. Bunlar, mukus tabakasının permeabilitesini ve stabilitesini belirleyen jelin yapısı ve jel tabakasının kalınlığıdır. Mukus jel tabakası hipertonic tuza (Örn: 2 M NaCl), geniş pH

aralığındaki maddelere (pH: 1-8) ve safra asitlerine dayanıklıdır. Ancak mukus jelinin yapısı kendisini oluşturan musinlerin multimerik yapısını bozan tiyol ajanlarıyla indirgenmesi ya da proteolizi sonucunda bozulur. Jel yapısını oluşturan musinlerin merkezinde protein çekirdekleri vardır. Bu çekirdekler glikan zincirlerinden oluşan kılıfla örtülüdür ve bu kılıf glikoz içermeyen ve sisteince zengin protein bölgeleri ile çevrilidir. Sisteince zengin bölgeler, musinler arasında disülfid bağlarının kurulmasını sağlar ve böylece arka arkaya birleşen musinler musin polimerlerini ve mukus jelini oluştururlar. Mukus jelinin kuvveti ve stabilitesi jel içindeki multimerik (polimerik) musinlerle monomerik musinler arasındaki orana bağlıdır. Multimerik musinlerin oranı ne kadar fazla ise mukus jeli de o kadar güçlü ve stabildir (Allen ve Flemström 2005).

Gastrointestinal mukus jel tabakasının ortalama kalınlığı korpusta 189 μm , antrumda 274 μm ve dudenumda 170 μm 'dir. Mukus jelinin kalınlığı sekresyon ve erozyon arasındaki dinami dengeye bağlı olarak değişebilir. Sıçan midesinde yapılan çalışmalarda mukus jelinin kalınlığının, haraplanmış bölgelerde prostaglandin E_2 (PGE_2) uygulaması ile artmıştır. Sıçan gastrik mukus tabakasının kalınlığında in vivo ortamda 3 saatten fazla bir süre pH 1-2'ye maruziyet sonrasında ise değişiklik olmadığı görülmüştür (Allen ve Flemström 2005).

Mukus tabakası, epitel hücrelerden serbestlenen bikarbonatı içine hapsederek luminal asidin epitelyuma geçişi sırasında asidi nötralize etmektedir (Allen ve Flemström 2005).

Mukus, epitelin apikal yüzeyinde, uygun pH'nın korunmasında yardımcı olan protonların difüzyonunu geciktirmektedir (Wallace 2008). in vitro ve in vivo olarak epitelyal hücre yüzeyinde ve mukus jel tabakasında yapılan pH ölçümlerine göre gastrik luminal pH 2.0-3.0 olmasına rağmen, gastrik lümen pH'nın nötr olduğu epitelyal hücre yüzeyine doğru, mukus jeli içerisindeki pH'da artış bulunmuştur (Flemström ve Isenberg 2001). Gastroduodenal mukus-bikarbonat sekresyonunun mediyatörleri olan siklooksijenaz-prostaglandin (COX-PG) sistemi, nitrik oksid sentaz (NOS) sistemi, duysal afferent sinirlerden serbestlenen kalsitonin gen ilişkili peptid (CGRP) H^+ - pepsin

serbestlenmesinin ve yıkıcı mekanizmaların artışı ile paralel aktivite artışı göstermektedir (Konturek ve ark. 2005).

2.1.2.2. Bikarbonat (HCO_3^-) İyonları:

Stabil, yapışkan bir mukus tabakasına HCO_3^- sekresyonu mide epitelyal yüzeyinde bir pH gradienti yaratır (Laine ve ark. 2008). Yüzey mukus jeli içerisinde asidin HCO_3^- iyonları ile nötralizasyonu aside karşı mideyi korur (Flemström ve Isenberg 2001).

Deneyisel çalışmalar, bazolateral membranda sodyum-bikarbonat ($\text{Na}^+\text{HCO}_3^-$) kotransportunun (NBC) HCO_3^- taşınması için önemli mekanizmalardan biri olduğunu göstermektedir (Laine ve ark. 2008). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, $\text{Na}^+\text{HCO}_3^-$ kotransportları olan NBC1 ve NBC2'nin tavşan midesinde yüzey epitel hücrelerinde pariyetal hücrelerden daha fazla bulunduğu saptanmıştır (Flemström ve Isenberg 2001, Allen ve Flemström 2005). HCO_3^- oluşumunun hücre içerisinde CO_2 ve H_2O 'dan karbonikhidraz enziminin etkisiyle gerçekleştiği hem in vivo hem de in vitro çalışmalarda ortaya konmuştur (Allen ve Flemström 2005). Sıçan ve tavşan gastrik mukoza çalışmaları, gastrik mukoza epitel hücrelerinin apikal yüzeyinde $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ anyon değiştiricisinin bulunduğunu göstermiştir (Laine ve ark. 2008). Bu durum $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ değişiminin de gastrik alkali salgısı için önemli bir faktör olabileceğini göstermektedir (Allen ve Flemström 2005).

Asid sekresyonunun stimülasyonu, gastrik mukozanın hasara karşı korunma mekanizmalarını indükler. Luminal pH'nın düşmesi sonucu gastrik epitel hücrelerde H^+ temasının artışı hücre içi pH'yı da düşürür. H^+ nın hücre içi nötralizasyonu bazolateral NaHCO_3 kotransporterleri aracılığıyla hücre içine HCO_3^- girişi ve Na^+/H^+ değişimi ile H^+ nın hücre dışına çıkması sonucunda sağlanır. Bikarbonatın epitel hücrelere ve mukozaya geçişi hızlanır ve bu durum mukozal korunmada artışa neden olur (Wallace ve Granger 1996).

Asid salgısının uyarılmasıyla birlikte artan mide asidindeki H^+ , epitel hücrelerinden lümene salgılanan HCO_3^- ile birleşerek CO_2 oluşumunu ve CO_2 basıncını artırır. CO_2 basıncına duyarlı filamentler ile nöral reseptörler uyarılarak HCO_3^- salgısı arttırılır. Artan asid salgısına karşı mide korunmasında etkili bir diğer faktör asid serbestleyen pariyetal hücrelere alkali akınıdır. Alkali akını, H^+ salgılanması ile eş zamanlı olarak Cl^-/HCO_3^- değişimi sayesinde H^+ nın her molüne karşı 1 mol HCO_3^- nin mukozaya geçişiyle sağlanır (Allen ve Flemström 2005). Bu HCO_3^- , yüzey epitel hücrelerine ve mukus ve bikarbonat tabakasına yardım ettiği yer olan gastrik lümene taşınır (Laine ve ark. 2008).

Midede PGE_2 , HCO_3^- sekresyonunu EP_1 reseptörleri aracılığıyla stimüle eder (Laine ve ark. 2008). EP_1 reseptörlerinin aktivasyonu hücreler arası Ca^{+2} miktarını arttırır ve HCO_3^- salgılanır. Fare ve sıçanlar üzerinde yürütülen bir çalışmada asid artışına bağlı olarak artan HCO_3^- salgısının selektif siklooksijenaz-1 (COX-1) inhibitörleri ile engellendiği fakat selektif COX-2 inhibitörleri ile engelenmediği görülmüştür. Bu durum asid salgısına karşı HCO_3^- salgısındaki artışın COX-1 kaynaklı PGE_2 aracılığıyla sağlandığını göstermektedir (Takeuchi ve ark. 2006).

2.1.2.3. Mukozal Kan Akımı:

Mide yüzey epitelinin altında yoğun kapiler ağ bulunmaktadır. Bu kapiler ağ tabakası midede düzenli mikrosirkülasyonu sağlar (Wallace ve Granger 1996). Mukozal mikrosirkülasyon oksijenin ve besinlerin alımı ve toksik maddelerin seyreltilmesi, nötralize edilmesi ve atılması için gereklidir (Wallace ve Granger 1996; Laine ve ark. 2008). Ayrıca, pH'sı yüksek bir mikroçevrenin sürekliliği ve herhangi bir nedenle oluşan epitel zedelenmesinin giderilmesi mikrosirkülasyona dayanmaktadır (Wallace ve Granger 1996; Wallace 2008).

Mukozal kan akımı, nitrik oksid (NO), prostasiklin (PGI_2) ve CGRP tarafından düzenlenir. Bu vazodilatör maddeler gastrik mukozayı hasara karşı ve lökotrienler, tromboksan A_2 (TxA_2) ve endotelin (ET) gibi hasar oluşturan vazokonstriktörlere karşı

korurlar (Wallace 2008; Laine ve ark. 2008). Mukozada asidin geri difüzyonu ya da herhangi bir iritan kaynaklı hasar oluşması, mukozal kan akımının artışına neden olur. Bu artış geri difüze olan asidin ve/veya zararlı ajanların yok edilmesi ve/veya seyreltilmesini sağlar (Laine ve ark. 2008). Mukozal kan akımının damara uygulanan herhangi bir mekanik kuvvetle azalması ise, damarın periferinde nekrozlara neden olur (Wallace ve Granger 1996).

Epitel hücrelerin hemen altında yer alan duysal afferent nöronlar mukozaya asid ya da toksik etkili başka iritan maddelerin (nörotoksinler, kapsaisin) geçişi ile uyarılırlar. Bu uyarı sonrasında santral sinir sistemine impulslar gönderirler. Duysal afferent sinirlerden CGRP veya P maddesi serbestlenir (Wallace ve Granger 1996; Laine ve ark. 2008). CGRP submukozal arteriollerin endotel hücrelerinden endotelyal nitrik oksid sentaz (eNOS) kaynaklı NO serbestlenmesini sağlar. NO, komşu damarlardaki düz kas hücrelerine difüze olarak çözünebilir guanilat siklazı stimüle ederek intraselüler siklik guanozin mono fosfat (cGMP) düzeylerinde artışa neden olur ve böylece damar düz kaslarında gevşemeye neden olur. Bu vazodilatasyon mukozal kan akımını önemli ölçüde artırır (Wallace ve Granger 1996).

Endojen gastrinin analogu olan pentagastrin ile yapılan bir çalışmada pentagastrin ile stimüle olan gastrik asid salgısına yanıt olarak mide kan akımında artış olduğu gözlenmiştir. Bu artışta endotelyal hücrelerden lokal olarak sentezlenen NO'nun yanı sıra PGI₂'nin de etkili olduğu görülmüştür (Walder ve ark. 1990). Diğer bir çalışmada, hem COX-1 hem de COX-2 tarafından serbestlenen PGE₂'nin eNOS aracılıklı NO düzeylerinde artışa neden olarak gastrik arteriyollerde vazodilatasyon oluşturduğu ve buna paralel olarak da mukozal kan akımını arttırdığı belirlenmiştir (Brzozowski ve ark. 2005).

2.1.2.4. Prostaglandinler

Prostaglandinler membran fosfolipidlerinden fosfolipaz enzimlerinin (özellikle fosfolipaz A2) etkisiyle oluşan araşidonik asidin siklooksijenaz yolağı ürünleridir.

Siklooksijenaz enzimi araşidonik asitten önce siklik endoperoksitleri olarak tanımlanan prostaglandin G_2 (PGH_2)'nin sonra da farklı enzimatik yollarla çeşitli prostaglandinlerin ve tromboksan A_2 (TXA_2)'nin oluşumuna neden olur (Timothy ve ark. 2004).

Prostaglandinler topikal iritanların indüklediği gastrointestinal hasarı önleme veya azaltma yeteneğine (hücre koruma) sahiptir. Hücre koruyucu etkilerini mukus ve bikarbonat sekresyonunu arttırmak, mukozal kan akımının devamını sağlamak ve sitotoksinlerin indüklediği hasara epitel hücrelerinin direnç geliştirmesini sağlamak suretiyle gösterirler. Ayrıca, gastrointestinal mukozada inflamasyon olduğunda prostaglandinlerin yararlı etkilerine katkıda bulunabilen lökosit göçünü inhibe ederler (Wallace ve Ma 2001). Prostaglandinler ülser iyileşmesine önemli katkısı olduğu gösterilmiş olan vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF) salınmasını tetikler (Wallace 2004). Mukozada musinleri birbirine bağlayan sülfhidril yapılarında artış, inflamatuvar hücrelerin damar endoteline adhezyonunun inhibisyonu da prostaglandinlerin önemli etkileri arasındadır (Wallace ve Granger 1996).

Sıçan midesinde in vitro koşullarda yürütülen çalışmalarda, vagus sinirinin mideyi uyaran kolunun elektriksel stimülasyonu sonucu özellikle PGE_2 ve $PGF_{2\alpha}$ serbestlenmesinin arttığı ve bu artışın vagal stimülasyon ile doğru orantılı olduğu gözlenmiştir (Peskar 2001). Sıçanlarda yürütülen bir başka çalışmada ise etanol uygulanması sonunda gastrik mukozada prostaglandinlerin mukoza yüzey epitelindeki morfolojik bozulmayı ve hücre dökülmesini engellemede çok önemli bir koruyucu etki göstermedikleri, ancak daha derin tabakalarda koruyucu etkilerinin olduğu ortaya konmuştur. Buna göre, prostaglandinlerin etanolden kaynaklanan mukozal hasarın geri döndürülmesinde, mukozal hücrelerin göçünde ve mukozanın yeniden yapılandırılmasında önemli ve olumlu etkiler gösterdikleri bildirilmektedir (Brzozowski 2005).

2.1.2.5. Diğer Faktörler:

i. Nitrik Oksit (NO):

Nitrik oksit, yarı esansiyel bir aminoasit olan L-arjininden Nitrik Oksit Sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla sentezlenen serbest bir radikaldir. NOS enziminin organizmada üç izoformu vardır. Bunlardan iki tanesi Ca^{2+} /kalmodulin bağımlı yapısal enzimlerdir (cNOS); nöronal NOS (nNOS) ve endotelyal NOS (eNOS) ve Ca^{+2} 'dan bağımsız indüklenebilir formdur (iNOS) (Musumba ve ark. 2009). nNOS ve eNOS yapısal NOS (cNOS) olarak da isimlendirilmektedir. nNOS, santral ve periferik sinir sisteminde non adrenerjik non kolinerjik liflerde, eNOS ise başlıca plateletler ve endotelyal hücrelerde lokalize olmaktadır. eNOS ayrıca lökositler, plateletler ve mast hücrelerinin adhezyonunun inhibisyonunda rol oynar (Stanek ve ark. 2008). iNOS ise TNF- α , IL-1 β , interferon- γ gibi proinflanmatuar sitokinler tarafından endotel hücreleri, damar düz kası, nötrofiller, makrofajlar ve hepatositlerin aktivasyonu ile indüklenerek eksprese olur (Ghosh ve Salerno 2003; Stanek ve ark. 2008).

NO ve Gastrointestinal Sistem

NO, prostaglandinlerin gastrointestinal sistemde gösterdikleri etkilere benzer etkilerin yanı sıra özellikle gastrik kan akımını düzenleyici etkilerinden ötürü mukozal defansın sağlanmasında önemli bir moleküldür (Moncada ve ark. 1991; Takeuchi ve ark. 1994; Wallace ve Miller 2000). cNOS kaynaklı NO gastrik kan akımını düzenleyici, mukozal koruma mekanizmalarını regüle edici, nötrofil adhezyonunu azaltıcı, midede COX kaynaklı prostaglandin üretimini arttırıcı ve indometazin uygulanması ile artan myeloperoksidaz (MPO) düzeylerini azaltıcı etkileriyle mide korunmasında önemli rol oynamaktadır (Wallace ve Miller 2000). Bu bulgulara esas olarak non-selektif, NOS inhibitörü olan L-NAME uygulanmasının sıçan midesinde mukozal disfonksiyona yol açtığı gözlenmiştir (Gülbüz ve ark. 1999).

İndometazin uygulamasının inflamatuvar mekanizmaları harekete geçirmesiyle birlikte nötrofil gibi inflamatuvar hücrelerden iNOS'nin serbestlendiği rapor edilmiştir. iNOS kaynaklı NO, vücutta fizyolojik cNOS aracılığı ile üretilen NO düzeylerinden çok daha yüksektir. Yüksek miktarda serbestlenen NO, süperoksit molekülleriyle reaksiyona girmekte ve peroksinitrit (ONOO^-) radikali gibi mukozal hücrelerde sitotoksik etki yapan oksidan özellikte moleküller oluşturularak mukozal bütünlüğü bozmaktadır (Wallace ve Miller 2000).

Bir çalışmada iNOS knockout (geni silinmiş) fareler ile selektif iNOS inhibitörü 1400W uygulanan farelerde indometazinin etkisi incelenmiş ve bu uygulamaların yapıldığı farelerde oluşan ülser lezyonlarının kontrol grubuna göre daha düşük olduğu gözlenmiştir. Bu durum vücutta normal düzeyde üretilen NO'nin mide korunmasında önemli olduğunu ancak iNOS kaynaklı aşırı NO üretiminin mukozal koruma mekanizmalarına zarar verdiğini ve bu mekanizmanın indometazinin ülser yapıcı etkisinin de rol oynadığını göstermektedir (Souza ve ark. 2004).

ii. Büyüme Faktörleri:

Büyüme faktörleri, anjiyogenez, doku oluşumu sırasında granülasyonu, re-epitelizasyonu stimüle ederek gastroduodenal korunmaya ve peptik ülserlerin iyileşmesine katkıda bulunur (Musumba ve ark. 2009). Temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF) gibi büyüme faktörlerinin hiperozmolar solüsyonun (1 mM NaCl) indüklediği mukozal hasarda mikroskobik ve elektrofizyolojik iyileşmeyi düzenleyebildiğine işaret edilmiştir (Brzozowski ve ark. 2005).

Zarar görmüş bölgelerin onarılmasında büyüme faktörlerinin önemli rolleri vardır (Brzozowski ve ark 2008). Temel fibroblast büyüme faktörü, VEGF, platelet türevi büyüme faktörü (PDGF) ilgili dokunun restorasyonunu artırırken, epidermal büyüme faktörü (EGF), transforme edici büyüme faktörü- α (TGF- α), hepatosit büyüme faktörü (HGF) ve trefoil faktörler onarımı kolaylaştırır. Trefoil faktörleri ayrıca münin hücre proteinleri ile etkileşerek yüzey mukus jelini stabilize eder ve anti-apoptotik ve

pro-anjiyojenetik etkilere sahiptir (Musumba ve ark. 2009). EDF'nin subkutan uygulandığında etanolün indüklediği gastrik lezyonları azalttığı bulunmuştur (Brzozowski ve ark. 2005).

Epitelyal hücrelerin yaralı bölgeye göçünde belli büyüme faktörlerinin rolü olduğu düşünülmektedir. Bir çalışmada, endojen bFGF aktivitesini engelleyen protamin veya suraminin lüminal uygulamasının ardından, fonksiyonel epitel hücrelerin iyileşmesinin inhibe edildiği görülmüştür (Tarnavski ve ark. 2001).

VEGF ve bFGF gibi mikrovasküler yapılanmayı oluşturan büyüme faktörlerinin oksijen ve besinlerin iyileşme bölgesine ve mukozal yaraya geçişinde rol oynadıkları bildirilmektedir (Brzozowski ve ark. 2008). Ayrıca bFGF'nin mukozal yarada mukoza tabakasının bağ dokusu olan lamina propria tabakasını restore edebilmek için bağ doku hücrelerinin bu bölgeye geçişini sağlayarak bağ dokuda büyümeyi gerçekleştirdiği öne sürülmektedir (Tarnavski ve ark. 2001).

Sonuç olarak, ülser bölgesinde yenilenen epitelyal yapı ile yeni oluşan bağ dokunun birleşmesi sonucu iyileşme gerçekleştirmektedir (Tarnavski ve ark. 1995).

iii. Hormonlar

Lokal mukozal faktörlere ilaveten gastrik mukozal defansın bir bölümü hormonlar tarafından düzenlenir (Laine ve ark. 2008). Kolesistokinin gastrin, ghrelin, leptin, somatostatin ve insülin gibi çeşitli gastrointestinal sistem hormonlarının ülser iyileştirici aktivitelerinin; büyüme faktörlerinin stimülasyonu (somatostatin hariç) ya da COX-2 ekspresyonundaki artışa bağlı prostaglandin düzeylerindeki yükselme ile sağlanmaktadır (Paimela ve ark. 1993).

İştah düzenleyen kolesistokinin, leptin, ghrelin gibi hormonların iyileştirici etkilerinin gastrik asid salgısı üzerinden değil, beyin-barsak ekseninin (gastrointestinal sistem-sinir eksen) periferik ve afferent sinirleri stimülasyonu aracılığıyla olduğu düşünülmektedir. Duysal sinirlerin kapsaisin toksik dozları ile inaktivasyonu sonucunda iştah regülatör hormonların gastrik ülseri iyileştirme etkilerinin zayıfladığına dair bulgular da bu düşüncüyü desteklemektedir (Paimela ve ark. 1993).

Gastrin, asid sekresyonunu stimüle eden bir hormon olmasına karşın güçlü tropik etkisi ile ülser iyileşmesine katkı sağladığı düşünülmektedir. Ülserli dokularda iyileşme sürecinde olan yara bölgesinde yapılan incelemelerde gastrin reseptörlerinin eksprese olması ülser bölgesinde mukozal hücre çoğalmasında bu hormonun da katkısı olabileceğini düşündürmektedir (Paimela ve ark. 1993). Ayrıca, apoptozu inhibe ettiği, anjiyogenez ve hücre göçünü arttırdığına dair kanıt bulunmaktadır (Konturek ve ark. 2005).

Gastrointestinal sistemde özellikle gastrik mukozada sentezlenen, yemek yeme ile iştahın düzenlenmesinde rol oynayan, intestinal motiliteyi ve büyüme faktörlerinin serbestlenmesini stimüle eden önemli bir peptid de ghrelindir. Ghrelin, NO üretimini ve duysal afferent nöronlardan CGRP salınmasını stimüle ederek gastrik mukozal kan akımını arttırmaktadır. Bu şekilde, gastrik mukozada koruyucu ve iyileştirici etki göstermektedir (Laine ve ark. 2008). Ayrıca, sıçanlarda etanol ve stresin indüklediği gastrik ülser üzerinde koruyucu etkisinin olduğu gösterilmiştir (İseri ve ark. 2005). Ghrelinin bu etkisinin NOS aktivitesinin L-NAME ile blokajı ve duysal afferent sinirlerin kapsaisin ile fonksiyonel olarak engellenmesi ile azaldığı görülmüştür (Brzozowski ve ark. 2005). Bu yüzden ghrelinin iyileştirici etkisinde NO'nun da önemli rolü olabileceği düşünülmektedir (Sibilia ve ark. 2003).

Sirkadiyen ritm, kardiovasküler fonksiyonlar ve immün sistem üzerinde etkileri olan ve özellikle epifiz bezinden salgılandığı düşünülen melatonin mide, barsak ve pankreas gibi sindirim organlarında yüksek düzeylerde bulunduğu tespit edilmiştir (Javorek ve ark. 2005). Melatonin, doz bağımlı olarak, gastrik asid sekresyonunu inhibe

eder, nötrofil indüklü inflamasyonu ve sitotoksiteyi azaltır, ülserde kan akımını artırır, duodenal bikarbonat sekresyonunu artırır ve COX-prostaglandin, NOS-nitrik oksit sistemlerini CGRP gibi aktive eder. Böylece, gastrik ülserin iyileşmesini hızlandırır. Bir çalışmada, sıçanlara melatonin ve onun prekürsörü L-triptofan verilmesini takiben, prostaglandin sentezinin (indometazin ile) ve NOS enziminin (L-NAME) inhibisyonu ve bunlara eşlik eden mukozal kan akımındaki, luminal NO salınımındaki artış ülserin iyileşme hızını anlamlı derecede yavaşlatmıştır (Musumba ve ark. 2009).

2.1.3. Gastrik Hasar Oluşumunda Rol Oynayan Faktörler

2.1.3.1. İnflamatuar Mediyatörler

Bakteriyel ürünlerin veya diğer antijenik maddelerin mide mukozasının lamina propria tabakasına girişi akut inflamatuvar yanıtın tetiklenmesi ile sonuçlanır. Lamina propriada bulunan mast hücreleri ve makrofajlar inflamatuvar mediyatörlerin ve sitokinlerin salınması ile görevlidir. Mast hücreleri ve makrofajlar, mukozal kan akımını değiştirmekte ve etkilenen bölgeye granüositlerin göçünü düzenlemektedir (Wallace ve Granger 1996).

Mast hücrelerinden ve diğer mukozal immünoisitlerden salınan mediyatörler, doku hasarını indükleyen reaktif oksijen metabolitleri ve proteazların salınması için lökosit infiltrasyonunu aktive etmektedir (Wallace ve Granger 1996). Pro-inflamatuar sitokinler; tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α), interlökin-1 beta (IL-1 β), interlökin-1 (IL-1) endotel hücrelerinin yüzeyinde intraselüler adezyon molekülü-1'in (ICAM-1) ekspresyonuna neden oldukları ve nötrofil adezyonunu artırarak mukozal hasarı indükledikleri gösterilmiştir (Eissner ve ark. 1994). Lökosit adezyonunda etkili olan yapılar CD11 ve CD18 olarak tanımlanan adezyon molekülleridir. Endotelyumdaki ICAM-1'in ve lökositlerdeki CD11/CD18'in blokajının lökosit adezyonunu ve agregasyonunu engellediği gösterilmiştir (Wallace ve ark. 1991; Wallace ve ark. 1993).

Gastrik mukoza hasarında ve inflamasyon bölgesindeki nötrofil infiltrasyonunda TNF- α 'nın önemli rol oynadığı bildirilmektedir. TNF- α , IL-1, IL-8 gibi pek çok inflamatuvar sitokinin üretimini stimüle etmekte, lökositlerde ve endotel hücrelerinde ICAM-1 ekspresyonunu indükleyerek adezyon moleküllerinin düzeyini upregüle etmektedir (Watanabe ve ark.1993; Shimizu ve ark. 2000).

Gastik ülser oluşumunda etkili olan bir diğer sitokin de IL-1'dir. IL-1 ve alt tipleri (IL-1 α , IL-1 β) makrofaj/monositler tarafından üretilmektedir (Dinarello 1996). IL-1, nötrofil kemoatraktant-1 (CINC-1) aracılığıyla ülserli dokuda nötrofil infiltrasyonunu arttırmaktadır. Bir çalışmada, sıçanlara lokal olarak enjekte edilen IL-1 α 'nın CINC üretimi aracılığıyla indirekt olarak nötrofil kemotaksisini indüklediği gösterilmiştir (Takahashi ve ark. 1999). Başka bir çalışmada IL-1'in bu etkilerinin sadece eksprese olduğu yaralı bölgede ortaya çıktığı gözlenmiştir (Watanabe ve ark. 2001). Ayrıca, mide asid salgısının omeprazol ile inhibisyonu sonucunda IL-1 β kaynaklı inflamatuvar cevabın tekrar ortaya çıktığı gösterilmiştir. Bu bulgu asid sekresyonu ile IL-1 β aktivasyonu arasında bir ilişki olabileceğini düşündürmüştür. Buna göre IL-1 β 'nin yaralı mukozada yüzeysel olarak nötrofil infiltrasyonunu arttırarak etki gösterdiğini ve asidin hasarı daha derin tabakalara ulaştırdığı öngörülmüştür (Watanabe ve ark. 2001).

Bu verilere karşın, pek çok modelde IL-1'in gastrodudenal hasarı azalttığı gösterilmiştir. IL-1 β 'nin prostaglandinlerin (COX-2 ekspresyonunu indüklemek suretiyle) ve NO'nun (iNOS ekspresyonunu arttırmak suretiyle) salınımını arttırarak, mast hücrelerinden diğer ülserojenik mediyatörlerin (PAF gibi) salınımını inhibe ederek lökosit adezyonunu ve gastroduodenal hasarın gelişmesini engellediği bildirilmektedir (Musumba ve ark. 2009).

2.1.3.2. Serbest Radikaller

Süperoksit anyonu (O_2^-), nitrit (NO_2^-), hidroksil (OH^-) gibi serbest radikaller biyolojik dokuların hasarından sorumludur ve doku geçirgenliğine zarar verir. Hasar

mekanizması, birtakım hücre içi komponentlerin salınımıyla hücre membranlarını tahrip eden lipid peroksidasyonudur. Ayrıca, epitel zemindeki membran komponentlerinin degradasyonuna sebep olmak suretiyle mukozal hasarı artırırlar. Hücre metabolizmasını tamamen değiştirirler ve DNA hasarı oluştururlar (Demir ve ark. 2003). İnflamatuar hücreler, iNOS enziminin de ekspresyonunu indükleyebilirler. Ülserli ve yaralı bölgede iNOS kaynaklı NO'nun, fizyolojik düzeylerinden çok daha yüksek miktarda üretildiği gösterilmiştir. Bu aşırı düzeyde üretilen NO, bulunduğu ortamda bir O_2^- ile karşılaşınca sitotoksik özellikte ve hücresel yapılara zarar veren peroksinitrit radikali oluşumuna neden olduğu ortaya konmuştur (Beckman ve Koppenol 1996).

Polimorfonükleer nötrofiller (PMN) total proteinin %5'ini oluşturan ve demir içerikli bir peroksidaz olan myeloperoksidaz'a (MPO) sahiptirler. MPO, oksidatif doku hasarından sorumludur (Kebir ve ark. 2008). Hipoklorit (HOCl), tirozil radikalleri veya nitrit (NO_2^-) gibi pro-oksidanları üretmektedir, pro-inflamatuar olma ve hücre aktivasyonu gibi özelliklerinin olduğu gösterilmiştir (Lau ve Baldus 2006). MPO, proinflamatuar hücrelerin dış yüzeyinde CD11 ve CD18 moleküllerine bağlanarak da süperoksit serbestlenmesiyle sonuçlanan hücre içi sinyal iletimini aktive etmektedir (Lau ve ark. 2005). Hücresel aktivasyon ve degradasyon süresince MPO, hem hücre içi hem de hücre dışı bölgelerde fagositik vakuollere salınmaktadır (Lau ve Baldus 2006).

Nötrofiller, reaktif oksijen ürünü olan O_2^- 'i üretirler. Bu radikal anyonlar lipid peroksitlerinin üretimine öncülük eden hücresel lipidlerle reaksiyona girerler. Lipid peroksitleri daha sonra malondialdehite dönüştürülürler (Kwiecien ve ark. 2002). Bu sebeple malondialdehit (MDA) düzeyleri lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak değerlendirilir.

Organizmadaki majör antioksidan enzim süperoksid dismutazdır (SOD). SOD, O_2^- 'i daha az zararlı bir form olan H_2O_2 'ye dönüştürür. H_2O_2 ise organizmada katalaz enzimiyle su ve oksijene dönüştürülür. H_2O_2 metabolizmasında rol oynayan bir diğer enzim de glutatyon peroksidazdır (GP_x). GP_x , glutatyon varlığında aktivite gösterir.

Sistein, glisin ve glutamatta oluşan glutatyon (GSH) büyük oranda karaciğerde sentez edilir. GSH, diyetle alınan ksenobiyotiklere ve lipid peroksidasyonuna karşı koruyucudur (Kwiecien ve ark. 2002).

2.1.3.3. Diğer faktörler

Endotelin (ET) mukozal hasar ve ülser oluşumu üzerine etkili olan önemli bir endojen peptiddir (Pollock D.M. ve ark. 1995). ET'nin, ET-1, ET-2, ET-3 olmak üzere üç aktif izoformu bulunmaktadır. Tüm ET'ler organizmada ET reseptörlerine bağlanarak etki gösterirler. ET reseptörleri ET_A ve ET_B olmak üzere iki çeşittir (Pollock ve ark. 1995). Bunlardan ET_A reseptörü ET-1'e afinite gösterir ve uyarılması durumunda vazokonstriktör yanıtı sebep olur. ET_B ise ET-1 ve ET-3'e eşit afinite gösterir ve uyarılması ile hem vazokonstriksiyon hem de vazodilatasyon oluşur (Slomiany ve ark. 1999). ET reseptörlerinin vasküler dokuların yanısıra gastrik ve intestinal mukozada da bulunduğu ve gastrik mukozal hasar oluşumuna aracılık ettiği gösterilmiştir (Michida ve ark. 1997).

Gastrik ülserde, ET-1 düzeylerinin artış gösterdiği ve ET'nin inflamasyonu sitokin bağımlı olarak indüklediği belirlenmiştir (Xin ve ark. 1995). Ayrıca, ET-1'in vazokonstriktör etkisinden dolayı mukozal kan akımını azaltması ile mukozal hasar oluşumuna neden olduğu düşünülmektedir (Boros ve ark. 1998).

2.2. Non-Steroid Anti-İnflamatuar İlaçlar

Non-steroidal Anti-İnflamatuar İlaçlar (NSAİİ), özellikle artrit, osteoartrit, ve benzeri romatizmal hastalıklar gibi inflamasyona bağlı ve uzun süre analjezik ilaç verilmesini gerektiren durumlarda ya da baş ağrısı, myalji, artralji, diş ağrısı gibi genellikle lokal iltihabi reaksiyona bağlı olan ağrı çeşitlerinde kullanılırlar. Bağımlılık yapmamaları ve terapötik etkilerine karşı tolerans gelişmemesi terapötik etkilerini artırır. NSAİİ'ler yüzeysel yapıların ağrılarında, özellikle ağrı hafif veya orta derecede

ve künt nitelikteyse yeterli bir analjezi yaparlar. Bu gruptaki ilaçların hepsinde analjezik etkiye ilave olarak antipiretik etki de bulunur. Antiinflamatuvar etkileri nedeniyle iltihabın dört ana belirtisi olan ağrı, şişlik ( dem), kızarıklık ve sıcaklık artması gibi lokal olayları giderirler. NSA  'lerin pek çoğu bu üç etkinin tümünü gerçekleştirirler yani hem analjezik, hem antipiretik hem de antiinflamatuvarlardır. Bazılarında ise sadece analjezik ve antipiretik etkiler vardır (parasetamol ve dipiron gibi) (Kayaalp 2009, p. 837).

NSA  'ler pek çoğunda bulunan ortak bir özellik dokularda araşıdonik asitten prostaglandinlerin ve diğer bazı eikozanoidlerin oluşmasını katalize eden siklooksijenaz enzimlerini inhibe etmeleridir (Kayaalp 2009, p. 837). Vücutta sentezlenen prostaglandinlerin göstereceği etkiler, COX enziminin hangi izoformu aracılığı ile sentezlendiklerine göre değişir. Vücutta pek çok hücrede COX enzimlerinin iki izoformu bulunmaktadır. Bunlardan COX-1 yapısal olarak bulunur ve vücutta mukozal geçirgenliğin fizyolojik kontrolü, gastrik mikrosirkülasyon, sekretuar aktivite ve motor fonksiyonlarda rol alır, COX-2 ise yapısal olarak eksprese değildir ve çeşitli sitokinler, büyüme faktörleri ve endotoksinler tarafından indüklenerek osteoartrit ve romatoid artrit gibi eklem rahatsızlıklarında gözlenen inflamasyonda rol almaktadır (Brzozowski ve ark. 1999). NSA  'lerin bir kısmı COX enziminin her iki izoformunu da inhibe ederken (non-selektif) bir kısmı ise sadece COX-2'ye spesifik ( zg l) olarak etki göstermektedir (Kayaalp 2009). (Tablo 2-1)

Tablo 2-1 : NSAİİ'nin kimyasal yapılarına uygun olarak sınıflandırılması.

1. SALİSİLATLAR	2. PARA-AMİNOFENOL TÜREVLERİ	3. PİRAZOLON TÜREVLERİ	4. PROFENLER (FENİLPROPİYONİK ASİT TÜREVLERİ)	5. FENİLASETİK ASİT TÜREVLERİ	6. İNDOLASETİK ASİT TÜREVLERİ	7. FENAMİK ASİT TÜREVLERİ	8. OKSİKAMLAR ve DİĞER İLAÇLAR	9. COX-2 İNHİBİTÖRLERİ	10. DİĞER İLAÇLAR
Aspirin	Asetaminofen (Parasetamol)	Aminopirin	İbuprofen	Diklofenak Sodyum	İndometasin	Mefenamik Asit	Piroksikam	A) COX-2'ye Seçici İnhibitörler	Glukozamin Hidroklortür
Sodyum Salisilat		Propifenazon	Naproksen	Nabumeton	Asemetazin	Flufenamik Asit	Tenoksikam	Etodolak	
Dişlunisal		Metamizol	Fenbufen	Fenklofenak	Tolmetin	Etofenamat	Nimesulid	Meloksikam	Hyaluroniik Asit ve Türeleri
		Fenilbutazon	Tiaprofenik Asit		Ketorolak Trometamol	Tolfenamik Asit	Prokuazon	Nimesulid	
		Oksifenbutazon	Ketoprofen		Sulindak		Azapropazon	B) COX-2'nin Özgöl İnhibitörleri	
			Fenoprofen Kalsiyum				Metotrimetrazin	Selekoksib	
			Flurbiprofen					Rofekoksib	
			İndoprofen						
			Zomepirak						

2.2.1. NSAİİ'lerin Temel Etkileri

2.2.1.1. Analjezik Etkileri

NSAİİ'lerin ağrı kesici etkileri daha çok periferik etkilerine bağlıdır. Ağrı-yapıcı kimyasal veya mekanik etkenlerin periferde prostaglandinlerin sentezini arttırdığı ve periferik aferent sinir uçlarının ağrı uyarılarına karşı duyarlılığını arttırdığı bilinmektedir. İnflamatuvar reaksiyona bağlı ağrının, dokularda iki tip ağrı mediyatörleri tarafından duyusal sinir uçlarının (nosiseptörlerin) sinerjistik bir şekilde stimüle edilmesine bağlı olduğunu göstermiştir. Dokuda oluşan ağrı mediyatörlerinin (nosiseptif ağrı mediyatörlerin) bir grubu, sinir ucunu doğrudan doğruya stimüle eder. Bunlara aljezik mediyatörler denir. Ağrı mediyatörlerinin ikinci grubu tek başlarına ağrı oluşturmeyen fakat duyusal ve aferent sinir uçlarının aljezik etkenlere karşı duyarlılığını arttıran ve onların ağrı yapıcı etkilerini güçlendiren hiperaljezik ağrı mediyatörleridir. Hiperaljezi yapıcı mediyatörler PGI_2 ve prostaglandinlerdir (özellikle PGE_2). NSAİİ, bu maddelerin sentezini inhibe ederek ağrı kesici etki yaparlar. Hiperaljezik etkenlerin duyusal sinir uçlarında adenilat siklazı aktive ederek sAMP düzeyini yükselttikleri ve sinir ucuna Ca^{2+} girişini arttırdıkları saptanmış ve hiperaljezik etkinin hücresel düzeyde bu temele dayandığı ileri sürülmüştür (Kayaalp 2009, p. 837-838).

Siklooksijenaz enzimi periferik dokularda bulunduğu gibi, beyin ve omurilikte de bulunur. Nöronların eksitasyonu sonucu sinir uçlarına veya nöron gövdelerine Ca^{2+} girişini artması bu yerlerde prostaglandinlerin sentezini ve salıverilmesini artırır.

Tüm bu verilere dayanarak, NSAİİ'lerin analjezik etkilerini, periferik etkilerine ek olarak, kısmen, SSS'de ağrı ile ilgili sinapslarda prostaglandin etkinliğini azaltmak suretiyle yaptıkları ileri sürülmektedir (Kayaalp 2009, p. 837-838).

2.2.1.2. Antipiretik Etkileri

Vücut temperaturünün düzenlenmesi hipotalamusta preoptik bölgede bulunan termoregülatör merkez tarafından yapılır. Enfeksiyonda merkezi asıl uyaran endojen pirojenlerdir. IL-1 β , TNF- α , IL-6, interferon- β ve interferon- γ gibi sitokinler endojen pirojen işlevi görür. Sitokinler beyinde, prostaglandin (özellikle PGE₂) salınımını artırır. Prostaglandinler, termoregülatör merkezi, ateş reaksiyonuna katılan hipotalamik otonomik merkezleri ve vazopresin salgılayan hormonları etkiler. NSAİİ ise aracı prostaglandinlerin sentezini inhibe ederek endojen pirojenlerin düşürdüğü termoreseptör duyarlılığı normal düzeye yükseltirler. Bu ilaçların yükselmiş temperaturü düşürmeleri ise ısı kaybını arttırmalarına bağlıdır; ısı kaybı ciltte vazodilatasyon ve terleme oluşturmak suretiyle artırılır (Kayaalp 2009, p. 838-839).

2.2.1.3. Antiinflamatuvar Etkileri

Ağrı-yapıcı etkenler, dokuda tahriş ve zedelenme ve immünolojik reaksiyonlar, lokal araşidonik asitten PGI₂ ve prostaglandinlerin sentezini arttırlar. PGI₂ ve TxA₂ gibi labil prostanoidlerin stabil metabolitlerinin akut ve kronik iltihap dokusunda ve eksudalarda, ayrıca romatoid artritli hastalarda sinoviyal sıvıda varlığı gösterilmiştir. NSAİİ, antiinflamatuvar etkilerini öncelikle inflamasyonda artan prostaglandin sentezini inhibe etmek suretiyle gösterirler. Bunun dışında NSAİİ, inflamasyonda rol oynayan ve inflamatuvar hücreleri iltihaplı bölgeye çeken sitokinlerin inhibisyonu, inflamatuvar hücreler olan polimorf nüveli lökositlerin aktivasyonunun baskılanması, aktif oksijen radikallerinin inhibisyonu gibi olaylarda rol alırlar (Kayaalp 2009, p. 839-842).

2.2.2. NSAİİ'lerin Yan Etkileri

NSAİİ'lerin en önemli yan etkileri gastrointestinal sistemle ilgili yan etkileridir (Laine ve ark. 1999). Gastrointestinal sistemde, mukus tabakasının zarar görmesi, dispepsi, eroziv gastropati, peptik ülser, kanama, perforasyon, obstrüksiyon gibi

komplasyonlar meydana getirirler (Gupta and Eisen 2009). Bu yan etkiler gastrointestinal kanalın üst kısmında meydana gelmektedir (Lanas 2009). Yapılan araştırmalarda, NSAİİ'yi kronik olarak kullanan hastalarda bu ilaçların gastrointestinal sistem yan etkilerine karşı bir tolerans gelişmediğı ortaya konmuştur. Bu nedenle, NSAİİ ile tedaviye başlamadan önce hastanın fiziksel özellikleri, yaşam koşulları, genetik özellikleri ve kullanmakta olduğı ilaçlar dikkate alınarak hastaya en uygun NSAİİ'nin en uygun sürede verilmesine ve gerekirse koruyucu tedavi (Misoprostol, H₂ reseptör blokerleri, Proton pompası inhibitörleri) uygulanmasına özen gösterilmelidir. NSAİİ'ye bağılı gastrointestinal sistem komplasyonlarının görülme riski yaşla beraber artmaktadır. Yaşa ilaveten eş zamanlı olarak NSAİİ ile kortikosteroid ve antikoagülan kullanılması, alkol, sigara içilmesi ve stres gibi faktörler komplasyon riskini artırmaktadır (Singh ve Triadafilopoulos 1999).

2.2.3. COX-2 İnhibitörleri

COX-2 inhibitörleri, COX-2'ye selektif (seçici) ve COX-2'ye spesifik (özgül) olarak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Bunlardan, COX-2'ye selektif inhibitörler yüksek dozlarda COX-1'i de inhibe ederler, fakat düşük dozlarda ona dokunmazlar, COX-2'yi ise selektif olmayan NSAİİ'lere göre selektif bir şekilde inhibe ederler. COX-2'ye spesifik inhibitörler ise maksimum dozlarda bile COX-1'in inhibe etmezler (Kayaalp 2009, p. 858).

Normal gastrik mukozada COX-1 enzimi eksprese olduğundan, selektif COX-2 inhibisyonu non-selektif inhibisyona göre daha az gastrik ülserasyon ve kanama riski taşımaktadır. Sağlıklı mukozada, COX-2 seviyelerinin düşük olduğu ve gastrik erozyon ve ülserasyonda COX-2 seviyelerinin upregüle olduğu belirlenmiştir (Grosser 2006). Yapılan klinik çalışmalarda da COX-2 inhibitörlerinin non-selektif NSAİİ'lere göre daha az gastrointestinal sistem hasarları oluşturdukları bilinmektedir (Laine ve ark. 1999). Bu sebeple, COX-2 inhibitörlerinin, gastrointestinal kanalda NSAİİ'lere göre daha iyi tolere edildiğı ortaya konmuştur. Fakat non-selektif NSAİİ'lere göre daha az gastrointestinal sistem hasarları oluşturmalarına rağmen, bazı çalışmalarda, hastalarda

gastrointestinal kanamalara sebep olabildiği gösterilmiştir. Bu rezidüel zarar, gastrointestinal hasara karşı COX-2'nin eksprese olması ve lipoksinleri üreterek mukozal onarıma ve mukozal defansa katkıda bulunmasının sonucu olabilir (Fiorucci 2009).

Deneysel çalışmalarda, COX-2'nin ateroskleroz gelişiminde indüklendiği ve COX-2 inhibisyonunun ateroskleroz gelişiminin engellenmesinde olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir. Histolojik çalışmalarda ise transplante edilmiş koroner arterlerdeki aterosklerotik lezyonlarda COX-2'nin varlığı tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra, ateroskleroz gelişiminde rol oynayan makrofaj hücreleri ile düz kas hücreleri ve endotelial hücrelerdeki aterosklerotik plaklarda da COX-2 ekspresyonu gözlenmiştir (Schönbeck 1999). Bir başka çalışmada da COX-2 ekspresyonunun serbest radikaller, TNF- α , IL-1, trombosit türevi büyüme faktörü ve arteryel damar duvarında artmış sürtünme stresi (shear stress) ile indüklendiği gösterilmiştir (Zarraga ve Schwarz 2007). Damar endotel tabakasının inflamasyonu olarak tanımlanan aterosklerozda endotel fonksiyon bozukluğu görülmektedir. İnflamasyon oluştuğunda endotelin NO üretme kapasitesi azalmaktadır. Buna göre; inflamatuvar bir enzim olan COX-2'nin inhibisyonunun endotel disfonksiyonunu iyileştirebileceği öne sürülmektedir (Zarraga ve Schwarz 2007).

Bu olumlu verilere karşın, COX-2 inhibitörlerinin kardiovasküler sistem üzerine olumsuz etkileri gündeme gelmiştir. COX-2 enzimi kalp damar sağlığının korunmasında kompensatuvar bir mekanizma olarak görülebilmektedir. Hayvan modellerinde iskemik ön-koşullamanın geç fazında COX-2'nin kardioprotektif etkilere aracılık ettiği öne sürülmektedir. Bu koruyucu etkiye PGE₂ ve PGI₂'nin de katkıda bulunduğu belirlenmiştir. Ayrıca pek çok çalışmada, vazokonstriktör etkili ve trombosit agregasyonunu arttıran TxA₂'nin COX-1 tarafından üretildiği, vazodilatör etkili ve trombosit agregasyonunun potent inhibitörü olan PGI₂'nin ise COX-2 tarafından indüklendiği belirlenmiştir. COX-2'nin up-regülasyonu araşidonik asitten TxA₂ sentezini PGI₂ üretimine yönlendirdiği düşünülmektedir. Non-selektif COX inhibitörleri, TxA₂ üretimini baskımlarken, selektif COX inhibitörleri TxA₂ üretimini etkilemez. Bu bulgulara bağlı olarak sağlıklı gönüllülerde COX-2 inhibitörlerinin

kullanımını takiben PGI₂ biyosentezinde önemli (% 50-70) bir azalma olduğu ve COX-2 inhibitörlerinin kullanımının kardiovasküler sistem açısından tehlike olabileceği ortaya konmuştur (Zarraga ve Schwarz 2007).

COX-2'ye spesifik inhibitörlerin damar homeostazisini bozabileceği, hipertansiyon, miyokard infarktüsü ve inme gibi ölümcül olabilen tromboembolik olayların gelişimine katkı sağlayabileceği bildirilmiştir (Zarraga ve Schwarz 2007). Aterosklerotik damar duvarı lezyonları veya vasküler inflamasyon gibi trombotik risk faktörlerine sahip hastaların, COX-2 inhibisyonu ile kardiovasküler komplikasyonlar açısından risk altında olacağı öne sürülmektedir. Yapılan klinik çalışmalar sonucunda, miyokard enfarktüsü riskini artırması nedeniyle selektif COX-2 inhibitörü olan rofekoksib üretici firma tarafından 2004 yılında piyasadan çekilmiştir (Grosser 2006).

2.2.4. NO Serbestleyen NSAİİ

NO serbestleyen NSAİİ, non-selektif bir NSAİ ilaca (aspirin, flurbiprofen, diklofenak, naproksen) NO serbestleyen fonksiyonel bir grubun bağlanmasından oluşan yeni bir grup ilaçtır (Brzozowski ve ark. 2008). NO-NSAİİ, NSAİİ'nin gastrointestinal sistem üzerindeki yan etkilerinden dolayı azalmış terapötik etkinliğinin üstesinden gelebilmek için oluşturulmuş preparatlardır. NO-NSAİİ'den NO serbestlenmesi, substrata spesifitesi olan, hem endojen hem de eksojen maddeleri hidroliz edebilen geniş bir enzim grubu olan esterazların aktivitesi ile sağlanmaktadır (Cirino ve ark. 1995). Gastrointestinal kanalda daha iyi tolere edilebilen NO-NSAİİ'lerin, NSAİİ'lerin indüklediği gastropatiyi azalttıkları belirlenmiştir (Brzozowski ve ark. 2008).

Deneyisel çalışmalarda, NO-NSAİİ'nin akut ve kronik uygulamalarının gastrointestinal dokuya zarar vermediği gözlenmiştir. Örneğin, aynı dozda, 24 saat içinde, naproksen uygulanması sıçan midesinde ülserojenik lezyonlar oluştururken, NO-Naproksen uygulanması ile benzer ülserojenik lezyonlara rastlanmamıştır (Davies ve ark. 1997). Benzer bir çalışmada, naproksenin kronik enjeksiyonu sıçanlarda gastrik

hasar oluştururken NO-Naproksenin kronik enjeksiyonunda benzer bir hasar görülmemiştir (Cuzzolin ve ark. 1995).

NSA  'nin gastrointestinal yan etkileri çoğunlukla prostaglandin sentezini ( zellikle PGE_2 ve PGI_2) inhibe etmelerinden kaynaklanmaktadır. Prostaglandin sentezinin inhibisyonunun sonuçlarından biri de gastrik kan akımında azalmadır. NO-NSA  'ler prostaglandin sentezini inhibe ederler fakat gastrik mukozal kan akımını azaltmazlar. Bu etki, bu yeni ilaçlardan salınan NO'nun vazodilatör olma özelliğinin sonucudur (Singh ve ark. 2009). Örneğin, bir çalışmada, sıçanlara i.p. diklofenak verilmesi bazal gastrik kan akımını % 50 azaltırken aynı yolla nitrofenak verilmesi gastrik kan akımını etkilememiştir (Wallace ve ark. 1994).

NO-NSA  'nin gastrointesial sistemde daha az yan etki oluşturmasında, reaktif oksijen radikali oluşumunu azaltmaları ve NO'nun mikrosirkülasyon içerisinde lökosit adezyonunu önlemesi de etkilidir (Singh ve ark. 2009). Bir çalışmada, sıçanlara flurbiprofen uygulamasıyla mezenterik post-kapiler venüllerde lökosit adezyonunun arttığı, NO-Flurbiprofen uygulamasının ise bu etkiyi üretmediği belirlenmiştir (Cirino ve ark. 1995). Başka bir çalışmada ise, NO- naproksen, NO- Aspirin, NO-Flurbiprofen, MPO aktivitesi ölçülerek NSA   ile karşılaştırılmış ve NO-NSA  'nin lökosit adezyonunu azalttığı bulunmuştur (Fiorucci ve ark. 1999).

Antiinflamatuvar etkilerinden dolayı NSA   romatizmalı hastalarda kronik olarak kullanıldıklarından bu durumdaki etkinliklerinin derecesi önemlidir. Sıçanlarda karragenle pençe  demi oluşturulan bir çalışmada, NO- ndometazin, NO-Aspirin, NO-Diklofenak'ın antiinflamatuvar etkinliklerinin tek başlarına gösterdikleri etkiden daha düşük olmadığı belirlenmiştir (Keeble ve Moore 2002).

Sonuc olarak, NO-NSA  'lerin, NSA  'lere göre gastrointestinal sistemde daha az yan etki oluşturdukları ve inflamatuvar etkinliklerinin de NSA  'lerden düşük olmadığı belirlenmiştir.

2.2.5. NSAİİ Kaynaklı Ülser Oluşumunda Etkili Mekanizmalar

2.2.5.1. Prostaglandin Sentezinin İnhibisyonu

NSAİİ ile görülen gastrointestinal toksisite, lokal COX inhibisyonu ile ilgili mekanizmalardan kaynaklanmaktadır (Radi 2009). Sıçan veya farelere selektif COX-2 inhibitörlerinin uygulanması mukozal hasara sebep olmamıştır. Pek çok hayvan çalışmasında selektif COX-1 inhibitörlerinin uygulanmasının gastrik prostaglandin sentezini baskımlarken mukozal hasarla sonuçlanmadığı gösterilmiştir. Ayrıca, bir çalışmada selektif COX-2 inhibitörü ile bir selektif COX-1 inhibitörünün birlikte uygulanması midede hemorajik erozyonların oluşmasına neden olduğu bulunmuştur. Buna göre; NSAİİ'nin indüklediği gastrik hasar hem COX-1 hem de COX-2 enzimlerinin inhibisyonunu gerektirmektedir (Wallace 2008).

Prostaglandinler, hem koruyucu mekanizmaları arttırarak hem de onarıcı mekanizmaları stimüle ederek ülser iyileşmesini hızlandırmaktadır. Non-selektif bir NSAİİ olan indometazinin ülser iyileşmesini geciktirdiği, fakat sentetik prostaglandinin bu gecikmeyi geriye döndürdüğü bulunmuştur. Deneysel kronik ülserin iyileştirilmesi süresince indometazin tarafından epitelyal yenilenmenin ve anjiyojenezin bozulması da prostaglandin azalmasına bağlı olduğu gösterilmiştir (Arakawa ve ark. 1998).

Diğer yandan, prostaglandinlerin gastrointestinal hasarların iyileşmesinde de önemli rolleri vardır. Gastrik erozyon ve ülserin iyileşmesi döneminde COX-2'nin upregüle olduğu gözlenmiştir (Shigeta ve Takahashi 2000). COX-2 tarafından üretilen prostaglandinlerin çeşitli büyüme faktörleri (bFGF, HGF, EGF...) aracılığı ile ülserin iyileşmesinde önemli rol oynadıkları ileri sürülmektedir. Sıçanlarda asetik asitle gastrik ülser oluşturulan bir çalışmada, ülserli ve intakt gastrik dokuda COX-1 ve COX-2 düzeyleri incelenerek COX-1 düzeylerinin aynı olduğu, COX-2 ve PGE₂ düzeylerinin artmış olduğu gözlenmiş ve bu artışın ülserin iyileşmesi ile azaldığı tespit edilmiştir (Amagase ve ark. 2003). Aynı ülser modelinde yapılan başka bir çalışmaya göre; COX-2 mRNA düzeylerinin ve PGE₂ düzeylerinin ülserli dokuda, intakt dokudakine oranla

artış gösterdiği bulunmuş ve bu artışın kaynağının fibroblastlar, makrofajlar, monositler ve granüositler olduğu ortaya konmuştur (Takahashi ve ark. 1998). Tüm bu çalışmaların sonuçlarına göre; COX-1 sağlıklı gastrik mukozada eksprese olurken COX-2 inflamasyonda indüklenmektedir (Wallace 2008). COX-2 kaynaklı prostaglandinlerin ülser oluşmuş bölgelerde hücre bölünmesi, anjiyojenez ve mukozal yapının restorasyonunu sağlamak gibi önemli roller aldığı görülmektedir. Ayrıca, COX-2'nin upregülasyonu mukozal defansın düzenlenmesinde hedeflenen defansif ve anti-inflamatuar yanıtı oluşturmaktadır (Amagase ve ark. 2003). Ülser iyileşmesinin büyüme faktörleri ile hızlandırılması indometazin gibi COX-1 ve COX-2 inhibitörü bir ilacın verilmesi ile ertelenmektedir. Buna göre, spesifik COX-2 inhibitörlerinin, gastrointestinal sistem üzerinde klasik NSAİİ'lerin yaptığı yan etkileri oluşturmamasına rağmen mukozal hasarın iyileşmesi sırasında indüklenen COX-2'yi de inhibe etmelerinden dolayı, peptik ülser iyileşmesi, H. Pyloriye bağlı gastrit ve inflamatuvar kolon hastalığı gibi durumlarda olumsuz etki oluşturduğu öne sürülmektedir (Laine ve ark. 1999).

2.2.5.2. İnflamatuar Faktörler

Nötrofiller ve nötrofil türevi faktörlerin (TNF- α , IL-1 β , IL-8, PAF gibi) NSAİİ'lere bağlı deneysel gastrointestinal ülser ve inflamasyonda önemli rolleri olduğu ortaya konmuştur. Sıçanlarda indometazin veya naproksen ile oluşturulan gastrik ülserin şiddetinin Anti-sıçan Nötrofil Serum (ANS) uygulanmasıyla anlamlı derecede azaldığı belirlenmiştir (Wallace ve Granger 1996; Wallace ve ark. 1990). Başka bir çalışmada, nötrofillerdeki bir adezyon molekülü olan CD18'e karşı bir antiserum kullanılarak nötrofil adhezyonu önlenmiştir ve indometazin kaynaklı ülser oluşumu engellenmiştir (Wallace ve Granger 1992). Nötrofiller inflamatuvar prosesin başlangıcında inflamasyon bölgesindeki pek çok faktörün de etkisiyle damarlardaki endotelial hücreler boyunca yerleşirler. Daha sonra damar endoteliumuna adere olurlar, bu sırada adezyon moleküllerini de aktive ederler ve endotelden mukozal hasar olan bölgeye doğru ilerleyerek mukozanın bağ dokusu olan lamina propria tabakasına yerleşirler. Ayrıca, NSAİİ uygulamasıyla beraber endotelial hücrelerde hücrelerarası adezyon

moleküllerinin (özellikle ICAM-1) aşırı ekspresyonu ile paralel olarak nötrofillerin vasküler endotele adezyonunun arttığı bulunmuştur (Wallace ve ark. 1990).

TNF- α 'nın, NSAİİ kullanımına bağlı gastrik mukozal hasar oluşumunda önemli rol oynadığı bilinmektedir. Plazmaya TNF- α salınımı NSAİİ tarafından arttırılmaktadır. TNF- α sentezinin inhibisyonu sıçan midesinde NSAİİ'nin zarar verici etkileri ile sonuçlanmaktadır (Wallace ve Ma 2001). Proinflamatuvar ve nötrofil adezyonu ile agregasyonunu arttıran bir sitokin olan TNF- α 'nın düzeylerindeki azalma, nötrofil adezyonunu ve buna bağlı mukozal hasarı azaltmaktadır. İndometazin uygulanan sıçanlarda TNF- α 'nın periferik kandaki düzeylerinin yükseldiği belirlenmiştir (Appleyard ve ark. 1996). Sıçanlarda yürütülen bir çalışmada, TNF- α anti-serumu kullanılarak plazma TNF- α seviyesinin azaltılması indometazinin indüklediği gastrik mukozal hasarda azalma meydana getirmiştir (Ding ve ark. 1998). Ayrıca, bir başka çalışmada önceden PGE₂ uygulanmasının TNF- α plazma seviyesini azaltarak NSAİİ'ye bağlı gastrik hasarı azalttığı da belirlenmiştir. Bu durum, hem PGE₂'nin koruyucu etkisini inflamatuvar faktörler aracılığıyla gösterebileceğini hem de NSAİİ'nin prostaglandin inhibisyonu ile TNF- α 'nın doku ve serum miktarlarını arttırdığını göstermektedir (Appleyard ve ark. 1996). TNF- α 'nın bu etkilerini gastrik epitelyal hücrelerde, immünoisitlerde ve endotelyal hücrelerde IL-8'i indükleyerek gösterdiği düşünülmektedir (Yasumoto ve ark. 1992).

Bu verilere karşın, nötrofil sayısının metotreksat ile azaltılması TNF- α seviyelerinin azalmasına aracılık etmemiştir. Bu da indometazinin indüklediği gastrik ülser modelinde nötrofillerin majör TNF- α kaynağı olmadığını göstermektedir. Onun yerine akut inflamasyon süresince, monosit ve makrofajların majör TNF- α kaynağı olduğu bulunmuştur (Ding ve ark. 1998).

2.2.5.3. Oksidatif yapılar ve Serbest Radikaller

NSAİİ indüklü gastrik mukozal hasarın oluşmasında reaktif oksijen radikallerinin O_2^- , H_2O_2 ve OH^- üretimi ve lipid peroksidasyonunun artması rol oynamaktadır (Zhang ve ark. 2008). Endojen glutatyon (GSH), Süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) gibi antioksidan enzimler doku hasarına sebep olan reaktif oksijen radikallerinin miktarını azaltmaktadır. Örneğin; sıçanlarda indometazinle ülser oluşturulan bir çalışmada, antiülser bir ilacın uygulanmasıyla gastrik dokuda GSH seviyeleri indometazin uygulanan kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur (Bilici ve ark. 2009). GSH'ın antioksidan etki göstermesine aracılık eden glutatyon peroksidaz enziminin aktivitesinin indometazin uygulaması ile inhibe olduğu tespit edilmiştir (Kwiecień ve ark. 2002). Dokuda artan GSH seviyesi gastroprotektif etki oluştuğunu göstermektedir. Aynı çalışmada indometazin uygulanan kontrol grubunda intakt dokuya göre CAT aktivitesi yüksek iken, antiülser ilaç uygulanan dokuda CAT seviyelerinde belirgin bir düşüş bulunmuştur. Deneysel çalışmalar CAT aktivitesinin indometazinin indüklediği gastrik hasarda arttığını göstermektedir. SOD aktivitesinin ise kontrol grubunda intakt dokuya göre daha az olduğu bulunmuştur. Daha önce yapılan çalışmalar, SOD aktivitesinin azalması ile ROS'un gastrik hasar meydana getirdiğini ortaya koymuştur (Bilici ve ark. 2009).

MPO ve MDA ise ülserli dokuda lipid peroksidasyonu olduğunun göstergesidir. Deneysel çalışmalarda, indometazinin serbest radikallerin üretimini katalizleyen ve proinflatuar hücre aktivasyonunu başlatan bir enzim olan MPO seviyelerini düşürdüğü gözlenmiştir (Bilici ve ark. 2009; Akar ve ark. 1999). Oksidatif strese maruz kalan dokular yüksek miktarda MDA oluşumuna neden olan lipid peroksidasyonunu indükleyen reaktif oksijen radikali içerirler. Ayrıca, yapılan çalışmalar hasar gören gastrik dokuda MDA seviyelerinin arttığını göstermektedir (Bilici ve ark. 2009).

Gastrik ülserli insanlarla sağlıklı insanları karşılaştıran bir klinik çalışmada ise, ülserli kişilerde mukozal MDA düzeylerinin sağlıklı insanlara göre anlamlı derecede yüksek olduğu, GSH düzeylerinin de sağlıklı insanlara göre az olduğu gözlenmiştir. MDA'nın yüksek oluşu lipid peroksidasyonu ile ilişkilendirilirken GSH'ın azalması ise

serbest radikallerin ülserli bölgede artan nötrofil faaliyeti ile paralel artışı sonunda GSH'ın daha fazla tüketilmesine sebep olduğu öne sürülmüştür (Demir ve ark. 2003).

2.2.5.4. Gastrik Motilite artışı ve Mukozal Kan Akımının Engellenmesi

Midede mukozal bariyerin bütünlüğünün korunabilmesi, mukozal epitelin düzenli olarak mukus ve bikarbonat salgısını yapabilmesi ve oluşan yüzeyel hasarların hızla onarılabilmesi için düzenli mukozal kan akımının olması gereklidir. Yapılan çalışmalarda, NSAİ ilaçların midede yararlı prostaglandinlerin sentezini inhibe etmeleri nedeniyle gastrik mukozal kan akımını azalttığı gösterilmiştir (Ueki ve ark. 1988).

İndometazin uygulanan sıçanlarda midede kasılma amplitüdünün arttığı ve indometazinin yüzeyel hücrelerde oluşan gastrik hasardan sorumlu olduğu tahmin edilmektedir. PGE₂ uygulaması ile indometazin indüklü hipermotilitenin inhibe edilmesi, NSAİ'nin gastrik motiliteyi artırma mekanizmasının prostaglandin sentezininin inhibisyonu olduğunu düşündürmektedir (Ueki ve ark. 1988). Ayrıca, bazı ilaçların gastrik arterlerde vazodilatör etki göstermesinin, bu ilaçların gastrik kan akımını artırarak indometazin ülserinde yararlı olabileceğine işaret etmektedir (Akar ve ark. 1999). Deneysel çalışmalarda, gastrik motilite artışının indometazine bağlı gastrik mukozal hasarı başlatan faktörlerden biri olduğu ve artan gastrik kasılmaların mukozal kan akımını paralel olarak azalttığı gösterilmiştir. Gastrik kasılmalar sırasında kan akımının kesintiye uğraması, prostaglandin sentezinin inhibisyonu gibi mekanizmalarla gastrik motilitenin inhibe olması engellenerek, mukozal direncin inhibe edilmesi ve dolayısıyla indometazin indüklü ülserin engellenebileceği öngörülmektedir (Ueki ve ark. 1988; Takeuchi ve ark. 1986).

2.2.5.5. Lokal Etki

NSAİ, COX-1 ve COX-2, mukozal kan akımı, endotele lökosit aktivasyonu ve adezyonunun inhibisyonu ve apoptozun indüksiyonu gibi pek çok sistemik mekanizma

ile gastrointestinal sistemde oluşan hasara öncülük etmektedir. Bunun yanı sıra, lokal etki mekanizmaları da NSAİİ ile oluşan GI sistem hasarlarında rol oynamaktadır (Lichtenberger ve ark. 2007). NSAİİ'nin, membran veya ekstraselüler fosfolipidler ile kimyasal etkileşime girdikleri düşünülmektedir. Daha sonra ise membranın yapısını bozarak proton ve diğer suda çözünen bileşiklerin lümeninden dokuya geçmelerine sebep oldukları, ayrıca membranda porlar oluşumuna aracılık ederek luminal asidin geri difüzyonuna katkıda bulunduklarına dair bulgular bulunmaktadır. NSAİİ, selüler membranlara direkt etki de göstererek membran geçirgenliğini azaltmakta ve bu sayede NSAİİ indüklü sitotoksisteye aracılık etmektedirler (Lichtenberger ve ark. 2006).

Buna göre, NSAİİ sistemik etkilerinden bağımsız olarak lokal bir etki ile de mukozal bütünlüğü bozmaktadırlar. Bu durum mide asidinin daha derin tabakalara geçişine ve mukozal hasar gelişimine katkıda bulunur.

2.2.6. NSAİİ'ye Bağlı Ülserin Tedavisi ve Profilaksisinde Kullanılan İlaçlar

NSAİİ'nin gastrointestinal sistemdeki olumsuz etkilerinin temelinde pek çok faktörün rolünün olması sebebiyle gastrointestinal hasardan korunma (profilaksi) ya da tedavide tek çeşit bir tedavi şekli geliştirilememiştir. Genelde, tedavi ve korunma farklı etki mekanizmasına sahip birkaç ilacın tek başına veya kombine kullanımı ile sağlanmaktadır (Kayaalp 2009, p. 845).

NSAİİ ye bağlı ülseri gelişiminde daha önce geçirilmiş peptik ülser veya gastrointestinal kanama öyküsü, ileri yaş, kardiovasküler sistem hastalığı, NSAİİ dozunun artması ve kullanım süresinin uzaması, birden fazla NSAİİ kullanılması, diğer ülserojenik ilaçların (glukokortikoidler, mukozit yapan kanser ilaçları, kolşisin gibi) veya oral antikoagülanların (varfarin gibi) birlikte alınması, fazla alkol alımı, sigara tiryakiliği gibi risk faktörleri rol oynamaktadır (Chan ve Graham 2004; Kayaalp 2009, p. 846).

NSAİİ'ye bağılı ülser gelişiminin tedavi ve profilaksisinde hedefler şunlardır (Chan ve Graham 2004):

- i. NSAİİ'ye bağılı gastrointestinal yan etki semptomlarından korunma veya semptomların azaltılması
- ii. Gastrointestinal kanamadan korunma,
- iii. Mide ya da duodenumda delinme olmasını engelleme

NSAİİ'ler ile birlikte proton pompası inhibitörleri (PPI), histamin (H_2) reseptör antagonistleri, sukralfat ve oral etkili metilli bir prostaglandin E_1 analogu olan misoprostolün kullanılması, NSAİİ'lerin ülserojenik etkilerini önlemek, oluşmuşsa tedavi etmek için, antasidlerin kullanımı ise bu etkiyi azaltmak için geliştirilmiş tedavi yaklaşımlarıdır (Kayaalp 2009, p. 845). Bu hedeflere yönelik olarak sıklıkla şu ilaçlar kullanılmaktadır:

2.2.6.1. Sükralfat

Ülserin üzerindeki protein ve fibrinojen tabakası ile kompleks oluşturarak onu örten asid, pepsin ve safra asidlerini geçirmeyen yapışkan bir bariyer oluşturur. Ayrıca, mide mukozasında prostaglandin sentez ve salıverilmesini arttırmak suretiyle ve olasılıkla diğere bazı endojen maddeler aracılığı ile de sitoprotektif etkinlik ve mukozanın ülserojenik etkenlere karşı savunmasını pekiştirici etkinlik gösterir. Genelde, mide ülseri tedavisi için yemeklerden 1 saat önce günde 4 defa 1 g dozda, 4-6 hafta süre ile kullanılır. Fakat iyileşme olduktan sonra idame tedavisi için kullanımı tavsiye edilmemektedir (Chisholm-Burns ve ark. 2007, p. 279). Gebelik kategorisi B'dir. En sık görülen yan etkisi konstipasyondur. Nadiren ağızda metalik tad, bulantı, kusma, mide sıkıntısı yapabilmekte ve renal yetmezliği olanlarda alüminyum toksisitesine sebep olabilmektedir (Kayaalp 2009, p. 1373; Katzung ve ark. 2009, p. 1075-1076).

2.2.6.2. H₂ Reseptör Blokerleri

Midede asid salgılayan pariyetal hücrelerde H₂ reseptörlerinin histamin ve benzeri maddelerle aktivasyonu adenilil siklaz enzimini stimüle eder ve hücre içinde sAMP düzeyini artırır. sAMP, histaminin yaptığı hidrojen iyonu (asid) salgısındaki artmaya aracılık etmektedir (Kayaalp 2009, p. 1365). H₂ reseptör blokerleri seçicidir, H₁ veya H₃ reseptörlerini etkilemezler (Katzung ve ark. 2009 p. 1070). Histaminin adenilil siklaz üzerindeki etkisini inhibe ederler ve pariyetal hücrelerde sAMP düzeyini düşürürler. Böylece, gastrin, yemek, vagus stimülasyonu, kafein, insülin enjeksiyonu, psişik refleks ve histamin ile stimüle olan asid salgısını (örneğin; nokturnal asid salgısı) güçlü bir şekilde inhibe etmektedirler (Kayaalp 2009, p. 1365; Katzung ve ark. 2009, p. 1070). Fakat yemek sonrası artan asid salgısını kısmen inhibe edebilmektedirler. Ayrıca, midedeki gastrik sekresyon miktarını ve pepsin konsantrasyonunu azaltırlar (Katzung ve ark. 2009, p. 1070).

Son dönemde klinik kullanımda olan 4 H₂ reseptör blokeri bulunmaktadır. Bunlar; simetidin, ranitidin, famotidin ve nizatidindir. Simetidin, ranitidin ve famotidin karaciğerden ilk geçiş etkisine uğradıklarından etkileri % 50 oranında azalmaktadır. Fakat nizatidin, düşük miktarda ilk geçiş etkisine uğrar (Katzung ve ark. 2009, p. 1069).

H₂ reseptör blokerleri NSAİİ indüklü ülserin yanında, reflü, ülsere bağlı olmayan dispepsi, strese bağlı gastrit kanamasının önlenmesi gibi durumlarda da kullanılabilir (Katzung ve ark. 2009, p. 1070-1071). Fakat, uzun süreli kullanımları sırasında farmakolojik tolerans gelişmektedir ve etkinlikleri azalmaktadır. Bu sebeple sadece semptomlar ortaya çıktığında kullanılması önerilmektedir (Kayaalp 2009, p. 1365).

H₂ reseptör blokerleri güvenli ilaçlardır, nadir görülen yan etkileri; diyare, baş ağrısı, miyalji, halsizlik ve kabızlıktır. Simetidin, sitokrom p450 enzimleriyle etkileşime girer. H₂ reseptör blokerleri, bazı ilaçlarla (örneğin; prokainamid) ve kreatinin ile renal tübüler sekresyon için yarışır. Famotidin dışındaki H₂ reseptör blokerleri özellikle

kadınlarda etanolün gastrik ilk geçiş metabolizmasını inhibe ederler. Simetidin, dihidrotestosteronun androjen reseptörlerine bağlanmasını engeller, östradiol metabolizmasını inhibe eder ve serum prolaktin seviyelerini artırır. Bu sebeple uzun süre veya yüksek dozda kullanımı sonucu erkeklerde jinekomasti veya impotansa, kadınlarda galaktoreye sebep olabilir. H₂ reseptör blokerleri plasentaya ve süte geçerler, çok gerekli olmadıkça hamilelerde kullanılmamalıdır (Katzung ve ark. 2009, p. 1071).

2.2.6.3. Antasidler

Mide mukozasının salgıladığı hidroklorik asidi nötralize ederek mide suyunun asidliğini azaltan ve ağız yolundan alınan, lokal etkili ilaçlardır. Mide boşken mide pH'sı 1-1.2'dir. pH 5'in üzerine çıkarsa protein yapıların sindiriminde rol oynayan pepsinin aktivitesi inhibe edilir. pH 4-5'in üzerine çıkarsa, mide asiditesinin devamını sağlayan mide hormonlarından olan gastrinin salgılanması artar. Antasid ilaçların fazla kullanılması durumunda mide pH'sının fazla artışı gastrin salgılanmasına, ardından mide asiditesinin artmasına neden olur. Bu duruma re-bound asid salgılanması denir. Bu yüzden antasid tedavisi sırasında pH'nın 5'in üzerine çıkarılmaması gerekir. Hedef pH'nın 3 ile 5 arasında tutulmasıdır. Antasidlerle mide asidinin uzun süre düşük kalması barsak bakterilerinin mideye geçişini ve midede barınabilmesini sağladığı için GIS rahatsızlıklarına sebep olabilir. Ayrıca, bazı antasid ilaçlar, midede karbondioksit (CO₂) ayrışarak midede gerilmeye yol açarlar. Bu da mide ülserinde istenmeyen bir durumdur (Kayaalp 2009, p. 1368-1369).

Klinik olarak kullanılan antasidler sodyum bikarbonat, kalsiyum karbonat, magnezyum hidroksit ve alüminyum hidroksittir. Tüm antasidler, ilaca bağlanmak veya intragastrik pH'ı, dolayısıyla ilacın dağılımı veya çözünürlüğünü değiştirmek suretiyle diğer ilaçların emilimini değiştirirler. Ayrıca, tetrasiklin, florokinolon, itrakonazol ve demir kullanımı sırasında 2 saat süreyle antasid kullanılmamalıdır (Katzung ve ark. 2009, p.1069).

2.2.6.4. Proton Pompası İnhibitörleri

Mide asid salgısını en güçlü şekilde bloke eden ilaçlardır. Mide pariyetal hücrelerinden asid sekresyonu K^+ , H^+ , ATPaz enziminin aktivitesi ile sağlanmaktadır. Proton pompası adı verilen ve K^+ ile stimüle edilen ATPaz, hücre içinde karbonik anhidraz reaksiyonu sonucu meydana gelen H^+ 'i mide lümenine pompalar. Proton pompası inhibitörleri zayıf bazik özellikte olduklarından pariyetal hücre sekretuar kanaliküllerinin düşük pH'lı ortamında iyon tuzağı ile konsantre olurlar. Proton pompası molekülünün sistein rezidülerine bağlanarak geri-dönüşsüz (irreversibl) inhibisyon yaparlar (Kayaalp 2009, p. 1365-1366).

Klinik kullanımda olan 5 proton pompası inhibitörü bulunmaktadır. Bunlar; omeprazol, lansoprazol, rabeprazol, pantoprazol ve esomeprazoldür. Hepsinin oral formu bulunmaktadır, esomeprazol ve pantoprazolün i.v. formülü de mevcuttur. Proton pompası inhibitörleri ön ilaçtır, lipofilik karakterdedirler. H_2 reseptör blokerlerinin aksine hem açlık hem de yemek sonrası asit salgısını inhibe ederler. NSAİİ'ye bağlı gelişen ülserden başka, reflü, peptik ülser, serum gastrininin artmasına ve azalan asiditeye bağlı gelişen durumlarda da kullanılırlar. Bu ilaçlar, aç karnına, genelde sabah kahvaltısından 1 saat önce kullanılmalıdır (Katzung ve ark. 2009, p. 1071-1072). Kullanımları sırasında antasidler ya da H_2 reseptör blokerlerinde olduğu gibi tolerans gelişmesi ile rebound etki riski yoktur. Ancak yapılan çalışmalarda, bu ilaçları kullanan kişilerde sıklıkla pnömoni ve Clostridium difficile'ye bağlı diyare olduğu gözlenmiş fakat bu komplikasyonların proton pompası inhibitörü kullanımı ile bağlantısı henüz açıklanamamıştır (Targownik ve Thomson 2006). Proton pompası inhibitörleri mide asidini inhibe ettikleri için, ketokonazol, itrakonazol, digoksin ve atazanavir gibi biyoyararlanımı mide asidinden etkilenen ilaçların emilimini etkileyebilmektedir. Omeprazol varfarin, diazepam ve fenitoinin metabolizmasını inhibe edebilmektedir. Esomeprazol diazepamın metabolizasyonunu azaltabilmektedir. Lansoprazol teofilin klirensini düzenleyebilmektedir. Rabeprazol ve pantoprazolün bilinen bir ilaç etkileşimi yoktur (Katzung ve ark. 2009, p. 1075).

2.2.6.5. Misoprostol

Misoprostol, fizyolojik koşullarda gastrik mukozadan serbestlenen ve mide mukozasının kimyasal hasara karşı korunmasında gerekli olan PGE_1 'in sentetik analogudur. Mide mukozasında mukus ve bikarbonat salgılanmasını artırır ve histaminin stimüle ettiği sAMP üretimini azaltarak mide asid salgı bezlerini (pariyetal hücrelerde) inhibe eder ve böylece hidroklorik asid salgılanmasını azaltır (Katzung ve ark. 2009, p. 1076). Hem bazal hem uykuda asid salgılanmasını ve hem de histamin, pentagastrin ve kafein tarafından stimüle edilmiş asid salgısını inhibe eder. Ayrıca, bu etkilerinden bağımsız olarak sitoprotektif etkisi olduğu bulunmuştur (Kayaalp 2009, p. 1374).

NSAİİ indüklü ülseri olan hastalarda minimum etkin dozu günde 400 mcg'dır. Misoprostol bir ön ilaçtır ve oral uygulamayı takiben hızlı bir şekilde emilerek metabolik olarak aktif serbest aside dönüştürülür (Chisholm-Burns ve ark. 2007, p. 277; Katzung ve ark. 2009, p. 1076). Hem yan etki profili hem de gün içinde fazla uygulama gerektirmesi nedeniyle rutin mide ülseri tedavisinde tavsiye edilmemektedir, mide ülseri riski fazla olan hastalarda başka bir endikasyon için kullanılan aspirin ve NSAİİ ile birlikte, onların mide ülseri oluşturmalarını önlemek için kullanılmaktadır. Son dönemde de diklofenak ile kombine preparatı tedavide yerini almıştır (Katzung ve ark. 2009; p. 1076; Kayaalp 2009, p. 1374).

Misoprostolün en sık görülen yan etkisi diyaredir. Ayrıca, uterusu stimüle ederek düşüğe sebep olduğu için hamile ya da hamile kalma olasılığı olan kadınlarda kullanılmamalıdır (Kayaalp 2009, p. 1374). Belirgin bir ilaç etkileşimi bulunmamaktadır (Katzung ve ark. 2009, p. 1076).

2.3. Tetrahidrobiopterin

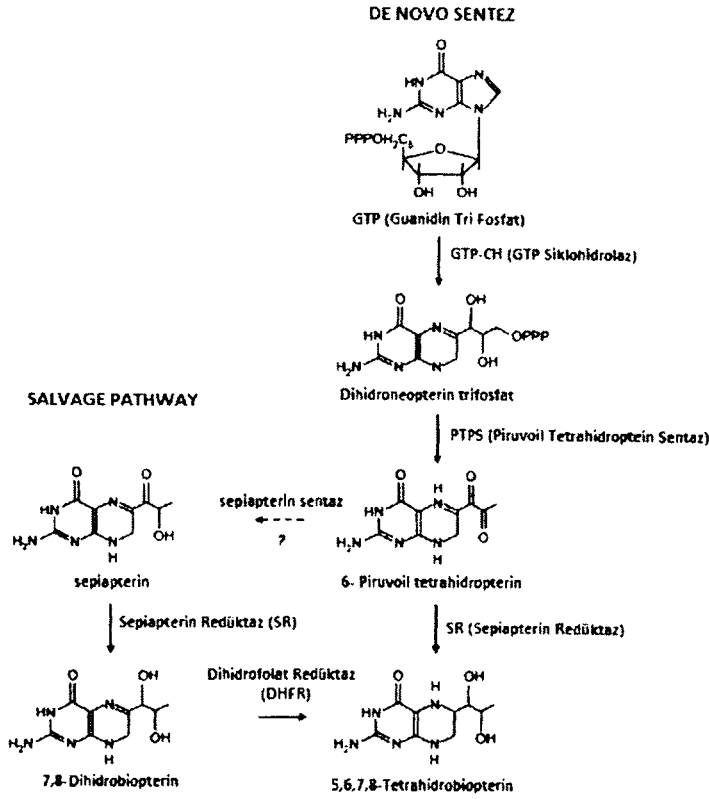
Pterinler ilk kez 1895 yılında Hopkins tarafından tanımlanmış ve 1960'larda ise Watt tarafından karakterize edilmiştir. Tetrahidrobiopterin (BH₄) öncelikle aromatik amino asit hidroksilazlar (fenil alanin hidroksilaz, tirozin-3-hidroksilaz, triptofan-3-hidroksilaz) ve gliseril-eter monooksijenaz enzimlerinin kofaktörü olarak belirlenmiştir (Schmidt ve Alp 2007). 1989 yılında ise Stuehr ve arkadaşları tarafından BH₄'ün NOS enziminin de kofaktörü olduğu bildirilmiştir (Kwon ve ark. 1989).

2.3.1. Biyosentezi

BH₄ biyosentezi, de novo sentez ve "salvage yolağı" isimli ikinci bir yolak olmak üzere iki şekilde gerçekleşmektedir. Bunlardan de novo sentezde, Guanidin TriFosfat'ın (GTP) BH₄'e dönüşümü üç enzimatik basamaktan oluşan bir reaksiyon dizisi sonucu gerçekleşir. Birinci basamakta bu sürecin anahtar enzimi olan GTP-siklohidrolaz-1, dihidroneopterin trifosfat oluşumunu katalizler. Bu enzimin aktivitesi interferon- γ stimülasyonu ile büyük oranda artar. Bunun yanında interferon- α , diğer sitokinler ve endotoksinler de çok düşük oranlarda da olsa GTP-siklohidrolaz-1 aktivitesini arttırabilirler (Moens ve Kass 2006). Dihidroneopterin trifosfat, Mg bağımlı gerçekleşen ve 6-pirüvoil tetrahidropterin sentaz enzimi ile katalizlenen basamakta, 6-pirüvoil tetrahidrobiopterine dönüştürülür. Son basamakta pirüvoil yan zincirinin iki ketoik parçasının, NADPH bağımlı sepiapterin redüktaz enzimi ile katalizlenen reaksiyonla indirgenmesi sonucu BH₄ meydana gelir (Nicholas ve Channon 2004).

BH₄ sentezinde, 6-pirüvoil tetrahidrobiopterinin, sepiapterin sentaz enzimi aracılığıyla sepiapterine dönüştürüldüğü alternatif bir yolak olduğu bildirilmiştir. Daha sonra sepiapterin, sepiapterin redüktaz ile 7,8-dihidrobiopterine (BH₂), BH₂ ise dihidrofolat redüktaz (DHFR) aracılığıyla BH₄'e dönüştürülür ve bu şekilde BH₄'ün diğer bir yolak ile sentezlenmesine 'salvage yolağı' adı verilmiştir (Nicholas ve Channon 2004). Öte yandan, BH₄ serbest oksijen bileşikler özellikle de peroksinitrit

(ONOO⁻) aracılığıyla oksitlenerek dihidrobiopterine (BH₂) dönüşebilir (Schmidt ve Alp 2007). (Şekil 2-1)



Şekil 2-1 : BH₄'ün biyosentezi. – Alp ve Channon 2004'ten değiştirilerek.

2.3.2. BH₄ ve NOS Aktivitesi

BH₄ yetersizliğinde NOS enziminin NO yerine süperoksit iyonları (O₂⁻) ürettiği gösterilmiş ve bu durumda NOS'nin kenetsizlenmesi reaksiyonu olarak tanımlanmıştır (Özkör ve Quyyumi 2008). eNOS kenetsizlenmesi reaksiyonunun birçok kardiyovasküler hastalıkta görülen endotel fonksiyon bozukluğunun (endotel disfonksiyonu) oluşumunda önemli bir rol oynadığını gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Channon 2004; Moens ve Kass 2006; Schmidt ve Alp 2007). BH₄ düzeylerindeki yetersizliğin BH₄'ün oksidatif stresle özellikle de peroksinitrit (ONOO⁻) ile oksitlenmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. BH₄'ün oksidatif stresle kimyasal inaktivasyonunun eNOS kenetsizlenmesine neden olması sonucunda hem NO düzeylerindeki azalmanın hem de oksidatif stresin artması sonucunda endotel

disfonksiyonunun oluşumunu tetiklediği öne sürülmektedir (Alp ve Channon 2004; Moens ve Kass 2006; Schmidt ve Alp 2007).

2.3.3. BH₄ ve Endotel Disfonksiyonu

Son 10 yıl içerisinde, BH₄'ün oksidatif stresle kimyasal inaktivasyonunun eNOS kenetsizlenmesine ve endotel disfonksiyonuna sebep olduğunu gösteren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (Alp ve Channon 2004; Katusic ve ark. 2009). Örneğin, ApoE-KO (apolipoprotein E knockout) farelerde oluşturulan ateroskleroz modelinde, uzun süreli eNOS'nin aşırı ekspresyonunun zararlı etkilerinin olduğu gösterilmiş ancak BH₄ takviyesinin bu farelerde ateroskleroz gelişimini ortadan kaldırdığı belirtilmiştir. BH₄'ün bu etkisinin de eNOS kenetsizlenmesini önlemesinden kaynaklandığı ortaya konmuştur (Hattori ve ark. 2007). Ayrıca son dönemlerde kardiyovasküler hastalıklarda görülen endotel disfonksiyonu üzerine dışarıdan BH₄ suplementasyonunun (takviyesi) etkilerini inceleyen klinik çalışmalar da yapılmıştır. İlk çalışmalar az sayıda hasta üzerinde yürütülmüş ayrıca da bu çalışmalarda akut veya kısa süreli BH₄ uygulaması yapılmıştır. Buna rağmen, sonuçlar BH₄ takviyesinin hiperkolesterolemi, diyabet, hipertansiyon, koroner arter hastalığı ve kalp yetmezliği gibi hastalıklarda görülen endotel disfonksiyonunu geri döndürebildiğini göstermiştir. BH₄'ün yararlı etkilerinin endotel bağımlı olduğu bildirilerek eNOS aktivasyonunu ve oksidatif stresi azaltmasından kaynaklandığı ortaya konmuştur (Katusic ve ark. 2009). Daha sonraki araştırmalarda ise hiperkolesterolemik ve hipertansif hastalarda oral BH₄'ün uzun süreli etkileri çalışılmıştır. Örneğin bir çalışmada, 22 hiperkolesterolemik hastaya 4 hafta süreyle oral BH₄ veya plasebo uygulanmıştır. Hiperkolesterolemik hastalarda BH₄'ün endotel-bağımlı gevşeme yanıtlarını artırdığı ve oksidatif stresin önemli bir göstergesi olan izoprostan seviyelerini düşürdüğü bildirilmiştir (Cosentino ve ark. 2008). Diğer bir çalışmada ise, 8 hafta süreyle oral BH₄ (5 veya 10 mg/kg) uygulanan hipertansif hastalarda kan basıncının düştüğü ve endotel disfonksiyonunun da azaldığı bildirilmiştir (Porkert ve ark. 2008).

Hem tip I hem de tip II diyabette oksidatif stresin arttığı ve endotel disfonksiyonun varlığı farklı çalışmalarda gözlemlenmiştir. Örneğin, insülin direnci olan sıçanlarda yapılan bir deneysel çalışmada, dışarıdan BH₄ takviyesi yapılması veya sıçan aortalarının BH₄ solüsyonunda inkübe edilmesi ile insülin direncinin azaldığı, kan basıncının normale döndüğü gözlenmiştir (Özkör ve Quyyumi 2008). Bir klinik çalışmada ise koroner arter bypass ameliyatı geçirmiş diabetik hastalardan izole edilen safen ven ve meme arterlerinde BH₄ ile inkübasyon yapılması sonucunda süperoksit oluşumunun azaldığı tespit edilmiştir (Guzik ve ark. 2002).

Kardiyovasküler hastalıklarda görülen BH₄ eksikliğinin önlenmesinde endojen BH₄ miktarının korunması da alternatif bir çözüm oluşturmaktadır. Bunun için BH₄'ün oksidasyonunun engellenmesi ve biyoyararlanımının artırılması amaçlanmaktadır. Klinik çalışmalarda folik asitin peroksinitrit süpürücü ajan olarak BH₄'ün biyoyararlanımını artırdığı gözlenmiştir. Endotel hücre kültürleri ve deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda ise, askorbik asit, statinler, enalapril, kaptopril, telmisartan, insülin ve eritropoetin gibi ilaçların da BH₄ biyosentezini stimüle ettiği ve BH₄'ün oksidatif stres tarafından oksidasyonunu koruduğu gösterilmiştir (Katusic ve ark. 2009).

2.3.4. BH₄ ve Fenilketonüri

Fenilketonüri, fenilalanin hidroksilaz enzimi eksikliğinin sonucu olarak ortaya çıkan otozomal bir hastalıktır. Fenilalanin hidroksilaz, aromatik bir amino asit olan fenilalaninin tirozine hidroksilasyonunda rol oynar. Fenilketonüri hastalığında, fenilalanin tirozine dönüştürülemediğinden kandaki ve idrardaki fenilalanin miktarı normalden fazladır. Fenilalanin fazlalığı, beyin gelişiminin azalması, mikrosefali ve nörotransmitter sentezi bozukluğu gibi santral sinir sistemi (SSS) anomalilerine neden olur. Ayrıca, kognitif disfonksiyon, davranış bozuklukları, görmede azalma riskini artırmaktadır (Hegge ve ark. 2009).

Fenilalanin hidroksilaz enziminin kofaktörü olan BH_4 , karaciğerde fenilalaninin tirozine hidroksilasyonunda rol oynar. BH_4 eksikliği fenilalanin metabolizmasının bozulmasına neden olmaktadır (Hegge ve ark. 2009). Öte yandan, dışarıdan oral BH_4 takviyesinin bazı fenilketonüri hastalarında kandaki fenilalanin miktarını normale döndürdüğü bulunmuştur. Bu nedenle, FDA fenilketonüri hastalarında BH_4 'ün 6R-izomerinin sentetik bir formülasyonu olan sapropterinin kullanımını onaylamıştır (Michals-Matalon 2008).

Sapropterin için tavsiye edilen başlama dozu günde bir defa 10 mg/kg'dır. Belirtilen dozda bir ay kullanım boyunca fenilalanin düzeyleri takip edilir. Eğer bir azalma görülmezse doz 20 mg/kg'a çıkarılır. Bir ay bu dozdaki tedaviye cevap vermeyen hastalarda tedavi kesilir (Kuvan 2007).

En sık görülen yan etkileri; baş ağrısı, üst solunum yolları enfeksiyonu, öksürük, rinore, faringolaringeal ağrı, hipofenilalaninemi ve gastrointestinal şikayetler (bulantı, kusma, diyare) olduğu bildirilmektedir (Sanford ve Keating 2009; Hegge ve ark. 2009). Kontrendikasyonları ile ilgili bilgi bulunmamaktadır (Kuvan 2007).

Sapropterin sağlıklı bireylerde oral alımını takiben hızlı bir şekilde emilerek (0 – 4 saat) kanda 4 ila 10 saatte maksimum konsantrasyona (C_{maks}) ulaşır. Fenilketonüri hastalarında kandaki C_{maks} 'a 2 saatte eriştiği ve yarılanma ömrünün ($T_{1/2}$) 4 ila 5.5 saat olduğu bildirilmiştir. 10 mg/kg dozda alınan sapropterinin 4. saatte maksimal plazma konsantrasyonu 258.7 nmol/l iken 20 mg/kg dozda 3. saatte 441.7 nmol/l'dir (Michals-Matalon 2009). Ayrıca, 2 mg/kg dozda sublingual sapropterin uygulanması ile plazma konsantrasyonunun aynı dozda oral uygulanmasından daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Hegge ve ark. 2009). Sapropterin kandaki fenilalanin düzeylerini 8 ila 24 saatte düşürmektedir. Sapropterinin eliminasyonu yavaş olmaktadır (yaklaşık 10 ila 33 saat) (Michals-Matalon 2009).

Sağlıklı bireylere 2, 10 ve 20 mg/kg dozda oral yolla BH_4 uygulanmış ve kan plazmasında farmakokinetik parametreler incelenmiştir. 10mg/kg dozda, maksimum

konsantrasyona ulaştığı zaman (T_{maks}) 4 saat, C_{maks} 258.7 nmol/L, $T_{1/2}$ ise 5.1 saat olarak belirlenmiştir. 20 mg/kg dozda ise T_{maks} 3 saat, C_{maks} 441.7 ve $T_{1/2}$ 4.2 saat olarak tespit edilmiştir (Fiege ve ark. 2003).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Deney Hayvanları

Deneylerde ortalama 200-250 g ağırlığında dişi Wistar Albino sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar, İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir. Hayvanlar standart sıçan yemi ile beslenmişlerdir. İçme suyu olarak çeşme suyu kullanılmıştır. Hayvanlar 20 ± 2 °C'de 12 saat aydınlık 12 saat karanlık periyodunun sağlandığı bir ortamda muhafaza edilmişlerdir. Deney sonuçlarının sirkadiyen ritme bağlı değişiklikler göstermesini engellemek için sıçanların deneye alınma saatinin her gün aynı olmasına dikkat edilmiştir. Deneye alınacak sıçanlar skatofajiyi önlemek amacıyla altında delikli tel bulunan kafeslere alınmış ve 18 saat boyunca sadece su içmelerine izin verilerek aç bırakılmışlardır.

Bu çalışma İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun onayı [**Karar No: 116 Sayı: 127 Tarih: 14/Eylül/2009**] alınarak yapılmıştır.

3.2. Kullanılan Aletler

- Elektronik terazi (Sartorius)
- Elektronik hassas terazi (Sartorius)
- Vortex
- Manyetik karıştırıcı
- Derin dondurucu (-20 °C ve -80 °C)
- Otomatik pipet (Eppendorf, 400µl)
- Tüp (Eppendorf, 1 ml)
- Mikrotom bıçağı (Feather)

- Mikroskop (Olympos)
- Fotoğraf Makinası (Canon)
- Cam malzeme (beher, balon joje, mezür)
- Cerrahi makas ve pens
- Gavaj için paslanmaz çelik sonda (5,5 cm)
- Altında delikli tel, üstünde sadece su şişesi konulabilen, düz, telden kapak bulunan özel kafesler (10 adet)
- Doku saklama kabı
- Lam ve lamel

3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Hazırlanışları

- NaHCO_3 (Merck)

% 5'lik (a/h) çözeltisi hazırlanmıştır.

- Tetrahidrobiopterin (Cayman[®])

NOS'un kofaktörü. Deney günü distile su içerisinde çözülmüştür.

- İndometazin (Cayman[®])

NSAİİ, Prostaglandin sentez inhibitörü. % 5'lik (a/h) NaHCO_3 'ta çözülmüştür.

- ‰ 9'luk NaCl (Merck[®])

- 1400W (Tocris[®])

İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz inhibitörü. ‰ 9'luk NaCl çözeltisinde çözülmüştür.

- Formaldehid (Tekno-Kim[®])

Histolojik inceleme için doku tespit edici ve fiksatorü olarak kullanılmıştır. %37'lik formaldehid distile su ile % 10'luk çözeltisine seyreltilmiştir.

- Dietileter (Merck[®])

Etken veya kimyasal maddeler sıçanlara 0.3-0.4 ml hacimde uygulanmıştır. Etken madde ile aynı yoldan ve aynı hacimde verilen çözücülerin incelenen parametreleri etkilemediği belirlenmiştir.

3.4. Yöntem

Bu çalışmada yürütülen farmakolojik deneyler İ.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda, histopatolojik ölçümler İ.Ü. Veterinerlik Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.4.1. Sıçanlarda İndometazinle Gastrik Ülser Oluşturulması

Sıçanlar skatofajiyi önlemek amacıyla altı delikli tel ve üstünde sadece su şişesi konulabilen, düz, telden kapak içeren özel kafeslerde 18 saat boyunca yem verilmeden ve sadece su içmelerine izin verilerek aç bırakılmışlardır. Gece gündüz ışık ritmlerine ve deneye başlanma saatinin aynı olmasına dikkat edilerek bu sürenin sonunda hafif eter anestezisi altında sıçanlara 30 mg/kg dozda indometazin veya çözücüsü %5 NaHCO₃ oral gavaj yoluyla verilmiştir.

İndometazin veya çözücüsünün uygulanmasının ardından sıçanlar tekrar altı delikli tel içeren kafeslere yerleştirilmiş ve yem yemelerine izin verilmeyerek 6 saat süreyle ülser lezyonlarının oluşması için bekletilmişlerdir. 6 saatin sonunda sıçanlar servikal dislokasyon yolu ile feda edilerek mideleri izole edilmiş ve serum fizyolojik içeren petri kutularına alınmıştır. Mideler küçük kurvatür boyunca açılarak iç kısımlar serum fizyolojik ile dikkatlice temizlenmiş ve lümen kısmı dışa gelecek şekilde el baş parmağına geçirilerek ülser lezyonları belirlenmiştir. Ölçüm mm ölçeği bir cetvel yardımıyla büyüteç altında yapılmıştır. 1 mm ve daha büyük lezyonlar en uzun yerinden “mm” olarak ölçülmüştür. Mukoza lezyonlarının 1 mm'den küçük olanları peteşi olarak değerlendirilmiş ve 5 peteşi 1 mm olarak kabul edilmiştir. Her mide için

ölçüm sonuçları toplanarak ülser skorları (mm) belirlenmiş ve daha sonra deney gruplarına ait ortalama değerler hesaplanmıştır.

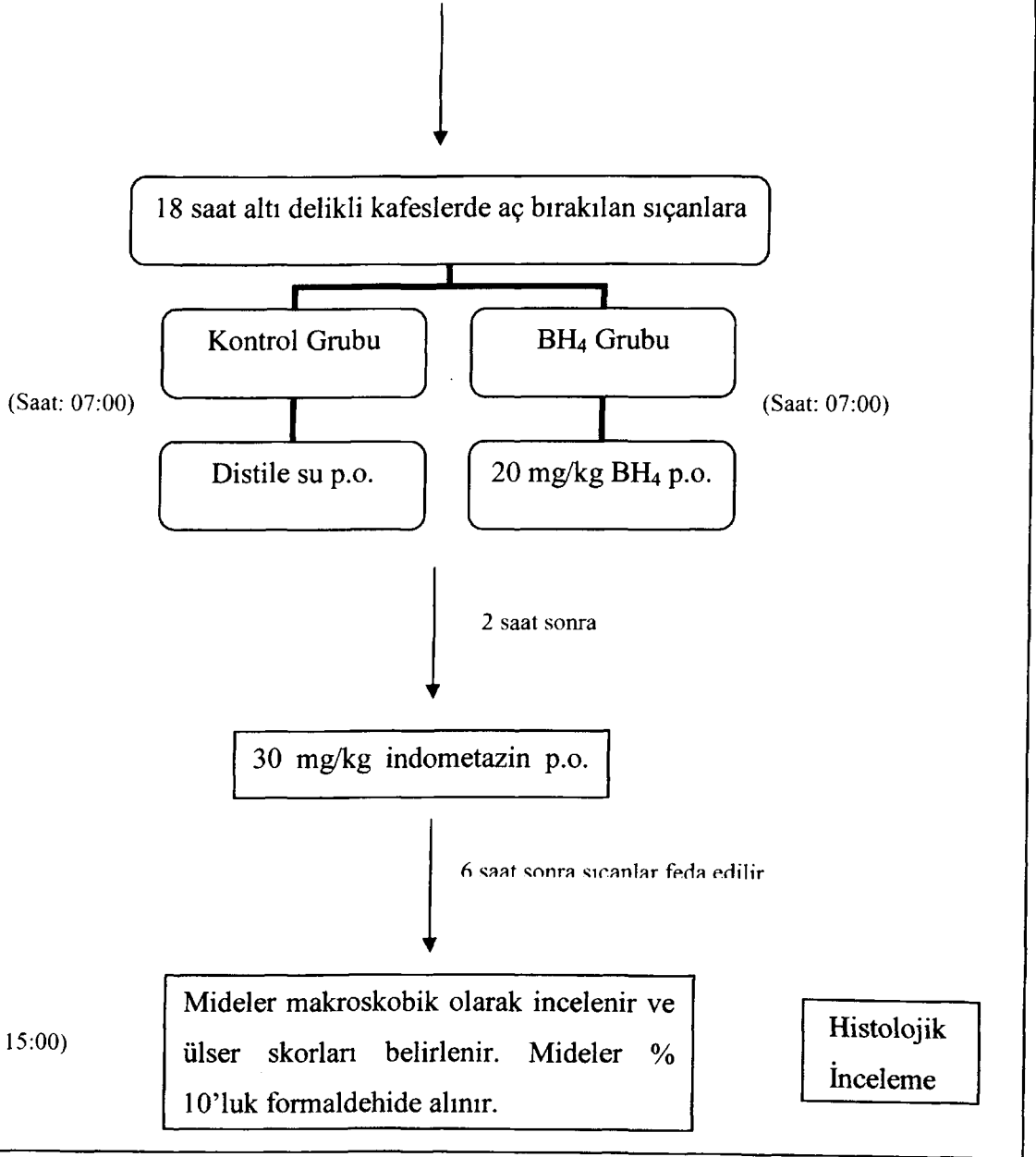
3.4.2. İndometazin ile Oluşturulan Gastrik Ülser Üzerine BH₄'ün Etkisinin İncelenmesi

BH₄'ün indometazin ile oluşturulan gastrik ülser lezyonlarındaki etkisi 20 mg/kg dozda sıçanlara 2 gün süreyle uygulanması sonrasında değerlendirilmiştir.

Sıçanlara 2 gün süreyle her gün aynı saatte olacak şekilde 20 mg/kg dozda BH₄ hafif eter anestezisi altında oral yoldan uygulanmıştır. 2. gün BH₄ uygulanmasından 2 saat sonra 30mg/kg dozda indometazin oral yoldan verilmiştir. İlaç ya da çözücü uygulamalarından sonra sıçanlar tekrar delikli tel içeren kafeslere alınmış ve 6 saat süreyle bekletilmişlerdir. İndometazin uygulamasından 6 saat sonra sıçanlar feda edilmiş, mideleri çıkarılarak ülser lezyonları makroskopik yöntemle incelenmiş ve ülser skorları (mm) belirlenmiştir. (Şekil 3-1)

1.gün**Saat : 09: 00**BH₄ grubu → 20 mg/kg p.o. BH₄

Kontrol Grubu → Distile su p.o.

Saat : 15:00Kontrol ve BH₄ grubu → Altı Delikli Kafese**2. gün**

Şekil 3-1 : Sıçanlarda indometazinle oluşturulan gastrik ülser lezyonlarına BH₄'ün etkisinin incelendiği çalışmanın şeması.

3.4.3. BH₄'ün İndometazin ile Oluşturulan Gastrik Ülser Üzerine Etkisinde iNOS'un Rolünün İncelenmesi

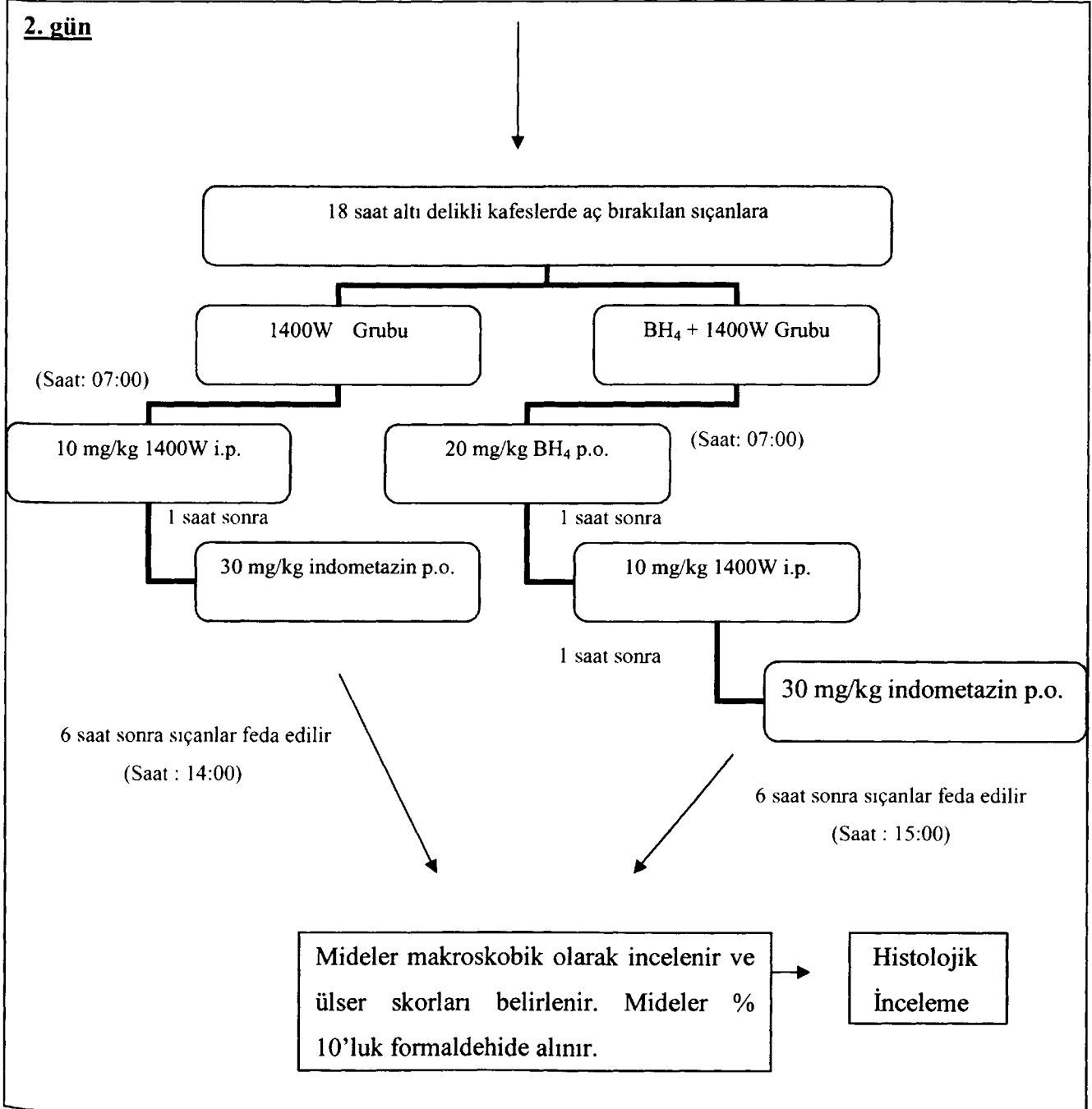
BH₄'ün indometazin ile oluşturulan gastrik ülser üzerindeki etkisinde iNOS'nin rolünü incelemek üzere sıçanlara iNOS'nin spesifik inhibitörü 1400W (10 mg/kg) uygulanmıştır. 1400W, sıçanlara indometazin uygulanmasından 1 saat önce intraperitoneal yoldan verilmiştir. İndometazin uygulanmasından sonra sıçanlar tekrar altı delikli tel içeren özel kafeslere alınmış, 6 saat süreyle bekletilmişlerdir. İndometazin uygulanmasından 6 saat sonra sıçanlar feda edilmiş, mideleri çıkarılarak ülser lezyonları makroskopik yöntemle incelenmiş ve ülser skorları (mm) belirlenmiştir. (Şekil 3-2)

1.gün**Saat: 09: 00**

1400W grubu → Distile su p.o.

BH₄ + 1400W Grubu → 20 mg/kg p.o. BH₄**Saat : 14:00**

1400W Grubu → Altı Delikli Kafese

Saat : 15:00BH₄ + 1400W Grubu → Altı Delikli Kafese**2. gün**

Şekil 3-2 : BH₄'ün indometazin ile oluşturulan gastrik ülser üzerine etkisinde iNOS'un rolünün incelendiği çalışmanın şeması.

3.4.4. BH₄'ün Gastrik Ülser Oluşumu Üzerine Direkt Etkisinin İncelenmesi

BH₄'ün direkt olarak ülserojenik bir etkisinin olup olmadığı da araştırılmıştır. Bu sıçanlara indometazin uygulaması yapılmamıştır. Paralel olarak çalışılan kontrol grubuna, BH₄'ün çözücüsü distile su verilmiştir. 18 saatlik açlık periyodunun ardından 1. ve 2. gün BH₄ (20 mg/kg) uygulanan sıçanlar, delikli tel içeren kafeslere alınarak 6 saat süreyle bekletilmişlerdir. Bu sürenin sonunda sıçanlar feda edilmiş ve mideleri çıkarılarak makroskopik ve mikroskopik olarak incelenmiştir.

3.4.5. Histolojik İnceleme Yöntemi

3.4.5.1. Mikroskopik İnceleme

Ülser skorları belirlenen mideler %10'luk formaldehit solüsyonu içerisine alınarak tespit edilmiştir. Dokular rutin takip işlemlerinden geçirildikten sonra parafin bloklara gömülmüştür. Mikrotom aracılığı ile 4-5 µm kalınlığında alınan kesitler hemotoksilen/eozin ile boyanmış ve preparatlar, ışık mikroskobu altında incelenmiştir. Hazırlanan kesitlerden 10x veya 20x mikroskopik büyütme yapılarak farklı gruplara ait mide örneklerinin histolojik yapılarını gösteren resimler çekilmiştir.

3.4.5.2. Nötrofil Lökosit Sayısının Belirlenmesi

Hazırlanan histolojik kesitlerde ışık mikroskobu altında 40x büyütmede 10 alan sayılmış ve ortalama bir alana düşen nötrofil lökosit sayısı belirlenmiştir.

3.4.6. İstatistiksel Analiz Yöntemi

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir. Deneylerdeki n sayısı her bir deney grubunda kullanılan sıçan sayısını göstermektedir.

Deney sonuçlarının istatistiksel olarak değerlendirilebilmeleri için her grubun ortalama ve standart hataları alınarak kontrol ve deney grupları arasında Student's unpaired (eşleştirilmemiş) t-testi, deney grupları arasında ise tek yönlü anova testi ve sonrasında Tukey-Kramer çoklu karşılaştırmalar testi ile önem kontrolü yapılmıştır. 0.05'ten küçük p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

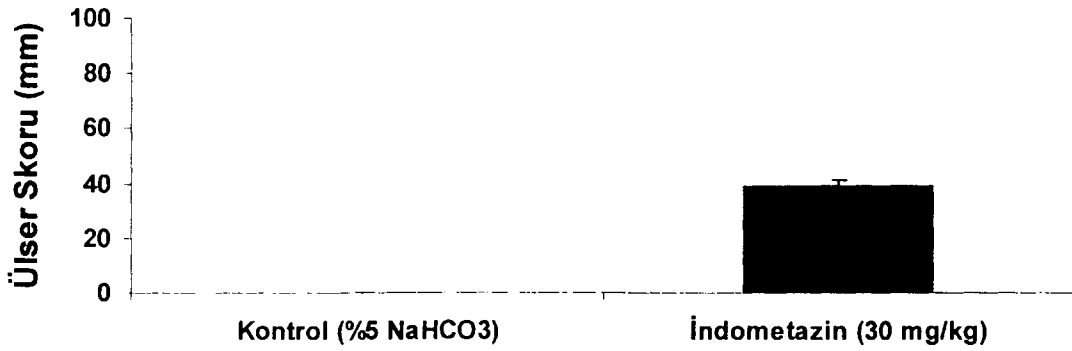
4. BULGULAR

4.1. İndometazinin Gastrik Ülser Oluşturucu Etkisi

Bir gün öncesinden aç bırakılan sıçanlara 30 mg/kg dozda uygulanan indometazinin gastrik mukozada ülser lezyonlarına neden olduğu gözlenmiştir. Buna karşın indometazinin çözücüsünün (% 5 NaHCO₃) uygulandığı sıçanların midelerinde herhangi bir ülser lezyonuna rastlanmamıştır. (Şekil 4-1, Tablo 4-1)

Tablo 4-1 : Sıçanlarda oral yoldan indometazin (30 mg/kg) veya çözücüsü (% 5 NaHCO₃)

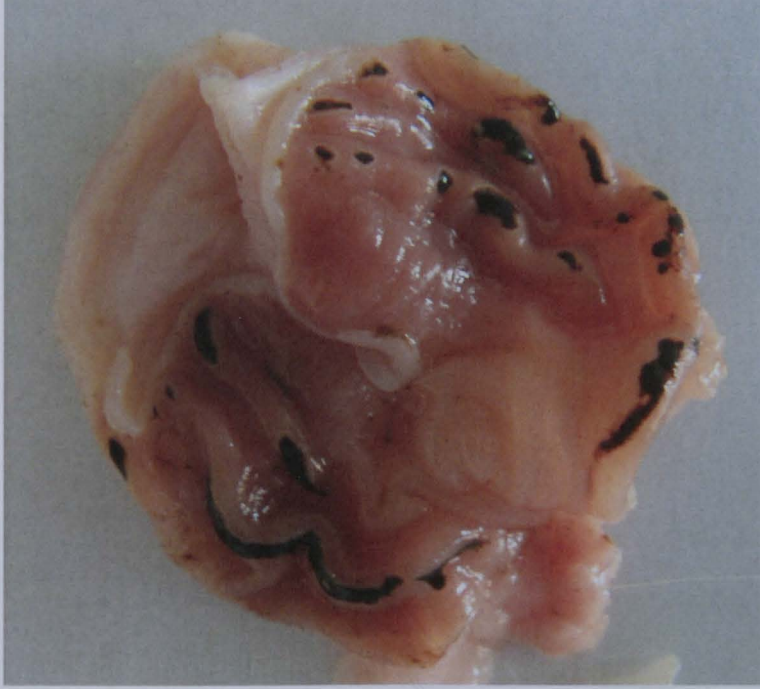
	Ülser Skoru (mm)	N
Kontrol (%5 NaHCO ₃)	0	6
İndometazin (30 mg/kg)	39 ± 2,12	18



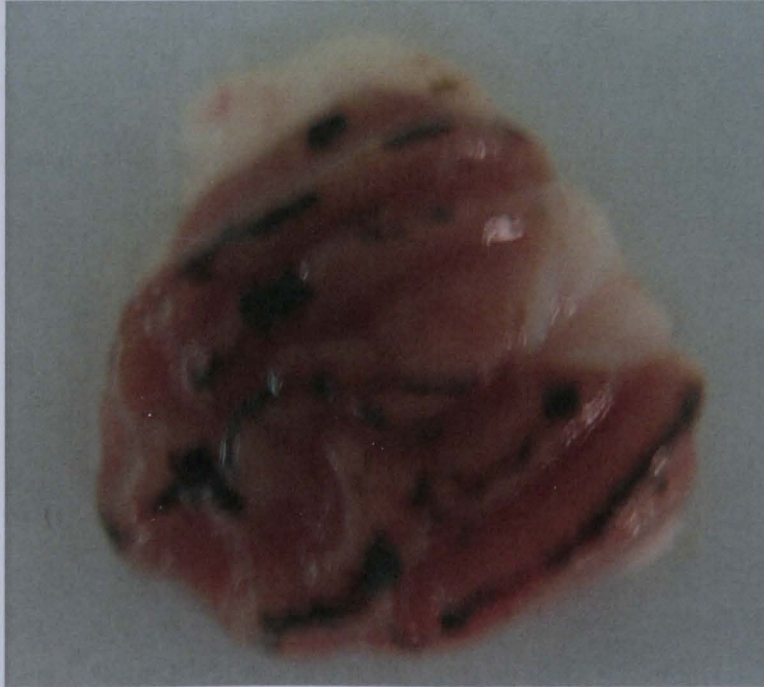
Şekil 4-1 : Sıçanlarda oral yoldan indometazin (30 mg/kg) veya çözücüsü (% 5 NaHCO₃) uygulanmasının gastrik mukoza üzerindeki ülseratif etkisi.

4.2. İndometazinle oluşturulan Gastrik Ülser Üzerinde BH₄'ün Etkisi

20 mg/kg dozda 2 gün süreyle uygulanan BH₄, sıçanlarda indometazin ile elde edilen gastrik ülser lezyonlarını şiddetlendirmiş ve ülser skorunda istatistiksel olarak anlamlı bir artışa sebep olmuştur. (Şekil 4-2, Şekil 4-3, Şekil 4-4, Tablo 4-2)



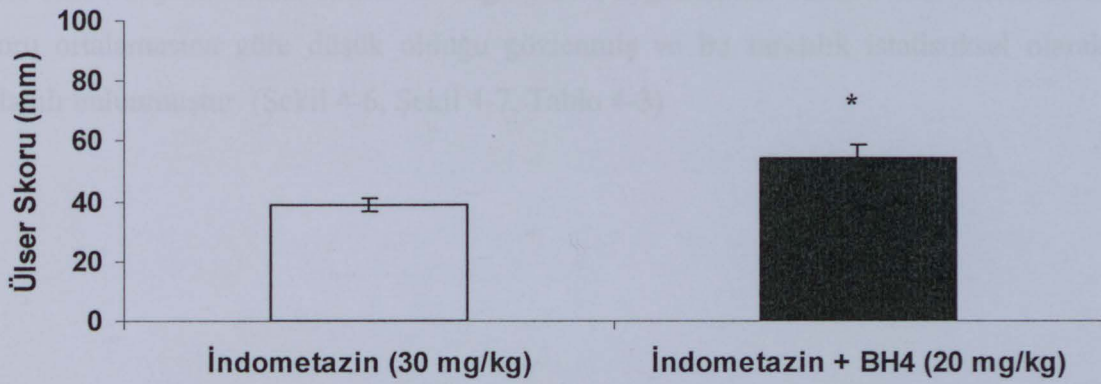
Şekil 4-2 : Sıçanlarda indometazinle oluşturulan gastrik ülser lezyonları
(İndometazin – Kontrol)



Şekil 4-3 : Sıçanlarda indometazinle oluşturulan gastrik ülser lezyonları üzerinde 20 mg/kg BH_4 'ün etkisi. (BH_4 + İndometazin)

Tablo 4-2 : Sıçanlarda (30 mg/kg) indometazinle oluşturulan gastrik ülser lezyonları üzerinde BH₄'ün (20 mg/kg) etkisi.

	Ülser Skoru (mm)	N
İndometazin	39 ± 2,12	18
İndometazin + BH ₄	54,59 ± 4,55 *	22



Şekil 4-4 : Sıçanlarda (30 mg/kg) indometazinle oluşturulan gastrik ülser lezyonları üzerinde BH₄'ün (20 mg/kg) etkisi.

* p = 0.0063 Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

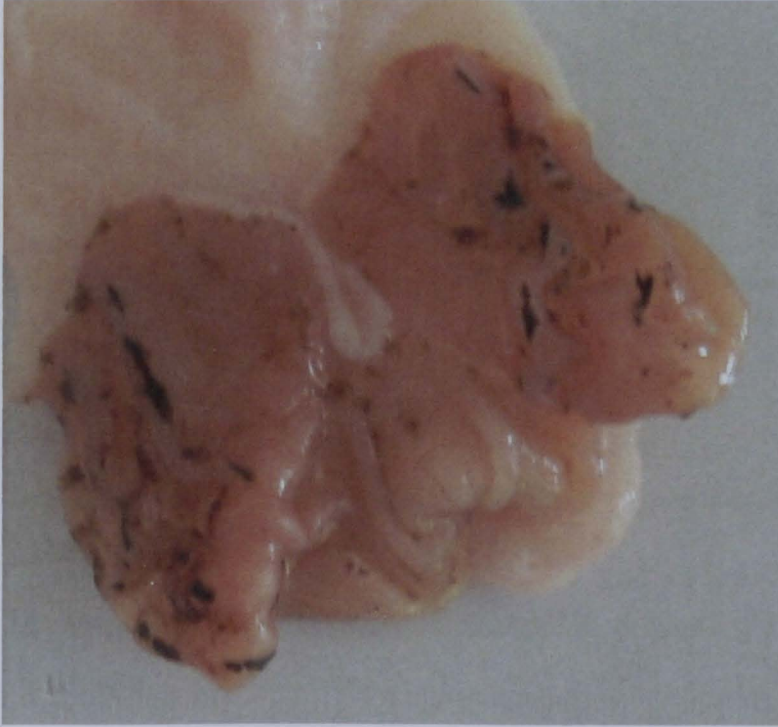
4.3. BH₄'ün İndometazin Ülseri Üzerindeki Etkisinde iNOS'nin Rolü

30 mg/kg dozda indometazin uygulanmasının sıçanlarda gastrik ülseri neden olduğu gözlenmiştir. İndometazin uygulanmasından 1 saat önce 10 mg/kg dozda 1400W uygulanması sonrasında elde edilen gastrik ülser lezyonlarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma olduğu bulunmuştur. (Şekil 4-5, Şekil 4-7, Tablo 4-3)

Öte yandan, 10 mg/kg 1400W + 20 mg/kg BH₄ uygulanması sonucu elde edilen ülser skoru ortalamasının, sadece 20 mg/kg BH₄ uygulanması sonucu elde edilen ülser skoru ortalamasına göre düşük olduğu gözlenmiş ve bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (Şekil 4-6, Şekil 4-7, Tablo 4-3)



Şekil 4-5 : Selektif iNOS inhibitörü 1400W'nun (10 mg/kg) indometazinle oluşturulan gastrik ülser lezyonları üzerindeki etkisi. (İndometazin + 1400W)

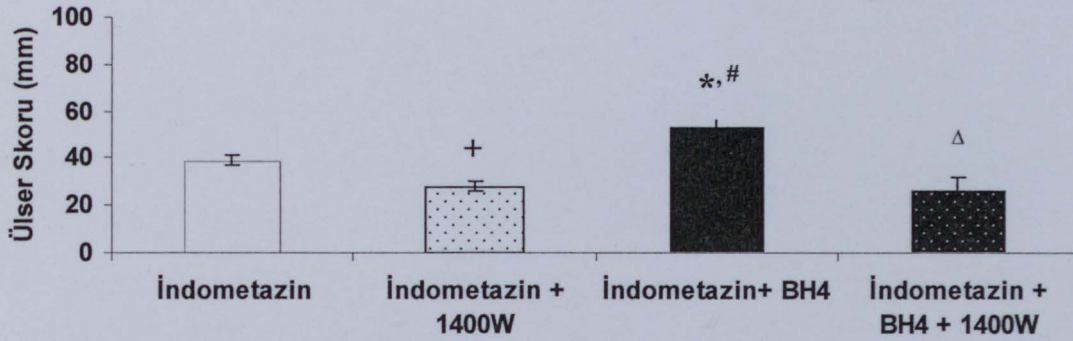


Şekil 4-6 : 1400W ile birlikte BH_4 'ün (BH_4 + 1400W) indometazinle oluşturulan gastrik ülser lezyonları üzerindeki etkisi.

Tablo 4-3 : Selektif iNOS inhibitörü 1400W (10 mg/kg)'nun indometazinle oluşturulan gastrik ülser lezyonları üzerindeki etkisi.

	Ülser Skoru (mm)	N
İndometazin	39 ± 2,12	18
İndometazin + 1400W	28,39 ± 2,09 +	18
İndometazin + BH ₄	54,59 ± 4,55 *	22
İndometazin + BH ₄ + 1400W	27,85 ± 2,30 #	13

Şekil 4-7 : Selektif iNOS inhibitörü 1400W (10 mg/kg)'nun indometazinle oluşturulan gastrik ülser lezyonları üzerindeki etkisi. (n: 13-22)



+ p<0,05 İndometazin + 1400W grubunun İndometazin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığını göstermektedir.

* p<0,01 İndometazin + BH₄ grubunun İndometazin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığını göstermektedir.

Δ p<0,001 İndometazin +BH₄ + 1400W grubunun İndometazin + BH₄ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığını göstermektedir.

p<0,001 İndometazin + BH₄ grubunun İndometazin + 1400W grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığını göstermektedir.

4.4. BH₄'ün Gastrik Mukoza Üzerindeki Direkt Etkisi

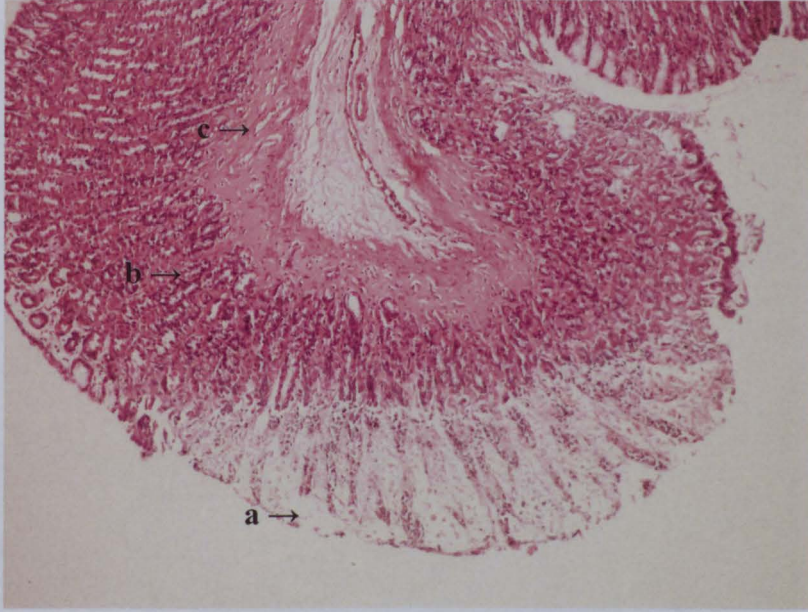
BH₄'ün gastrik mukoza direkt etkisini belirlemek amacıyla 20 mg/kg dozda uygulandığı sıçanlardan izole edilen midelerde yapılan makroskopik incelemede herhangi bir ülser lezyonuna rastlanmamıştır. (Ülser Skoru: BH₄ = 0, n = 8, Ülser Skoru: indometazin + BH₄ = 54,59 ± 4,55, n = 22)

4.5. Histolojik İnceleme Sonuçları

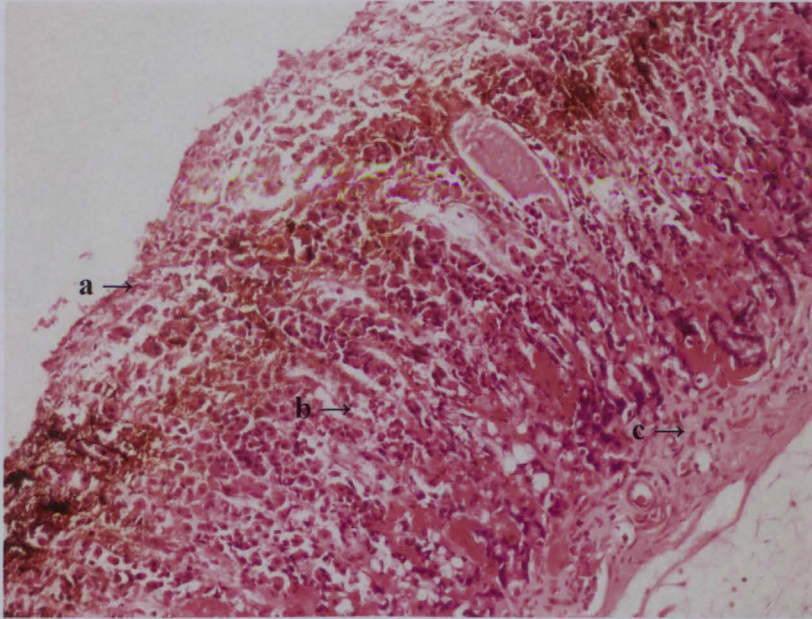
Yapılan histolojik incelemelerde indometazin (30 mg/kg) uygulanan sıçanlardan alınan mide kesitlerinde yoğunluklu olarak mukozayı aşır submukozaya doğru ilerleyen, çok geniş olmayan hemorajik ve nekrotik ülser odakları olduğu tespit edilmiştir. İndometazinden önce BH₄ uygulanan sıçanlardan alınan mide kesitlerinde ise hem mukozayı aşır submukozaya doğru ilerleyen, çok geniş olmayan hemorajik ve nekrotik ülser odakları hem de midenin tüm mukoza katını kaplayan, geniş yerleşimli fokal, hemorajik ve nekrotik ülser alanları da olduğu tespit edilmiştir. Öte yandan, indometazin öncesinde 1400W'nun veya 20 mg/kg BH₄ + 10 mg/kg 1400W'nun uygulandığı sıçanlardan izole edilen midelerde 'mukozada yüzeysel yerleşimli ve sınırlı ülser odakları' olduğu belirlenmiştir. (Şekil 4-8, Şekil 4-9, Şekil 4-10, Şekil 4-11, Tablo 4-4)

BH₄ uygulanan sıçanlardan izole edilen mide kesitlerinde saptanan nötrofil lökosit miktarının, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu gözlenmiştir. Öte yandan, 1400W varlığında BH₄ uygulanan sıçanların midelerinden alınan kesitlerde belirlenen nötrofil lökosit miktarı 1400W grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. (Tablo 4-5)

A. Kontrol (İndometazin).



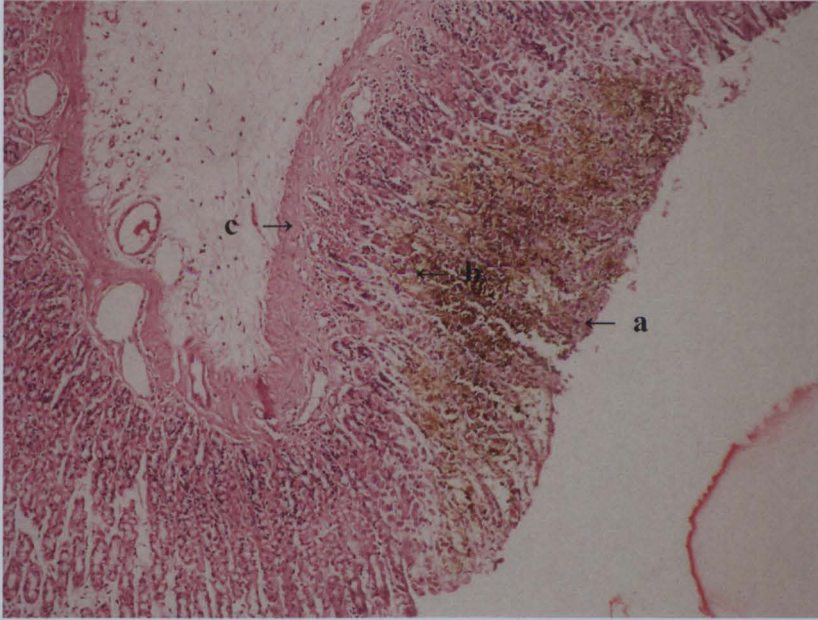
B. Kontrol (İndometazin).



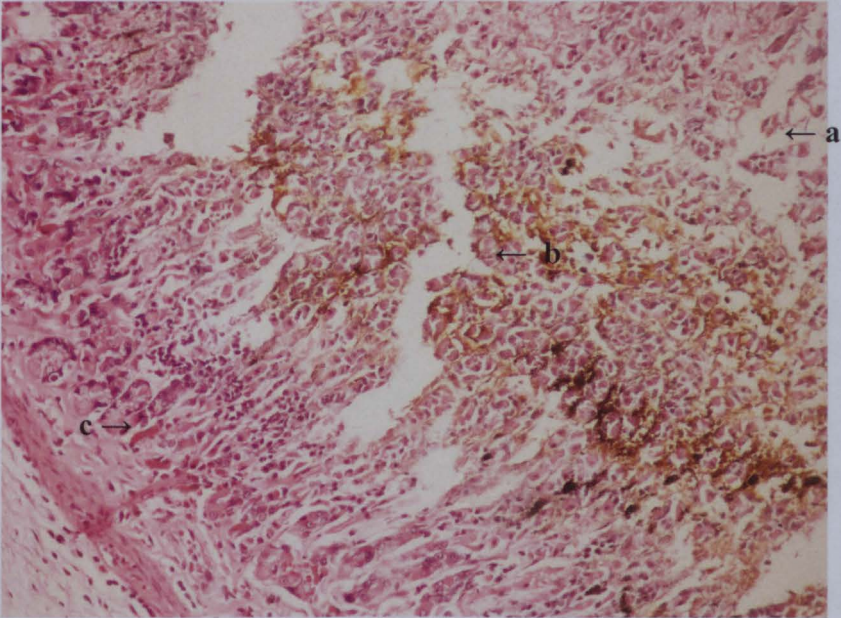
Şekil 4-8 : Sıçanlarda indometazin (30 mg/kg) uygulanması sonunda midelerin histolojik görünümü. (n= 8). (Mikroskopik Büyütme A: 10x, B: 20x)

- a. Mukoza tabakası
- b. Submukoza tabakası
- c. Kas tabakası

A. İndometazin + BH₄.



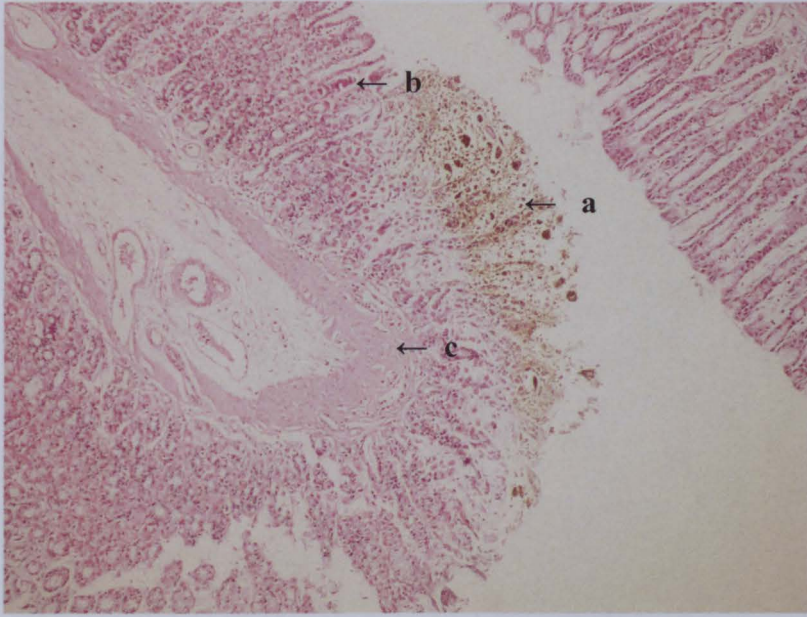
B. İndometazin + BH₄.



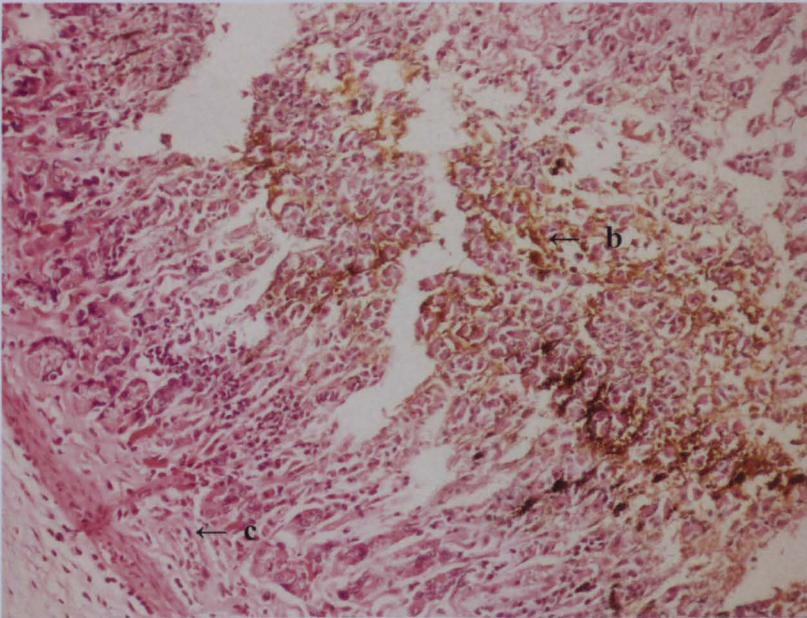
Şekil 4-9 : Sıçanlarda indometazinle (30 mg/kg) oluşturulan gastrik ülser üzerinde BH₄'ün uygulanması sonunda midelerin histolojik görünümü. (n= 8). (Mikroskopik Büyütme A: 10x, B: 20x)

- a. Mukoza tabakası
- b. Submukoza tabakası
- c. Kas tabakası

A. İndometazin + 1400W.



B. İndometazin + 1400W.



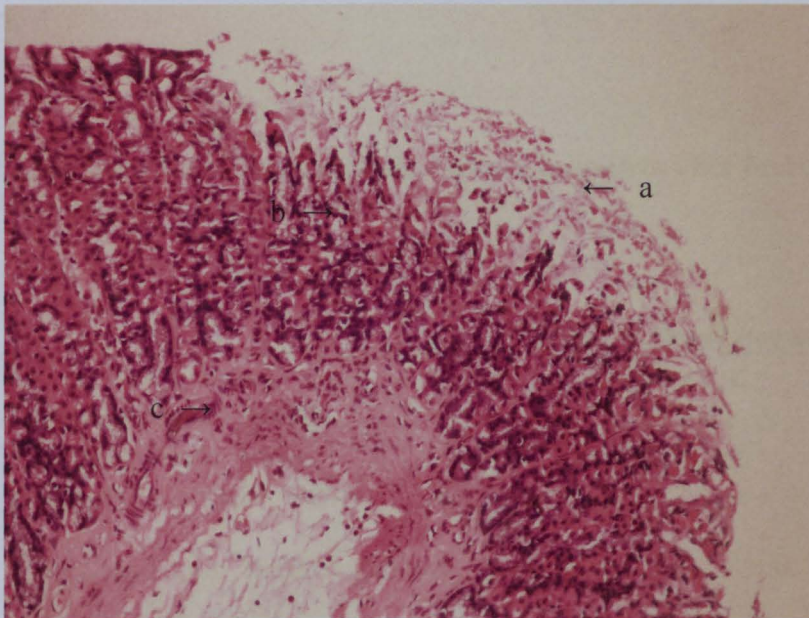
Şekil 4-10 : Sıçanlarda indometazinle (30 mg/kg) oluşturulan gastrik ülser üzerinde 1400W'nun (A ve B) uygulanması sonunda midelerin histolojik görünümü. (n= 8). (Mikroskopik Büyütme A: 10x, B: 20x)

- a. Mukoza tabakası
- b. Submukoza tabakası
- c. Kas tabakası

A. İndometazin + BH_4 + 1400W.



B. İndometazin + BH_4 + 1400W.



Şekil 4-11 : Sıçanlarda indometazinle (30 mg/kg) oluşturulan gastrik ülser üzerinde BH_4 + 1400W uygulanması sonunda midelerin histolojik görünümü. (n= 8).
(Mikroskopik Büyütme A: 10x, B: 20x)

- a. Mukoza tabakası
- b. Submukoza tabakası
- c. Kas tabakası

Tablo 4-4 : BH₄'ün sıçanlarda indometazin ile oluşturulan gastrik ülser üzerine etkisinin histolojik değerlendirilmesine göre belirlenen ülser oranları.

	Ülser Oranı (%)		
	1	2	3
İndometazin	38,33 ± 3,97	53,12 ± 5,18	8,54 ± 3,98
İndometazin + 1400W	52,29 ± 6,28	42,5 ± 5,1	5,21 ± 3,50
İndometazin + BH₄	24,79 ± 3,63	40,49 ± 5,05	41,35 ± 6,35
İndometazin + BH₄ + 1400W	36,88 ± 9,22	29,38 ± 5,44	21,25 ± 9,94

+1: Mukozada yüzeysel yerleşimli ve sınırlı ülser odakları.

+2: Mukozayı aşır submukozaya doğru ilerleyen, çok geniş olmayan hemorajik ve nekrotik ülser odakları.

+3: Midenin tüm mukoza katını kaplayan, geniş yerleşimli fokal hemorajik ve nekrotik ülser alanları.

Tablo 4-5 : BH₄'ün sıçanlarda indometazin ile oluşturulan gastrik ülser üzerine etkisine ilişkin inflamatuvar hücre değerleri.

	Nötrofil Lökosit Sayısı*
İndometazin	42,29 ± 4,92
İndometazin + 1400W	30,57 ± 4,9 Δ
İndometazin + BH₄	61,38 ± 2,66 *
İndometazin + BH₄ + 1400W	46,43 ± 5,64 +

* p< 0.01 BH₄ grubunun kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığını göstermektedir.

+ p<0.05 BH₄ + 1400W grubunun BH₄ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığını göstermektedir.

Δ p< 0,001 1400W grubunun BH₄ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığını göstermektedir.

Nötrofil lökosit sayısı, 10 farklı alan sayıldıktan sonra ortalama bir alana düşen nötrofil lökosit miktarı şeklinde hesaplanmıştır.

5. TARTIŞMA

Non-steroidal anti-inflamatuar ilaçlar (NSAİİ) analjezik, antipiretik, antiinflamatuar etkilerinden dolayı romatoid artrit ve osteoartrit gibi inflamatuvar hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Ancak bu ilaçların kronik olarak kullanımı sırasında gastrointestinal sistem üzerinde dispeptik semptomlar, kanama ya da ülser gibi yan etkiler oluşabilmektedir (Lazzaroni ve ark. 2004; Whittle 2003). NSAİİ'ye bağlı ülser oluşumunun mekanizması tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte bu olumsuz etkilere gastrik motilitede artışın, inflamatuvar faktörlerin ve serbest radikallerin fazlaca artışı, nötrofil lökosit infiltrasyonunun, lipid peroksidasyonunun, yararlı prostaglandinlerin sentezinin azalmasının ve indüklenabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) düzeylerindeki artışın aracılık ettiği öne sürülmektedir (Brzozowski ve ark. 2008; Laine ve ark. 2008; Wallace 2008). Gastrik mukozanın bütünlüğünün korunması vazokonstriktör ve vazodilatör maddeler arasındaki dengeyle ilişkilidir. Endotelyal vazodilatörler olan prostasiklin, prostaglandin E₂ ve nitrik oksit (NO), gastrik mukozada yeterli kan akımının oluşumunu sağlarken, endotelin-1 ve tromboksan A₂ mukozal kan akımını kısıtlayarak gastrik mukozal hasarı kötüleştiren vazokonstriktörlerdir (Wallace 2008). Deneysel ülser modellerinde, NSAİİ'nin ülserasyon bölgesinde gastrik mukozal kan akımını azalttığı gösterilmiştir (Ashley ve ark. 1985; Sato ve ark. 2009). Birçok farklı çalışmada da NSAİİ'ye bağlı gelişen gastrointestinal hasarlarda oksidatif stresin arttığı gösterilmiştir (Jimenez ve ark. 2004; Naito ve Yoshikawa 2006; Wallace 2008). Bu nedenle, vazodilatör, antioksidan ya da antiinflamatuar özellikteki maddelerin veya ilaçların NSAİİ'lerin gastrointestinal sistem üzerindeki ülseratif yan etkilerinin azaltılmasında etkili olabilecekleri öngörülmektedir.

BH₄'ün NOS aktivitesinin düzenlenmesindeki rolü yaklaşık 20 yıldır bilinmektedir. Artık günümüzde ise BH₄, NOS enziminin her 3 izoformunun da (eNOS, iNOS ve nNOS) esansiyel kofaktörü olarak kabul edilmektedir. 1990'lerden başlayarak biyokimyasal çalışmalar BH₄ yetersizliğinde NOS enziminin NO yerine süperoksit iyonları ürettiğini göstermiş ve bu durumda NOS'nin kenetsizlenmesi reaksiyonu olarak tanımlanmıştır. Endotel disfonksiyonun patogeneğinde eNOS kenetsizlenmesi

reaksiyonun çok önemli bir yer tuttuğu farklı çalışmalarda ortaya konmuştur (Katusic ve ark. 2009).

BH₄ miktarlarının yetersizliğinin BH₄'ün oksidatif stresle özellikle de ONOO⁻ ile oksitlenmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. BH₄'ün oksidatif stresle kimyasal inaktivasyonu eNOS kenetsizlenmesine neden olur ve böylece hem NO'nun azalması hem de oksidatif stresin artması sonucunda endotel disfonksiyonunun oluşumunu tetiklediği öne sürülmektedir (Moens ve Kass 2006). Son yıllarda, BH₄'ün dolaylı olarak eNOS kenetsizlenmesini önlemek yoluyla oksidatif stresi azaltması dışında kendisinin de bağımsız antioksidan özelliği olduğu öne sürülmektedir (Thöny ve ark. 2000).

Son 10 yıl içerisinde, kardiyovasküler hastalıklarda görülen endotel disfonksiyonu üzerine dışarıdan BH₄ suplemantasyonunun (takviyesi) etkilerini inceleyen çeşitli klinik çalışmalar yapılmıştır. İlk çalışmalar az sayıda hasta üzerinde yürütülerek akut veya kısa süreli BH₄ takviyesi yapılmıştır. Buna rağmen, sonuçlar BH₄ takviyesinin hiperkolesterolemi, diyabet, hipertansiyon, koroner arter hastalığı ve kalp yetmezliği hastalıklarda görülen endotel disfonksiyonunu geri döndürebildiğini göstermiştir. BH₄'ün yararlı etkilerinin endotel bağımlı olduğu bildirilerek eNOS aktivasyonunda ve oksidatif stresi azaltmasından kaynaklandığı ortaya konmuştur (Katusic ve ark. 2009). Daha sonraki araştırmalarda ise hiperkolesterolemik ve hipertansif hastalarda oral BH₄'ün uzun süreli etkileri çalışılmıştır. Örneğin bir çalışmada, 22 hiperkolesterolemik hastaya 4 hafta süreyle oral BH₄ veya plasebo uygulanmıştır. Hiperkolesterolemik hastalarda BH₄'ün endotel-bağımlı gevşeme yanıtlarını artırdığı ve oksidatif stresin önemli bir göstergesi olan izoprostan seviyelerini düşürdüğü bildirilmiştir (Cosentino ve ark. 2008). Diğer bir çalışmada ise, 8 hafta süreyle oral BH₄ (5 veya 10 mg/kg) uygulanan hipertansif hastalarda kan basıncının düştüğü ve endotel disfonksiyonunun da azaldığı bildirilmiştir (Porkert ve ark. 2008).

BH₄ NOS'nin yanı sıra fenilalanin hidroksilaz enziminin de kofaktörüdür. Bu nedenle, FDA tarafından fenilketonüri hastalarında BH₄'ün 6R-izomerinin sentetik bir

formülasyonu olan Sapropterin'in kullanımının onaylaması BH₄'ün vasküler etkilerinden bağımsız olarak kullanılmasını ön plana çıkarmıştır (Michals-Matalon 2008; Sanford ve Keating 2009; Hegge ve ark. 2009).

BH₄'ün gastrointestinal sistem üzerine olan etkileri ise tam olarak bilinmemektedir. Sıçanlarda gastrik iskemi/reperfüzyon hasarı oluşturulan bir çalışmada iskemi/reperfüzyondan hemen önce BH₄ uygulanan sıçanlarda gastrik hasarın azaldığı gözlenmiştir (Ishii ve ark. 2000). Fenilketonüri tedavisinde kullanılan sapropterinin ise gastrointestinal yan etkileri arasında abdominal ağrı ve diyare yer almaktadır (Sanford ve Keating 2009). Bu nedenle çalışmamızda, son dönemlerde gerek vasküler etkileri gerekse de fenilketonüri tedavisinde kullanımı ile gündeme gelen BH₄'ün sıçanlarda indometazinle ile oluşturulan deneysel gastrik ülser modeli üzerindeki etkilerinin araştırılması hedeflenmiştir.

Bulgularımız, BH₄'ün 20mg/kg dozunun 2 gün süreyle uygulanmasının sıçanlarda indometazinle oluşturulan gastrik ülser lezyonlarını şiddetlendirici bir etkisinin olduğunu ve ülser skorunu istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığını göstermiştir. Öte yandan, indometazin öncesinde BH₄ uygulanan sıçanlardan izole edilen mide örneklerinde yapılan histolojik incelemelerde makroskopik sonuçlar ile uyumlu bulgular elde edilmiştir. Buna göre, indometazinin sıçanların midelerinde oluşturduğu ülser lezyonlarının “submukozaya doğru ilerlemiş” olduğu gözlenmiştir. Buna karşın, BH₄'ün uygulandığı sıçanların midelerindeki ülserin şiddetlendiği ve “midenin tüm mukoza katını kaplayan, geniş yerleşimli fokal hemorajik ve nekrotik ülser alanları” olduğu belirlenmiştir.

Çalışmamızda BH₄'ün mide üzerinde direkt bir etkisinin olup olmadığı da araştırılmıştır. Ancak BH₄'ün 20mg/kg dozunda 2 gün süreyle uygulandığı sıçanlardan izole edilen midelerde herhangi bir ülser lezyonuna rastlanmamıştır. Benzer şekilde BH₄ uygulanan sıçanların midesinde yapılan histopatolojik incelemelerde de mukozal hasara rastlanmamıştır. Bu bulgular, BH₄'ün gastrik mukozada direkt olarak ülser oluşturucu

etkisinin olmadığını ancak klinikte de kullanılabilen dozunda (20mg/kg) indometazin ile oluşan ülser lezyonlarını şiddetlendirici bir etkisinin olabileceğini göstermektedir.

Deneysel çalışmalar iNOS'nin gastrik ülser patogenezinde rolünün olabileceğini ortaya koymuştur. iNOS aracılığıyla fazla miktarlarda oluşan NO'nun serbest radikaller varlığında ONOO⁻ oluşumuna sebep olduğu ve mukozal hücreler üzerinde sitotoksik etki yaptıkları düşünülmektedir (Sakaguchi ve ark. 1999; Katusic ve ark. 2009; Guha ve ark. 2010). Vasküler düz kas hücrelerinde yapılan bir çalışmada BH₄'ün iNOS mRNA'larını stabilize ettiği böylece vasküler sistemde BH₄'ün iNOS ekspresyonunu modüle edebildiği bildirilmiştir (Linsheid ve ark. 1998). Çalışmamızda öncelikle 1400W'nun sıçanlarda indometazinle oluşturulan gastrik ülser skorunu istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığının belirlenmesi indometazinle oluşan gastrik ülser patogenezinin iNOS'nin katılımını göstererek benzer yöndeki çalışmaları desteklemektedir (Sibilia ve ark. 2004; Guo ve ark. 2006). Öte yandan, bu veriler doğrultusunda, çalışmamızda BH₄'ün indometazinle oluşturulan gastrik ülseri şiddetlendirici etkisinde iNOS aktivitesindeki artışın rolü olabileceği düşünülmüş ve bir grup sıçanda selektif iNOS inhibitörü olan 1400W (10 mg/kg) varlığında BH₄'ün etkisi incelenmiştir. 1400W ile birlikte BH₄ uygulanan sıçanlarda indometazinle oluşturulan gastrik ülser skoru ortalamasının, sadece BH₄ uygulanan hayvanlarda elde edilen ülser skoru ortalamasına göre oldukça düşük olduğu gözlenmiş ve bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Benzer bir şekilde, 1400W tarafından iNOS aktivitesinin inhibisyonu sonucu sıçanlardan izole edilen mide örneklerinde yapılan histolojik incelemelerde makroskobik sonuçlar ile uyumlu bulgular elde edilmiştir. Bu bulgular, BH₄'ün (20mg/kg) indometazinle oluşturulan mide ülserini şiddetlendirici etkisine iNOS'nin aracılık edebileceğini göstermektedir.

Dışarıdan BH₄ takviyesinin tüm NOS izoformlarının aktivitesini artırarak NO sentezini artırdığı bilinmektedir. Genel olarak çalışmalarda, BH₄ ve eNOS arasındaki ilişki üzerine odaklanılmıştır. Ancak iNOS'nin eksprese olduğu durumlarda dışarıdan BH₄ uygulanmasının nasıl bir etkisi olacağı ise henüz bir tartışma konusudur. iNOS'nin aktivasyonunun çok yüksek miktarlarda NO oluşumuna sebep olması ve özellikle oksidatif stresin eşlik ettiği birçok patolojide bu yüksek miktardaki NO'nun oksidatif

stresin artışı indükleyerek zararlı etkiler oluşturabilmesi BH_4 ve iNOS arasındaki bağıntının daha detaylı incelenmesine gereksinim oluşturmaktadır.

İndometazinle oluşturulan ülserin mekanizmasında nötrofil infiltrasyonunun önemli rolü olduğu bilinmektedir. Nötrofiller inflamatuvar proses sırasında gastrik damar endoteline adere olmakta ve damar yolunu daraltarak mukozanın hasara karşı kendini koruması için gerekli kan akımını engellemektedirler. Bunun yanı sıra nötrofillerin serbest radikallerin oluşumu ile proinflamatuvar sitokinler gibi birçok farklı inflamatuvar faktörlerin gastrik mukozaya göçünü sağladığı bilinmektedir. Bunun sonucunda mukozal hücrelerde lipid peroksidasyonu gerçekleşmekte ve mukozal bütünlük bozulmaktadır (Naito ve Yoshikawa 2006). Çalışmamızda iNOS'nin ve BH_4 'ün indometazinle oluşturulan gastrik ülser lezyonlarını artırıcı etkisinde, nötrofillerin rolünü ortaya koymak üzere izole edilen midelerde histolojik yöntemle nötrofil lökosit sayımı yapılmıştır. BH_4 varlığında nötrofil lökosit sayısının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı belirlenmiştir. Öte yandan, 1400W varlığında BH_4 uygulanan sıçanlarda ise nötrofil lökosit sayısında sadece 1400W uygulanan gruba göre anlamlı bir azalma meydana gelmemiştir. Bu bulgular, BH_4 'ün iNOS aktivasyonu sonucu indometazinle oluşturulan gastrik lezyonları artırıcı etkisinde mukozaya nötrofil infiltrasyonundaki artışın etkisinin olabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak, sıçanlarda yürütülen bu deneysel çalışmada elde ettiğimiz bulgularımız BH_4 'ün direkt olarak ülserojen bir etkisinin olmadığını, buna karşın bir NSAİİ olan indometazin ile oluşturulan gastrik ülseri 20 mg/kg dozunda oral olarak uygulandığında şiddetlendirebileceğini ortaya koymaktadır. BH_4 sentetik bir izoformu olan sapropterin fenilketonuri tedavisinde onaylanmış başlangıç dozu günde 10mg/kg olarak belirlenmiş ve bu günlük dozun 5 ila 20 mg/kg arasında olabileceği bildirilmiştir. Ancak 20 mg/kg'dan daha yüksek dozları klinik araştırmalarda kullanılmamıştır (Hegge ve ark. 2009). Öte yandan, BH_4 'ün vasküler etkilerinin incelendiği gerek klinik (Fiege ve ark. 2003; Eskurza ve ark. 2005; Katusic ve ark. 2009) gerekse de deney hayvanları üzerinde yürütülen çalışmalarda (Channon 2004; Moens ve Kass 2006; Schmidt ve Alp 2007) genellikle günlük 2 ila 25 mg/kg arasında BH_4 dozlarının kullanılması çalışmamızla benzerlik göstermektedir. Ayrıca, BH_4 'ün oral uygulamasının insanlar

üzerindeki farmakolojik etkilerinin incelendiği bir çalışmada 20mg/kg dozunda herhangi bir advers etki bildirilmemesi de çalışmamızda kullandığımız BH₄ dozunun uygunluğunu desteklemektedir (Fiege ve ark. 2004). Diğer taraftan, selektif iNOS inhibitörü 1400W varlığında elde ettiğimiz bulgular ile gastrik mukozada belirlenen nötrofil lökosit sayıları dikkate alındığında BH₄'ün 20mg/kg dozunda gözlemlediğimiz ülseri şiddetlendirici etkisine iNOS aktivitesindeki artışın ve bununla da ilişkili olabilecek nötrofil infiltrasyonundaki yükselmenin aracılık edebileceği ileri sürülmektedir.

NOS enziminin kofaktörü olan BH₄'ün gerek NO sentezini artırması gerekse de eNOS kenetsizlenmesini önleyerek oksidatif stresi azaltması sonucu endotel disfonksiyonunu geri döndürebilmesi, son yıllarda birçok kardiyovasküler hastalıkta klinik kullanımını gündeme getirmiştir (Channon 2004). En önemlisi de FDA tarafından fenilketonüri hastalığında BH₄'ün sentetik formunun kullanımının onaylanması BH₄'ün henüz tam olarak da belirlenmemiş yan etkilerinin ve kontrendikasyonlarının araştırılmasını gerektirmektedir (Michals-Matalon 2008). Çalışmamızda elde edilen bulgunun BH₄'ün klinikte özellikle NSAİİ ile birlikte kullanımı açısından dikkat çekici olacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- Akar F., Uydeş Doğan B.S., Buharalıoğlu C.K., Abban G., Heinemann A., Holzer P. ve ark. (1999). Protective effect of cromakalim and diazoxide, and proulcerogenic effect of glibenclamide on indomethacin-induced gastric injury, *European Journal of Pharmacology*. **374**, 461–470.
- Allen A. ve Flemström G. (2005). Gastroduodenal mucus bicarbonate barrier: protection against acid and pepsin, *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. **288**, C1–C19.
- Alp N.J. ve Channon K.M. (2004). Regulation of endothelial nitric oxide synthase by tetrahydrobiopterin in vascular disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*. **24**, 413-420.
- Amagase K., Yokota M., Tsukimi Y. ve Okabe S. (2003). Characterization of ‘unhealed gastric ulcers’ produced with chronic exposure of acetic acid ulcers to indomethacin in rats. *Journal of Physiology and pharmacology*. **54(3)**, 349-360.
- Appleyard C.B., Mccafferty D.M., Tigley A.W., Swain M.G. ve Wallace J.L. (1996). Tumor necrosis factor mediation of NSAID-induced gastric damage: role of leukocyte adherence. *American Journal of Physiology- Gastrointestinal and Liver Physiology*. **270(1)**, G42-8.
- Arakawa T., Higuchi K., Fukuda T., Fujiwara Y., Kobayashi K. ve Kuroki T. (1998). Prostaglandins in the stomach: An update. *Journal of Clinical Gastroenterology*. **27(1)**, 1-11.
- Ashley S.W., Sonnenchein L.A. ve Cheung L.Y. (1985). Focal gastric mucosal blood flow at the site of aspirin-induced ulceration. *American Journal of Surgery*. **149(1)**, 53-9.
- Beckman J.S. ve Koppenol W.H. (1996). Nitric oxide, superoxide and peroxynitrite: the good, the bad and the ugly. *American Journal of Physiology*. **271**, 1424-37.
- Bilici M., Öztürk C., Dursun H., Albayrak F., Sağlam M.B., Uyanık A. ve ark. (2009). Protective effect of mirtazapine on indomethacin-induced ulcer in rats and its relationship with oxidant and antioxidant parameters. *Digestive Disease and Sciences*. **54**, 1868–1875.

- Brzozowski T., Konturek P.C., Pajdo R., Ptak-Belowska A., Kwiecien S., Pawlik M. ve ark. (2008). Physiological mediators in nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs)-induced impairment of gastric mucosal defense and adaptation. Focus on nitric oxide and lipoxins. *Journal of Physiology and Pharmacology*. **59**, 89-102.
- Brzozowski T., Konturek P.C., Konturek S.J., Brzozowska I. ve Pawlik T. (2005). Role of prostaglandins in gastroprotection and gastric adaptation, *Journal of Physiology and Pharmacology*. **56**, 33-55.
- Brzozowski T., Konturek P.C., Konturek S.J., Sliwowski Z., Drozdowicz D., Stachura J. ve ark. (1999). Hahn Role of prostaglandins generated by cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in healing of ischemia-reperfusion-induced gastric lesions, *European Journal of Pharmacology*. **385**, 47-61.
- Channon K.M. (2004). Tetrahydrobiopterin: Regulator of endothelial nitric oxide syntase in vascular disease. *Trends in Cardiovascular Medicine*. **14**, 323-327.
- Chisholms-Burns M.A., Wells B.G., Schwinghammer T.L., Malone P.M., Kolesar J.M., Rotschafer J.C. ve ark. (2007). Pharmacotherapy - Principles & Practice. New York. McGraw Hill Şirketleri.
- Cirino G., Cicala C., Mancuso F., Baydoun A.R. ve Wallace J.L. (1995). Flurbinitroxybutylester: a novel anti-inflammatory drug has enhanced antithrombotic activity. *Trombosis Research*. **79(1)**, 73-81.
- Cosentino F., Hürlimann D., Delli Gatti C., Chenevard R., Blau N., Alp N.J. ve ark. (2008). Chronic treatment with tetrahydrobiopterin reverses endothelial dysfunction and oxidative stress in hypercholesterolaemia. *Heart*. **94(4)**, 487-92.
- Cuzzolin L., Conforti A., Adami A., Lussignoli S., Menestrina F., Del Soldatos P. ve ark. (1995). Anti-Inflammatory potency and gastrointestinal toxicity of a new compound, nitronaproxen. *Pharmacological Research*. **31(1)**, 61-5.
- Davies N.M., Réseth A.G., Appleyard C.B., Mcknight W., Del Soldato P., Calignano A. ve ark. (1997). NO-naproxen vs. naproxen: ulcerogenic, analgesic and anti-inflammatory effects. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. **11(1)**, 69-79.
- Demir S., Yılmaz M., Köseoğlu M., Akalın N., Aslan D. ve Aydın A. (2003). Role of free radicals in peptic ulcer and gastritis. *Turkish Journal of Gastroenterology*. **14(1)**, 39-43.
- Dinarello C.A. (1996). Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood*. **87(6)**, 2095-147.

- Ding S.E., Lam S.K., Yuen S.T., Wong B.C.Y., Hui W.M., Ho J. ve ark. (1998). Prostaglandin, tumor necrosis factor and neutrophils: causative relationship in indomethacin-induced stomach injuries. *European Journal of Pharmacology*. **348(2-3)**, 257–263.
- Eberhart C.E. ve Dubois R.N. (1995). Eicosonoids and the gastrointestinal tract. *Gastroenterology*. **109**, 285-301.
- Eissner G., Kolch W., Mischak H., Bornkamm G.W. ve Holler E. (1994). Differential Role of Protein Kinase C in Cytokine Induced Lymphocyte-Endothelium Interaction In Vitro, *Scandinavian Journal of Immunology*. **40**, 395-402.
- El Kebir D., József L., Pan W. ve Filep J.G. (2008). Myeloperoxidase delays neutrophil apoptosis through cd11b/cd18 integrins and prolongs inflammation. *Circulation Research*. **103**, 352-359.
- Fiege B., Ballhausen D., Kierat L., Leimbacher W., Goriounov D., Schircks B. ve ark. (2004). Plasma tetrahydrobiopterin and its pharmacokinetic following oral administration. *Molecular Genetics and Metabolism*. **81(1)**, 45-51.
- Fiorucci S. (2009). Prevention of non-steroidal anti-inflammatory drug - induced ulcer : looking to the future. *Gastroenterology Clinics of North America*. **38**, 315–332.
- Fiorucci S., Antonelli E. ve Morelli A. (2001). Mechanism of non-steroidal anti-inflammatory drug-gastropathy. *Digestive and Liver Disease*. **2**, S35-43.
- Fiorucci S., Antonelli E., Santucci L., Morelli O., Miglietti M., Federici B. ve ark. (1999). Gastrointestinal safety of nitric oxide-derived aspirin is related to inhibition of ice-like cysteine proteases in rats, *Gastroenterology*. **116 (5)**, 1089-106.
- Flemström G. ve Isenberg J.I. (2001). Gastroduodenal mucosa alkaline secretion and mucosal protection, *News in Physiological Sciences*. **16**, 23-28.
- Food and Drug Administration (FDA) (2007, Aralık). KUVAN (Sapropterin dihydrochloride) Tablets. Erişim 04.11.2009, www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2007/022181lbl.pdf.
- Förstermann U. ve Münzel T. (2006). Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease: from marvel to menace. *Circulation*. **113**, 1708-1714.
- Fried J.F., Williams C.A., Bloch K.A. ve Michel B.A. (1991). Non-steroidal antiinflammatory drug associated gastropathy; Incidence and risk factor models. *American Journal of Medicine*. **91**, 213-222.

- Gangula P.R., Mukhopadhyay S., Ravella K., Cai S., Channon K.M., Garfield R.E., Pasricha P.J. (2010). Tetrahydrobiopterin (BH₄), A cofactor for nNOS, restores gastric emptying and nNOS expression in female diabetic rats. *American Journal of Physiology- Gastrointestinal and Liver Physiology*. **298(5)**, G692-9.
- Grosser T. (2006). The pharmacology of selective inhibition of COX-2, *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. **96**, 393–400.
- 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. *British Journal of Pharmacology*. **159(3)**, 726-34.
- Gunneth C.A., Lund D.D., McDowell A.K., Faraci F.M. ve Heistad D.D. (2005). Mechanisms of inducible nitric oxide synthase-mediated vascular dysfunction. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*. **25**, 1617-1622.
- Guo J.S., Cho C.H., Wang J.Y. ve Koo M.W. (2006). Differential effects of selective and non-selective inhibition of nitric oxide synthase on the expression and activity of cyclooxygenase-2 during gastric ulcer healing. *European Journal of Pharmacology*. **536**, 301–308.
- Gupta M. ve Eisen G.M.. NSAIDS and gastrointestinal tract. *Current Gastroenterology Reports*. **11**, 345–353.
- Gürbüz V., Alican I., Berrak, Yegen C., Bozkurt A., Oktar B. ve ark. (1999). Role of nitric oxide in indomethacin-induced gastric mucosal dysfunction in the rat. *Experimental Physiology*. **84(2)**, 319-32.
- Guzik T.J., Mussa S., Gastaldi D., Sadowski J., Ratnatunga C., Pillai R., ve ark. (2002). Mechanisms of increased vascular superoxide production in human diabetes mellitus: role of NAD(P)H oxidase and endothelial nitric oxide synthase. *Circulation*. **105(14)**, 1656-62.
- Ham M. ve Kaunitz J.D. (2007). Gastroduodenal defense. *Current Opinion in Gastroenterology*. **23**, 607–616.
- Hamadate N., Noguchi K., Sakanashi M., Matsuzaki T., Nakasone J. ve Sakanashi M. (2008). Effect of decreased levels of intrinsic tetrahydrobiopterin on endothelial function in anesthetized rats. *Journal of Pharmacological Sciences*. **107(1)**, 49-56.
- Hattori Y., Hattori S., Wang X., Satoh H., Nakanishi N. Ve Kasai K. (2007). Oral administration of tetrahydrobiopterin slows the progression of atherosclerosis in

- apolipoprotein e-knockout mice. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*. **27**, 865-870.
- Hegge K.A., Horning K.K., Peitz G.J. ve Hegge K. (2009). Sapropterin: A new therapeutic agent for phenylketonuria, *Annual Pharmacotherapeutics*. **43**, 1466-73.
- Heitzer T., Brockhoff C., Mayer B., Warnholtz A., Mollnau H., Henne S., Meinertz T., Münzel T. (2000). Tetrahydrobiopterin improves endothelium-dependent vasodilation in chronic smokers : evidence for a dysfunctional nitric oxide synthase. *Circulation Research*. **86**, e36-e41.
- İseri S.Ö., Sener G., Yüksel M., Contuk G., Çetinel S., Gedik N. ve ark. (2005). Ghrelin against alendronate-induced gastric damage in rats, *Journal of Endocrinology* **187**, 399–406.
- Ishii M., Shimizu S., Navata S., Kiuchi Y. ve Yamamoto T. (2000). İnvolvement of reactive oxygen species and nitric oxide in gastric ischemia-reperfusion injury in rats- Protective effect of tetrahydrobiopterin. *Digestive Diseases and Sciences*. **45(1)**, 93–98.
- Jaworek J., Brzozowski T. ve Konturek S.J. (2005). Melatonin as an organoprotector in the stomach and the pancreas.. *Journal of Pineal Research*. **38(2)**, 73-83.
- Jimenez M.D., Martin M.J., Alarcon de la Lastra C., Bruseghini L., Esteras A., Herrerias J.M. ve ark. (2004). Role of L-arginine in ibuprofen-induced oxidative stress and neutrophil infiltration in gastric mucosa. *Free Radical Research*. **38(9)**, 903-11.
- Katusic Z.S., d’Uscio L. ve Nath K.A.. (2009). Vascular protection by tetrahydrobiopterin: progress and therapeutic prospects. *Trends in Pharmacological Sciences*. **30(1)**, 48–54.
- Katzung B.G., Maters S.B. ve Trevor A.J. (Ed.) (2009). *Basic and Clinical Pharmacology*. (11. Baskı). San Francisco. McGraw Hill Şirketleri.
- Kayaalp S.O. (Ed.) (2009). *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. (12. baskı) Ankara. Feryal Matbaacılık San. ve Tic. Ltd. Şti.
- Keeble J.E. ve Moore P.K (2002). Pharmacology and potential therapeutic applications of nitric oxide-releasing non-steroidal anti-inflammatory and related nitric oxide-donating drugs. *British Journal of Pharmacology*. **137**, 295-310.
- Kitahura T. ve Guth P.H. (1987). Effect of aspirin plus hydrochloric acid on the gastromucosal circulation. *Gastroenterology*. **93**, 810-817.

- Konturek S.J., Konturek P.C. ve Brzozowski T. (2005). Prostaglandins and ulcer healing. *Journal of Physiology and Pharmacology*. **56**, 5-31.
- Konturek S.J., Konturek P.C., Brzozowski T., Konturek J.W. ve Pawlik W.W. (2005). From nerves and hormones to bacteria in the stomach; nobel prize for achievements in gastrology during last century. *Journal of Physiology and Pharmacology*. **56(4)**, 507-530.
- Kwiecień S., Brzozowski T. ve Konturek S.J. (2002). Effects of reactive oxygen species action on gastric mucosa in various models of mucosal injury. *Journal of Physiology and Pharmacology*. **53(1)**, 39-50.
- Kwon N.S., Nathan C.F. ve Stuehr D.J. (1989). Reduced biopterin as a cofactor in the generation of nitrogen oxides by murine macrophages. *The Journal of Biological Chemistry*. **264(34)**, 20496-501.
- Laine L., Harper S., Simon T., Bath R., Johanson J., Schwartz H., Stern S., Quan H, Bolognese J. (1999). A randomized trial comparing the effect of rofecoxib, a cyclooxygenase 2-specific inhibitor, with that of ibuprofen on the gastroduodenal mucosa of patients with osteoarthritis. Rofecoxib Osteoarthritis Endoscopy Study Group. *Gastroenterology*. **117(4)**, 776-83.
- Laine L., Takeuchi K. ve Tarnawski A. (2008). Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside. *Gastroenterology*. **135(1)**, 41-60.
- Lanas A. (2009). Nonsteroidal antiinflammatory drugs and cyclooxygenase inhibition in the gastrointestinal tract: a trip from peptic ulcer to colon cancer. *American Journal of Medicinal Sciences*. **338(2)**, 96-106.
- Lau D. ve Baldus S. (2006). Myeloperoxidase and its contributory role in inflammatory vascular disease. *Pharmacology & Therapeutics*. **111**, 16-26.
- Lau D., Mollnau H., Eiserich J.P., Freeman B.A., Daiber A., Gehling U.M. ve ark. (2005). Myeloperoxidase mediates neutrophil activation by association with CD11b/CD18 integrins. *Proceedings of the National Academy of Sciences in the USA*. **102(2)**, 431-6.
- Lazzaroni M. ve Bianchi Porro G. (2004). Gastrointestinal side-effects of traditional non-steroidal anti-inflammatory drugs and new formulations. *Aliment Pharmacology and Therapeutics*. **20(2)**, 48-58.

- Lichtenberger L.M., Romero J.J. ve Dial E.J. (2007). Surface phospholipids in gastric injury and protection when a selective cyclooxygenase-2 inhibitor (Coxib) is used in combination with aspirin. *British Journal of Pharmacology*. **150(7)**, 913-9.
- Lichtenberger L.M., Zhou Y., Dial E.J. ve Raphael R.M. (2006). NSAID injury to the gastrointestinal tract: evidence that NSAIDs interact with phospholipids to weaken the hydrophobic surface barrier and induce the formation of unstable pores in membranes, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. **58**, 1–8.
- Linsheid P., Schaffner A. ve Schoedon G. (1998). Modulation of nitric oxide synthase mRNA stability by tetrahydrobiopterin in vascular smooth muscle cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. **243**, 137-141.
- Massberg S., Boros M., Leiderer R., Baranyi L., Okada H. ve Messmer K. (1998). Endothelin (ET)-1 induced mucosal damage in the rat small intestine: role of ET(A) receptors. *Shock*. **9(3)**, 177-83.
- Mayer B. ve Werner E.R. (1995). In search of a function for tetrahydrobiopterin in the biosynthesis of nitric oxide. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. **35**, :453-463.
- Michals-Matalon K. (2008). Sapropterin dihydrochloride, 6- R - L -erythro-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin, in the treatment of phenylketonuria. *Experimental Opinion on Investigational Drugs*. **17(2)**, 245-251.
- Michida T., Kawano S., Masuda E., Kobayashi I., Nishimura Y., Tsujii M. ve ark. (1997). Endothelin-1 in the gastric mucosa in stress ulcers of critically ill patients. *American Journal of Gastroenterology*. **92(7)**, 1177-81.
- Moens A.L. ve Kass D.A. (2006). Tetrahydrobiopterin and cardiovascular disease. *Arteriosclerosis. Thrombosis and Vascular Biology*. **26**, 2439-2444.
- Moncada S., Palmer R.M. ve Higgs E.A. (1991). Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacological Reviews*. **43(2)**, 109-42.
- Musumba C., Pritchard D.M. ve Pirmohamed M. (2009). Review article: cellular and molecular mechanisms of NSAID-induced peptic ulcers, *Aliment Pharmacology and Therapeutics*. **30**, 517–531.
- Nagatsu T., Matsuura S. ve Sugimoto T. (1989). Physiological and clinical chemistry of biopterin. *Medicinal Research Reviews*. **9(1)**, 25-44.
- Naito Y. ve Yoshikawa T. (2006). Oxidative stress involvement and gene expression in indomethacin-induced gastropathy. *Redox Report*. **11(6)**, 243-53.

- Özkör M.A. ve Quyyumi A.A. (2008). Tetrahydrobiopterin. *Current Hypertension Reports*. **10**, 58–64.
- Paimela H., Goddard P.J., Carter K., Khakee R., Mc Neil P.L., Ito S. ve ark. (1993). Restitution of frog gastric mucosa in vitro: effect of basic fibroblast growth factor, *Gastroenterology* **104**(5), 1337-45.
- Peskar B.M. (2001). Neural aspects of prostaglandin involvement in gastric mucosal defense. *Journal of Physiology and Pharmacology*. **52**(4): 555-68.
- Pollock D.M., Keith T.L. ve Highsmith R.F. (1995). Endothelin Receptors and Calcium Signaling. *Faseb Journal*. **9**, 1196-1204.
- Porkert M., Sher S., Reddy U., Cheema F., Niessner C., Kolm P. ve ark. (2008). Tetrahydrobiopterin: a novel antihypertensive therapy. *Journal of Human Hypertension*. **22**(6), 401-7.
- Radi Z.A. (2009). Pathophysiology of Cyclooxygenase Inhibition in Animal Models. *Toxicologic Pathology*. **37**, 34-46.
- Sakaguchi A.A., Miura S., Takeuchi T., Hokari R., Mizumori M., Yoshida H. ve ark. (1999). Increased expression of inducible nitric oxide synthase and peroxynitrite in helicobacter pylori gastric ulcer. *Free Radical Biology and Medicine*. **27**, 781-789.
- Sanford M. ve Keating G.M. (2009). Spotlight on sapropterin in primary hyperphenylalaninemia. *Biodrugs*. **230**, 201-202.
- Sato M., Manabe N., Hata J., Ishii M., Kamada T., Kusunoki H. ve ark. (2009). Effect of irsogladine maleate on NSAID-induced reduction of gastric mucosal blood flow in anesthetized dogs. *Digestion*. **79**(2), 73-8.
- Schmidt T.S. ve Alp N.J. (2007). Mechanisms for the role of tetrahydrobiopterin in endothelial function and vascular disease. *Clinical Science*. **113**, 47–63.
- Schönbeck U., Sukhova G.K., Graber P., Coulter S., and Libby P. (1999). Augmented expression of cyclooxygenase-2 in human atherosclerotic lesions. *American Journal of Pathology*. **155**, 1281–1291.
- Schubert M.L. (2008). Gastric secretion. *Current Opinion in Gastroenterology*. **24**, 659–664.
- Shigeta J. ve Takahashi S. (2000). Role of Cyclooxygenase-2 in gastric mucosal lesions. *Gastroenterology*. **112**, 387-97.
- Shimizu N., Watanabe T., Arakawa T., Fujiwara Y., Higuchi K. ve Kuroki T. (2000). Pentoxifylline Accelerates Gastric Ulcer Healing in Rats: Roles of Tumor Necrosis

- Factor Alpha and Neutrophils during the Early Phase of Ulcer Healing. *Digestion*. **61**, 157–164.
- Sibilia V., Rindi G., Pagani F., Rapetti D., Locatelli V., Torsello A. Ve ark.(2003). Ghrelin protects against ethanol-induced gastric ulcers in rats: studies on the mechanisms of action. *Endocrinology*. **144(1)**, 353-9.
- Sibilia V., Torsello A., Pagani F., Rapetti D., Lattuada N., Locatelli V. ve ark. (2004). Effects of hexarelin against acid-independent and acid-dependent ulcerogens in the rat. *Peptides*. **25(12)**, 2163-70.
- Singh G. ve Triadafilopoulos G. (1999). Epidemiology of NSAID induced gastrointestinal complications. *Journal of Rheumatology*. **56**, 18-24.
- Singh R., Kumar R. ve Singh D.P. (2009). Nitric oxide-releasing nonsteroidal anti-inflammatory drugs: gastrointestinal-sparing potential drugs. *Journal of Medicinal Food*. **12(1)**, 208-218.
- Slomiany B.L., Piotrowski J. ve Slomiany A. (1999). Role of endothelin-1 and constitutive nitric oxide synthase in gastric mucosal resistance to indomethacin injury: effect of antiulcer agents. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. **34**, 459–464.
- Souza M.H., Lemos H.P., Oliveira R.B. ve Cunha F.Q. (2004). Gastric damage and granulocyte infiltration induced by indomethacin in tumour necrosis factor receptor 1 (TNF-R1) or inducible nitric oxide synthase (iNOS) deficient mice. *Gut*. **53(6)**, 791-6.
- Takahashi S., Kobayashi N. ve Okabe S., (1999). Regulation by Endogenous Interleukin-1 of mRNA Expression of Healing-Related Factors in Gastric Ulcers in Rats, *Journal of Pharmacology and Therapeutics*. **291**, 634–641.
- Takahashi S., Shigeta J.I., Inoue H., Tanabe T. ve Okabe S. (1998). Localization of cyclooxygenase-2 and regulation of its mRNA expression in gastric ulcers in rats. *American Journal of Physiology- Gastrointestinal and Liver Physiology*. **275**, 1137-1145.
- Takeuchi K., Aihara E., Sasaki Y., Nomura Y. ve Ise F. (2006). Involvement of cyclooxygenase-1, prostaglandin E₂ and Ep₁ receptors in acid-induced HCO₃⁻ secretion in stomach. *Journal of Physiology and Pharmacology*. **57(4)**, 661-676.

- Takeuchi K., Ohuchi T. ve Okabe S. (1994). Endogenous nitric oxide in gastric alkaline response in the rat stomach after damage. *Gastroenterology*. **106(2)**, 367-74.
- Tarnawski A., Szabo I.L., Hsain S.S. ve Soreghan B. (2001). Regeneration of gastric mucosa during ulcer healing is triggered by growth factors and signal transduction pathways, *Journal of Physiology*. **95(1-6)**, 337-44.
- Tarnawski A., Tanoue K., Santos A.M. ve Sarfej I.J. (1995). Cellular and molecular mechanisms of gastric ulcer healing. Is the quality of mucosal scar affected by treatment?, *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. **210**, 9-14.
- Thöny B., Auerbach G. ve Blau N. (2000). Tetrahydrobiopterin biosynthesis, regeneration and functions. *Biochemical Journal*. **347**, 1-16.
- Ueda S., Matsuoka H., Miyazaki H., Usui M., Okuda S. ve Imaizumi T. (2000). Tetrahydrobiopterin restores endothelial function in long-term smokers. *Journal of American College of Cardiology*. **35(1)**, 71-5.
- Walder C.E., Thiemermann C., Vane J.R. (1990). Endothelium-derived relaxing factor participates in the increased blood flow in response to pentagastrin in the rat stomach mucosa. *Proceedings: Biological Sciences / The Royal Society*. **241(1302)**, 195-200.
- Wallace J.L ve Ma L. (2001). Inflammatory mediators in gastrointestinal defense and injury. *Experimental Biology and Medicine*. **226 (11)**, 1003-1015.
- Wallace J.L. ve Granger D.N. (1992). Pathogenesis of NSAID Gastropathy: are neutrophils the culprits?. *Trends in Pharmacological Sciences*. **13(4)**, 129-31.
- Wallace J.L. ve Granger D.N. (1996). The cellular and molecular basis of gastric mucosal defense, *Faseb Journal*. **10**, 731-740.
- Wallace J.L., (2008). Prostaglandins, NSAIDs, and gastric mucosal protection: why doesn't the stomach digest itself ?. *Physiological Reviews*. **88**, 1547-1565.
- Wallace J.L., Arfors K.E. ve McKnight G.W. (1991). A monoclonal antibody against the CD18 leukocyte adhesion molecule prevents indomethacin-induced gastric damage in the rabbit. *Gastroenterology*. **100(4)**, 878-83.
- Wallace J.L., Keenan C.M. ve Granger D.N. (1990). Gastric ulceration induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs is a neutrophil-dependent process. *American Journal of Physiology- Gastrointestinal and Liver Physiology*. **259(3)**, G462-7.
- Wallace J.L., Mc Knight W., Miyasak M., Tamatni T., Paulsn J., Anderson D.C. ve ark. (1993). Role of endothelial adhesion molecules in NSAID-induced gastric mucosal injury. *American Journal of Physiology*. **265**, G993-998.

- Wallace J.L., Reuter B., Cicala C., McNight W., Grisham M. ve Cirino G. (1994). A diclofenac derivative without ulcerogenic properties. *European Journal of Pharmacology*. **257**, 249-255.
- Wallace J.L. (1993). Gastric ulceration: critical events at the neutrophil-endothelium interface. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. **71(1)**, 98-102.
- Warner T.D. ve Mitchell J.A. (2004). Cyclooxygenase: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. *Faseb Journal*. **18(7)**, 790-804.
- Watanabe T., Higuchi K., Hamaguchi M., Shiba M., Tominaga K., Fujiwara Y. Ve ark. (2004). Monocyte chemotactic protein-1 regulates leukocyte recruitment during gastric ulcer recurrence induced by tumor necrosis factor- α . *American Journal of Physiology –Gastrointestinal and Liver Physiology*. **287(4)**, G919-28.
- Watanabe T., Higuchi K., Tominaga K., Fujiwara Y. ve Arakawa T. (2001). Acid regulates inflammatory response in a rat model of induction of gastric ulcer recurrence by interleukin 1 β . *Gut*. **48**, 774–781.
- Whittle B.J. (2003). Gastrointestinal effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Fundamental and Clinical Pharmacology*. **17(3)**, 301-13.
- Xin X., Cai Y., Matsumoto K. ve Agui T. (1995). Endothelin-induced interleukin-6 production by rat aortic endothelial cells, *Endocrinology*. **136**, 132-137.
- Yasumoto K., Okamoto S., Mukaida N., Murakami S., Maji M., and Matsushima K. (1992). Tumor Necrosis Factor α and Interferon γ Synergistically Induce Interleukin 8 Production in a Human Gastric Cancer Cell Line through Acting Concurrently on AP-1 and NF- κ B-like Binding Sites of the Interleukin 8 Gene. *The Journal of Biological Chemistry*. **267(31)**, 22506-11.
- Yıldırım M. (2002). *Resimli İnsan Anatomisi*. İstanbul. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti.
- Yoshida N., Takemura T., Granger D.N., Anderson D.C., Wolf R.E., McIntire L.V. ve ark. (1993). Molecular determinants of aspirin-induced neutrophil adherence to endothelial cells. *Gastroenterology*. **105**, 715-724.
- Zarraga I.G.E. ve Schwarz E.R., (2007). Coxibs and heart disease: what we have learned and what else we need to know, *Journal of the American College of Cardiology*. **49**, 1–14.
- Zhang X., Tajima K., Kageyama K. ve Kyo T. (2008). Irsogladine maleate suppresses indomethacin-induced elevation of proinflammatory cytokines and gastric injury in rats. *World Journal of Gastroenterology*. **14(30)**, 4784-4790.

ETİK KURUL KARARI



T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Say : 27

24/09/2009

Sn. Yrd. Doç. Dr. Gökçe TOPAL TANYILMAZ
İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Karar No: 116
Başvuru Tarihi: 10/09/2009

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, Eczacı Deniz YAVUZ'a ait "Sıçanlarda indometazinle oluşturulan gastrik ve intestinal ülser üzerine tetrahidrobiopterinin etkilerinin incelenmesi" isimli projeniz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul İlkelerine uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Alev A. KAYMAZ
İ. Ü. HADYEK Başkanı

Prof. Dr. Müjdat UYSAL
Üye

Prof. Dr. Gülderen ŞAHİN
Üye

Prof. Dr. Nuriye AKEV
Üye

Doç. Dr. Alper YILMAZ
Üye

Doç. Dr. Mehmet YALDIRA
Üye

Uzm. Vet. Hek. Fatma TEKELİ
Üye

Avukat Safiye ALTUN
Üye

Mak. Müh. Seyfettin AYOĞLU
Üye

İstanbul Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı
İstanbul Üniversitesi Rektörlüğü 34119 Beyazıt-İSTANBUL
TEL : (0 212) 440 00 00/ 10013
E mail : hadyek@istanbul.edu.tr

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	DENİZ	Soyadı	YAVUZ
Doğ.Yeri	YALOVA	Doğ.Tar.	07.02.1986
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	18805984968
Email	eczdenizyavuz@hotmail.com	Tel	0 530 403 62 17

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı	2011
Lisans	İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2008
Lise	Yalova Şehit Osman Altınkuyu Anadolu Lisesi	2004

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
.	Eczacı	Okmeydanı Deniz Eczanesi	2010-
.	Eczacı	Tabya Eczanesi	2009-2010
	Yardımcı Eczacı	Ataköy Yonca Eczanesi	2008-2009

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	İyi	İyi	-	İ.Ü. Yabancı Dil Sınavı: 86
Almanca	Zayıf	Zayıf	Zayıf	-	-

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	87	86	85

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	İyi
Adobe	İyi

Sertifikalar:

- İ.Ü. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası, 16/02/2009 – 27/02/2009

Özel İlgi Alanları (Hobileri):

Müzik dinlemek, tiyatro, opera, bale ve sinemaya gitmek, kitap okumak, müze ve sergi gezmek.