



TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
MARMARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANDA İNDOMETAZİN VE ETANOL İLE İNDÜKLENEN  
MİDE ÜLSERİ MODELLERİNDE METFORMİNİN ETKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**FİZYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BETÜL ESRA İPEK**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof. Dr. İNCİ ALİCAN**

**İSTANBUL**

**2020**



**TEZ ONAY**



## BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar tüm safhalarda etik dışı herhangi bir davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi; aynı zamanda bu tez çalışmasıyla elde edilmemiş bilgi ve yorumların tamamına kaynak gösterdiğimi, bu kaynakları da kaynakçaya eklediğimi; yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında hiçbir patent ve telif hakkını ihlal edici davranışımın olmadığını beyan ederim.

Betül Esra İPEK

## İTHAF

*Bu tez çalışmamı, eğitim hakkı elinden alınmış tüm kız çocuklarına ve bilime ışık tutan bilim kadınlarına ithaf ediyorum.*



## TEŞEKKÜR

Eğitim sürem boyunca desteğini, tecrübesini ve en önemlisi sabrını esirgemeyen, bu tez çalışmasının planlanmasında ve yürütülmesinde daima yanımda olan sayın bölüm başkanımız ve danışman hocam Prof. Dr. İnci Alican'a başta olmak üzere; hem kişisel hem de akademik her konuda bana kapısını ardına kadar açık tutan, fikirlerinden ve kişiliğinden çok şey öğrendiğim değerli hocam Prof. Dr. Berrak Çağlayan Yeğen'e, ilerlediğim bu yolda bilgi ve birikimleriyle çok şey borçlu olduğum sayın Prof. Dr. Hızır Kurtel'e, Doç Dr. Özgür Kasımay Çakır'a ve Doç. Dr. Alper Yıldırım'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunuyorum.

Tez çalışmamın histolojik değerlendirmesine katkılarını sunan Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Feriha Ercan'a, kemiluminesans değerlenmesini gerçekleştiren ve biyokimyasal analizlerimi yaparken deneyimlerini paylaşarak yol gösteren Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Meslek Yüksekokulu'ndan Prof. Dr. Meral Yüksel'e, ELISA kitlerini çalışmamız için laboratuvarının kapısını açan Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Ana Bilim Dalı'ndan Doç. Dr. Banu Aydın'a, apoptoz tayinini beraber incelediğimiz Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Ana Bilim Dalı'ndan Dr. Öğr. Üyesi Alev Cumbul'a ve kendisinin yüksek lisans öğrencisi sevgili Dilara Baban'a yardımları için teşekkürü borç bilirim.

Yüksek lisans öğrenimim boyunca bazen heveslerimi bazen de yakınmalarımı dinlemek zorunda kalan aileme, yakın arkadaşlarıma ve tüm sevdiklerime de destekleri ve sabırları için şükranlarımı sunarım.

Bu çalışma Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından SAG-C-YLP-250919-0282 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.

# İÇİNDEKİLER

Sayfa  
No

|                                                                                                  |      |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| TEŞEKKÜR.....                                                                                    | i    |
| KISALTMALAR VE SİMGELER.....                                                                     | v    |
| ŞEKİL LİSTESİ.....                                                                               | viii |
| RESİM LİSTESİ.....                                                                               | ix   |
| TABLO LİSTESİ.....                                                                               | x    |
| 1. ÖZET.....                                                                                     | 1    |
| 2. SUMMARY.....                                                                                  | 2    |
| 3. GİRİŞ VE AMAÇ.....                                                                            | 3    |
| 4. GENEL BİLGİLER.....                                                                           | 5    |
| 4.1. Mide.....                                                                                   | 5    |
| 4.1.1. Midenin anatomik yapısı.....                                                              | 5    |
| 4.1.2. Mide duvarının yapısı .....                                                               | 6    |
| 4.1.3. Mide bezleri ve salgıları.....                                                            | 6    |
| 4.1.3.1. Mide asit sekresyonu.....                                                               | 8    |
| 4.1.3.1.1. Mide asit sekresyonunun uyarılması.....                                               | 9    |
| 4.1.3.1.2. Mide asit sekresyonunun hücrel mekanizması.....                                       | 11   |
| 4.1.4.1.3. Hidroklorik asit (HCl) sekresyonunun inhibisyonu.....                                 | 12   |
| 4.2. Mide Ülseri.....                                                                            | 13   |
| 4.2.1. Mide ülserinin tanımı.....                                                                | 13   |
| 4.2.2 Mide ülserinin epidemiyolojisi.....                                                        | 13   |
| 4.2.3. Mide ülserinin etiyolojisi.....                                                           | 13   |
| 4.2.2. Mide ülserinin patofizyolojisi.....                                                       | 14   |
| 4.2.3. Deneyisel mide ülseri modelleri.....                                                      | 20   |
| 4.2.3.1. NSAİİ (Non-steroidal anti-inflamatuvar ilaçlar) ile oluşturulan mide ülseri modeli..... | 20   |
| 4.2.3.2. Etanol ile oluşturulan mide ülseri modeli.....                                          | 23   |
| 4.2.3.3. Pilor ligasyonu ile oluşturulan mide ülseri modeli.....                                 | 24   |
| 4.2.3.4. Stres ile oluşturulan mide ülseri modeli.....                                           | 24   |
| 4.2.3.5. Asetik asit ile oluşturulan mide ülseri modeli.....                                     | 25   |
| 4.2.3.6. <i>Helicobacter pylori</i> ile oluşturulan mide ülseri modeli.....                      | 26   |

|                                                                                            |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 4.3. Metformin.....                                                                        | 26        |
| 4.3.1. Metforminin kimyasal yapısı.....                                                    | 26        |
| 4.3.2. Metforminin tip 2 diabetes mellitus üzerine etkisi.....                             | 28        |
| 4.3.3. Metforminin diğer etkileri.....                                                     | 29        |
| 4.3.4. Metforminin anti-inflamatuvar etki mekanizması.....                                 | 33        |
| <b>5. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>                                                             | <b>35</b> |
| 5.1. Deney Hayvanları.....                                                                 | 35        |
| 5.2. Kimyasal Ajanlar.....                                                                 | 35        |
| 5.3. Deney Grupları ve Protokolü.....                                                      | 36        |
| 5.4. Mide Dokusunun Makroskopik Düzeyde Değerlendirilmesi.....                             | 37        |
| 5.5. Mide Dokusunda Biyokimyasal Analizler.....                                            | 37        |
| 5.5.1. Malondialdehit (MDA) ölçümü.....                                                    | 37        |
| 5.5.2. Miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi ölçümü.....                                       | 38        |
| 5.5.3. Glutatyon (GSH) aktivitesi ölçümü.....                                              | 38        |
| 5.5.4. Süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz enzim düzeylerinin tayini.....                 | 38        |
| 5.6. Mide Dokusunun Mikroskopik Düzeyde Değerlendirilmesi.....                             | 39        |
| 5.7. Mide Dokusunda Kemiluminisans Ölçümü.....                                             | 40        |
| 5.8. Mide Dokusunda Apoptozun Değerlendirilmesi.....                                       | 40        |
| 5.9. Mide Kan Akımı Ölçümü.....                                                            | 41        |
| 5.10. Serumda Tümör Nekroz Faktör (TNF)- $\alpha$ ve İnterlökin (IL)-1 $\beta$ ölçümü..... | 42        |
| 5.11. İstatistiksel Analiz.....                                                            | 42        |
| <b>6. BULGULAR.....</b>                                                                    | <b>43</b> |
| 6.1. Serumda Glikoz Düzeyi Bulguları.....                                                  | 43        |
| 6.2. Mide Dokusunun Makroskopik Bulguları.....                                             | 43        |
| 6.3. Mide Dokusunun Biyokimyasal Bulguları.....                                            | 46        |
| 6.3.1. MDA düzeyleri.....                                                                  | 46        |
| 6.3.2. MPO aktivitesi.....                                                                 | 47        |
| 6.3.3. GSH düzeyleri.....                                                                  | 48        |
| 6.3.4. SOD ve katalaz aktivitesi.....                                                      | 48        |
| 6.4. Mide Dokusunun Histolojik Bulguları.....                                              | 50        |
| 6.5. Mide Dokusunun Kemiluminisans Bulguları.....                                          | 54        |
| 6.6. Mide Dokusunun Apoptoz Sonuçları.....                                                 | 55        |

|                                                            |           |
|------------------------------------------------------------|-----------|
| 6.7. Mide Kan Akımı Ölçüm Sonuçları.....                   | 59        |
| 6.8. Serumda TNF- $\alpha$ ve IL-1 $\beta$ Düzeyleri ..... | 59        |
| <b>7. TARTIŞMA VE SONUÇ.....</b>                           | <b>61</b> |
| <b>8. KAYNAKLAR.....</b>                                   | <b>69</b> |
| <b>9. ÖZGEÇMİŞ.....</b>                                    | <b>98</b> |



## KISALTMALAR VE SİMGELER

ACh – Asetilkolin

AMPK – Adenozin monofosfat (AMP)-aktif edici protein kinaz

ApoA5 – Apolipoprotein A5

ATP – Adenozin trifosfat

cAMP – Siklik adenozin 3,5-monofosfat

CCK – Kolesistokinin

CGRP – Kalsitonin geniyle ilişkili peptit

cNOS – Konstitütif nitrik oksit sentaz

CO<sub>2</sub> – Karbondioksit

COX – Siklooksijenaz

CRF – Kortikotropin serbestleştirici faktör

DAG – Diaçil gliserol

DSS – Dekstran sodyum sülfat

DTNB – 5,5'-ditiyobis-2-nitrobenzoik asit

ECL – Enterokromaffin benzeri hücreler

ELISA – Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

eNOS – Endotelial nitrik oksit sentaz

GLP-1 – Glukagon benzeri peptit-1

GLUT-4 – Glikoz taşıyıcı tip-4

GPx – Glutasyon peroksidaz

GSH – Glutasyon

H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPaz – Hidrojen-potasyum ATPaz

H&E – Hematoksilen&Eozin

HCl – Hidroklorik asit

HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> – Bikarbonat

H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> – Karbonik asit

HETAB – Hekzadesil trimetil amonyum bromür

HDL-C – Yüksek yoğunluklu lipoprotein-kolesterol

H<sub>2</sub>O – Su

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – Hidrojen peroksit

IκB-α – İnhibitör kappa B-α

IL – İnterlökin  
IP<sub>3</sub> – İnozitol trifosfat  
iNOS – İndüklenebilir nitrik oksit sentaz  
KAT – Katalaz  
MCP-1 – Monosit kemoatraktan protein-1  
MDA – Malondialdehit  
MPO – Miyeloperoksidaz  
mTOR – Rapamisin protein kompleksinin memeli hedefi  
NAFLD – Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı  
Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – Disodyum fosfat  
NaHCO<sub>3</sub> – Sodyum bikarbonat  
NaNO<sub>3</sub> – Sodyum sitrat  
NF-κB – Nüklear faktör kappa B  
NO – Nitrik oksit  
NSAİİ – Non-steroidal anti-inflamatuvar ilaç  
Lcn-2 – Lipokalin-2  
LDL-C – Düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol  
LPS – Lipopolisakkarit  
pAMPK – Fosforile AMPK  
PAS – Periodik-asit Schiff  
PBS – Fosfat tamponlu tuzlu su  
PFA – Trombosit aktive edici faktör  
PGE<sub>2</sub> – Prostaglandin E<sub>2</sub>  
PGI<sub>2</sub> – Prostatiklin  
PMAT – Plazma membran monoamin taşıyıcısı  
PMNL – Polimorfonükleer lökosit  
ROS – Reaktif oksijen türleri  
SOD – Süperoksit dismutaz  
STAT3 – Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü-3  
STZ – Streptozotosin  
T2DM – Tip 2 diabetes mellitus  
TBA – Tiyobarbütirik asit

TCA – Trikloroasetik asit

Th17 – Yardımcı T17

TNF – Tümör nekroz faktörü

TUNEL – Terminal deoksinükleotidil transferaz-aracılı dUTP işaretleme (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling)

TXA2 – Tromboksan A2



## ŞEKİL LİSTESİ

|                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil-1. Midenin anatomik bölümleri.....                                            | 5  |
| Şekil-2. Midenin histolojik yapısı.....                                             | 6  |
| Şekil-3. Mide bezlerinin yapısındaki hücre tipleri.....                             | 7  |
| Şekil-4. Gastrik hücre salgıları.....                                               | 8  |
| Şekil-5. Mide asit sekresyonunun etki mekanizması.....                              | 9  |
| Şekil-6. Gastrik asit ve pepsin sekresyonunun mediyatörleri.....                    | 10 |
| Şekil-7. HCl salgısının hücresel mekanizması.....                                   | 11 |
| Şekil-8. Gastrin hormonunun sekresyonu ve etki mekanizması.....                     | 13 |
| Şekil-9. Mide ülserin patolojisi.....                                               | 15 |
| Şekil-10. Organizmada reaktif oksijen türlerinin oluşumu.....                       | 19 |
| Şekil-11. Araşidonik asit metabolizması.....                                        | 21 |
| Şekil-12. NSAİİ'lerin ülsere sebep olan mekanizması.....                            | 22 |
| Şekil-13. Metformin kimyasal yapısı.....                                            | 26 |
| Şekil-14. Metforminin hepatik glikoneogenez üzerine etki mekanizması.....           | 28 |
| Şekil-15. Metforminin vücuttaki hedef dokuları.....                                 | 31 |
| Şekil-16. Deney gruplarına ait lezyon skoru verileri.....                           | 44 |
| Şekil-17. Deney gruplarına ait lezyon uzunluğu verileri.....                        | 45 |
| Şekil 18. Deney gruplarına ait MDA düzeyi verileri .....                            | 47 |
| Şekil-19. Deney gruplarına ait MPO aktivitesi verileri.....                         | 47 |
| Şekil-20. Deney gruplarına ait GSH düzeyi verileri.....                             | 48 |
| Şekil-21. Deney gruplarına ait SOD enzim aktivitesi verileri.....                   | 49 |
| Şekil-22. Deney gruplarına ait katalaz enzim aktivitesi verileri.....               | 49 |
| Şekil-23. Deney gruplarına ait mide mikroskopik skorlar .....                       | 50 |
| Şekil-24. Deney gruplarına ait mide luminol kemiluminisans değerleri.....           | 55 |
| Şekil-25. Deney gruplarına ait mide lusigenin kemiluminisans değerleri .....        | 55 |
| Şekil-26. Deney gruplarına ait mide örneklerinde apoptotik indeks (%) verileri..... | 56 |
| Şekil-27. Lazer-doppler akımölçer ile ölçülen mide kan akımı değerleri .....        | 59 |

## RESİM LİSTESİ

|                                                                                          |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Resim-1. <i>Galega officinalis</i> (Fransız leylağı) bitkisi.....                        | 27 |
| Resim-2. Deney gruplarına ait temsili mide örneklerinin makroskopik görüntüleri...       | 46 |
| Resim-3. İndometazin gruplarına ait mide örneklerinin H&E ve PAS boyama görüntüleri..... | 51 |
| Resim-4. Etanol gruplarına ait mide örneklerinin H&E ve PAS boyama görüntüleri.....      | 53 |
| Resim-5. İndometazin gruplarına ait mide örneklerinin immün boyama görüntüleri..         | 57 |
| Resim-6. Etanol gruplarına ait mide örneklerinin immün boyama görüntüleri .....          | 58 |



## **TABLO LİSTESİ**

|                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo-1. Katalaz tayini için kullanılan çözelti miktarları.....             | 39 |
| Tablo-2. Deney gruplarında serum glikoz düzeyleri.....                      | 43 |
| Tablo-3. Deney gruplarına ait TNF- $\alpha$ ve IL-1 $\beta$ seviyeleri..... | 60 |



## 1. ÖZET

**Tez başlığı:** Sıçanda İndometazin ve Etanol ile İndüklenen Mide Ülseri Modellerinde Metforminin Etkisinin Araştırılması

**Öğrenci:** Betül Esra İpek

**Danışman:** Prof. Dr. İnci Alican

**Ana bilim dalı:** Fizyoloji

**Amaç:** Tip 2 diabetes mellitus tedavisinde yaygın kullanılan metformin ön tedavisinin farklı mide ülseri modelleri üzerine etkisini incelemektir.

**Gereç ve yöntem:** Erkek Sprague-Dawley sıçanlarda (280-450 gr) oral yolla indometazin (80 mg/kg) veya absolut etanol (5 ml/kg) uygulanarak iki farklı ülser modeli oluşturuldu. Metformin (500 mg/kg) veya ranitidin (50 mg/kg) oral olarak ülserojenik ajanlardan önce üç gün boyunca verildi. Üçüncü günde dekapitasyonun ardından mideler makroskopik ve mikroskopik olarak değerlendirildi. Oksidan ve anti-oksidan parametreler tayin edildi ve apoptoz değerlendirildi. Serumda sitokin düzeyleri ölçüldü. Farklı grup sıçanlarda dekapitasyon öncesi lazer doppler akımölçer ile mide kan akımı ölçüldü. İstatistiksel analizde tek yönlü ANOVA ve Tukey-Kramer çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi  $p<0,05$  olarak kabul edildi.

**Bulgular:** Metformin etanol grubunda lezyonları makroskopik ( $p<0,001$ ) ve mikroskopik ( $p<0,01$ ) düzeyde azalttı. Etanol grubunda kontrole göre artan kemiluminisans metformin tedavisi ile azalırken ( $p<0,05$  ve  $p<0,001$ ), mide kan akımı tedavisiz grubuna kıyasla artış gösterdi ( $p<0,01$ ). Etanol grubunda artan lipit peroksidasyonu metformin ile düştü ( $p<0,01$ ). Etanol grubunda kontrole kıyasla yüksek olan apoptotik indeks ( $p<0,001$ ), metformin ile düşme gösterdi ( $p<0,001$ ). İndometazin grubunda ise, metformin lezyonları mikroskopik düzeyde azalttı ( $p<0,05$ ). İndometazin grubunda artmış kemiluminisans metformin ile azalırken ( $p<0,01$  ve  $p<0,05$ ) mide kan akımı tedavisiz gruba göre arttı ( $p<0,05$ ). Apoptotik indeks, metformin alan indometazin grubunda tedavisiz gruba göre anlamlı olarak düştü ( $p<0,001$ ). İndometazin grubunda anlamlı şekilde azalan ( $p<0,01$ ) glutasyon, metformin ile artış gösterdi ( $p<0,05$ ).

**Sonuç:** Metformin ön tedavisi iki farklı mide ülseri modelinde kısmi koruma sağladı. Bu korumada olası mekanizmalar arasında oksidan oluşumunda ve apoptozda azalma ve mide kan akımında artma yer almaktadır.

**Anahtar Sözcükler:** Metformin, mide ülseri, indometazin, etanol, sıçan

## 2. SUMMARY

**Title:** Investigation of the Effect of Metformin on Indomethacin- and Ethanol-Induced Gastric Ulcer Models in Rat

**Student:** Betül Esra İpek

**Supervisor:** Prof. Dr. İnci Alicant

**Department:** Physiology

**Aim:** To examine the effect of metformin -widely used in the treatment of type II diabetes mellitus- pre-treatment on different gastric ulcer models.

**Material and method:** Two different ulcer models were induced in male Sprague-Dawley rats (280-450 g) by indomethacin (80 mg/kg) or absolute ethanol (5 ml/kg) given orally. Metformin (500 mg/kg) or ranitidine (50 mg/kg) was administered orally for three days prior to ulcerogenic agents. After decapitation on day-3, stomachs were evaluated macroscopically and microscopically. Oxidant and antioxidant parameters were determined and apoptosis was evaluated. Cytokine levels were measured in the serum. Gastric blood flow was measured via laser-doppler flowmeter before decapitation in other groups of rats. One-way ANOVA and Tukey-Kramer multiple comparison tests were used for statistical analysis.  $p < 0,05$  was considered significant.

**Results:** Metformin reduced lesions macroscopically ( $p < 0,001$ ) and microscopically ( $p < 0,1$ ) in ethanol groups. While chemiluminescence increased in ethanol group compared to control showed a reduction with metformin ( $p < 0,05$  and  $p < 0,001$ ), gastric blood flow increased compared to untreated group ( $p < 0,01$ ). Increased lipid peroxidation in ethanol group was reduced by metformin ( $p < 0,01$ ). Apoptotic index ( $p < 0,001$ ), which was higher in ethanol group compared to control, diminished by with metformin ( $p < 0,001$ ). In indomethacin group, metformin reduced lesions microscopically ( $p < 0,05$ ). While high chemiluminescence in indomethacin group decreased by metformin ( $p < 0,01$  and  $p < 0,05$ ), gastric blood flow improved compared to untreated group ( $p < 0,05$ ). Apoptotic index was lower in metformin administered indomethacin group than untreated group ( $p < 0,001$ ). Glutathione which decreased in indomethacin group ( $p < 0,01$ ) was restored by metformin ( $p < 0,05$ )

**Conclusion:** Metformin pre-treatment provided partial protection in two different gastric ulcer models. Possible mechanisms for this protection include decrease in oxidant formation and apoptosis and increase in gastric blood flow.

**Keywords:** Metformin, gastric ulcer, indomethacin, ethanol, rat

### 3.GİRİŞ VE AMAÇ

Metformin tip 2 diabetes mellitus (T2DM) tedavisinde kullanılan biguanid sınıfına ait anti-diyabetik bir ilaçtır. Hepatik glikoneogenezi inhibe ederek karaciğerde glikoz üretimini azaltır. Periferik dokularda da hücrel insülin duyarlılığını artırarak glikoz kullanımını stimüle eder. Metforminin moleküler hedefi hücre içi AMP-aktive edici kinaz (AMPK)'dır ve AMPK kan glikozunu normale döndürme işinden bağımsız olarak kronik inflamasyonda önemli işleve sahiptir. Hücre düzeyinde enerji tüketimi arttığında AMPK, ATP kullanan yolları regüle ederek enerji homeostazına katkıda bulunur. Son yıllarda yapılan çalışmalar anti-hiperglisemik etkisine ek olarak, sekonder protektif ve anti-inflamatuvar etkileri olduğunu göstermiştir. Özellikle kardiyovasküler ve serebrovasküler mekanizmalar üzerinden koruyucu etkileri olduğu da gösterilmiştir. Deneysel miyokard iskemisi modelinde, metformin önkoşullamasının kardiyoprotektif etkileri olduğu ileri sürülmüştür. Bir başka çalışmada kardiyovasküler eNOS'u stimüle ederek insülin duyarlılığını artırması, C-reaktif protein (CRP) ekspresyonunun azalmasıyla kısmen ilişkili olabileceğini ortaya koymuştur. Metforminin iskemi-reperfüzyon kaynaklı beyin hasarını azalttığını ve güçlü nöroprotektif etkilere sahip olduğunu ortaya koyan çalışmalar da literatürde yerini almıştır. Farelerle yapılan bir çalışmada orta serebral arter oklüzyonuna bağlı inme sonrası kan-beyin bariyerinde oluşan hasarı iyileştirici etkisi olduğu ispat edilmiştir. Bununla birlikte, inmeden önce metformin ile uzun süreli tedavinin de nöroprotektif olduğu bildirilmiştir. Metforminin sıçan primer kortikal nöron kültürlerinde apoptotik hücre ölümünü de azalttığı gösterilmiştir.

Mide ülseri, agresif faktörler ve bunlara karşı gastrik mukozal savunma mekanizmalarının zayıflığıyla ilişkili bir patolojidir. Mide asit sekresyonunda belirgin artış, azalan mide motilitesi ve artan inflamatuvar hücre infiltrasyonu ile karakterizedir. Non-steroidal anti-inflamatuvar ilaç (NSAİİ) olan indometazinin uzun süreli ve/veya yüksek doz kullanımı midede lezyon oluşumunu tetikler. İndometazin etkisini siklooksijenaz (COX) enzimini inhibe ederek gösterir. COX enziminin supresyonuyla mide mukozal bariyerin korunmasında kilit öneme sahip olan prostaglandin (PG) E2 aktivasyonu önemli ölçüde engellenir. Bu durum lokal olarak

nötrofil aktivasyonunu artırır, dokuda harabiyet meydana gelir ve mukozal kan akımı azalır. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretilmesiyle artan serbest oksijen radikalleri ve lipid peroksidasyonu da gastrik hasara katkıda bulunur. Etanol de benzer şekilde akut gastrik lezyonlara sebep olur, bölgede oksidatif hasarı tetikler. Mukozal geçirgenliği artırır, böylece nötrofillerin bölgeye ekstrasvasyonu gerçekleşir ve gastrik hücrelerin ölümüyle sonuçlanır.

Bu bilgilerin ışığı altında, bu çalışmada metforminin mide ülseri üzerine koruyucu etkileri olup olmadığını incelemek ve olası etkinin mekanizmasını aydınlatmak amaçlanmıştır.



## 4. GENEL BİLGİLER

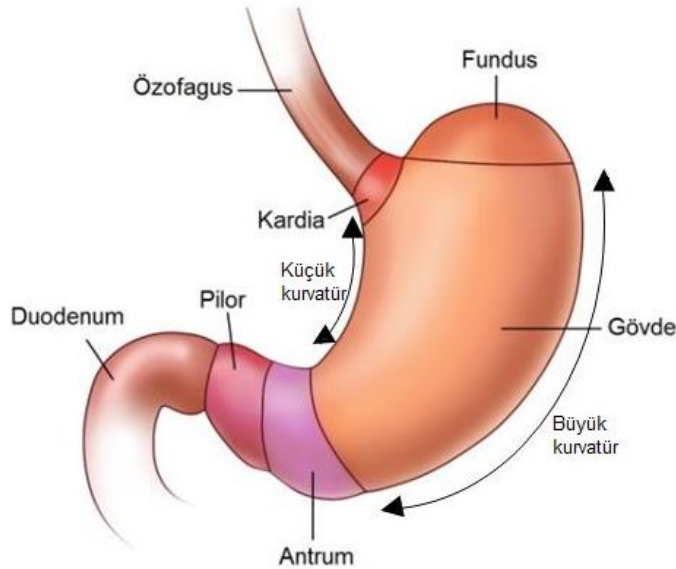
### 4.1. Mide

Mide diyaframın hemen altında, karın boşluğunun sol üst kısmında, özofagus ile duodenum arasında yer alır. Besinlerin hem mekanik hem de kimyasal sindiriminin gerçekleştiği bölümdür.

#### 4.1.1. Midenin anatomik yapısı

Anatomik olarak beş bölüme ayrılır (Soybel, 2015) (Şekil-1):

- 1- Kardial (pars cardialis): Özofagusun mideye açıldığı kısımdır.
- 2- Fundus (fundus gastricus): Midenin en üst bölümüdür; üstünde diyafram, solunda dalak bulunur.
- 3- Gövde (corpus gastricum): Midenin en geniş parçasıdır. Korpusun sağına küçük kurvatür, sol kısmına büyük kurvatür denir. Küçük kurvatür daha düz, büyük kurvatür ise daha kavislidir.
- 4- Antrum (antrum pyloricum): Pilon kanalının geniş olan proksimal bölümüdür.
- 5- Pilon (pars pylorica): Midenin distal kısmıdır ve kimusun duodenuma geçişini kontrol eder.

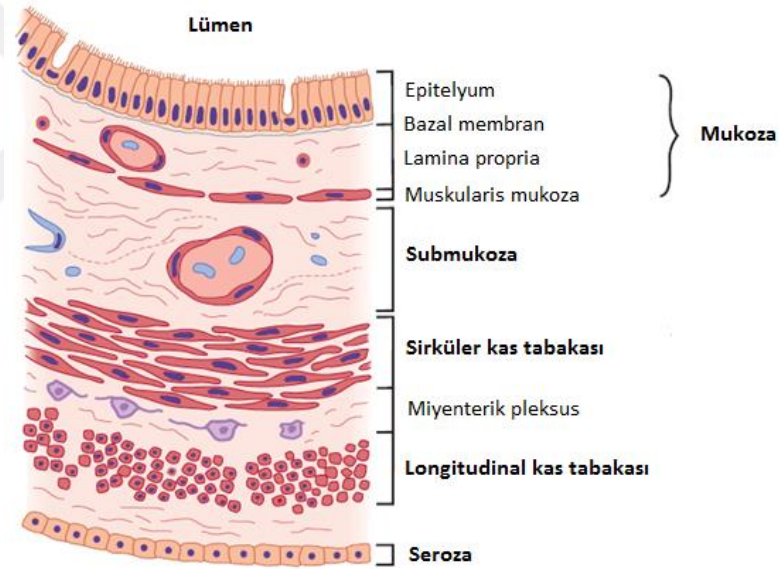


Şekil-1. Midenin anatomik bölümleri (Ellis, 2011).

#### 4.1.2. Mide duvarının yapısı

Dıştan içe doğru şu tabakalardan oluşur (Barrett ve diğ., Ganong'un Tıbbi Fizyolojisi, 2019) (Şekil-2):

- 1- Seroza: Gevşek bağ dokusundan yapıli en dış katmandır ve mezotelyum ile sarılır.
- 2- Longitudinal düz kas tabakası: Dışarıdaki kas tabakasını oluşturur, buradaki kaslar uzunlamasına ve kesintisiz yerleşmiştir.
- 3- Sirküler düz kas tabakası: İç kısımdaki kas tabakasıdır, peristaltik hareketi gerçekleştirecek tonik kasılmalardan sorumludur.
- 4- Submukoza: Gevşek bağ dokusundan oluşur ve mukozası destekler. Kan damarları açısından zengindir.
- 5- Mukoza: Çeşitli epitel hücrelerin bulunduğu en iç kısımdır. Mide sıvısının salgılanmasını gerçekleştiren bezler burada bulunur.

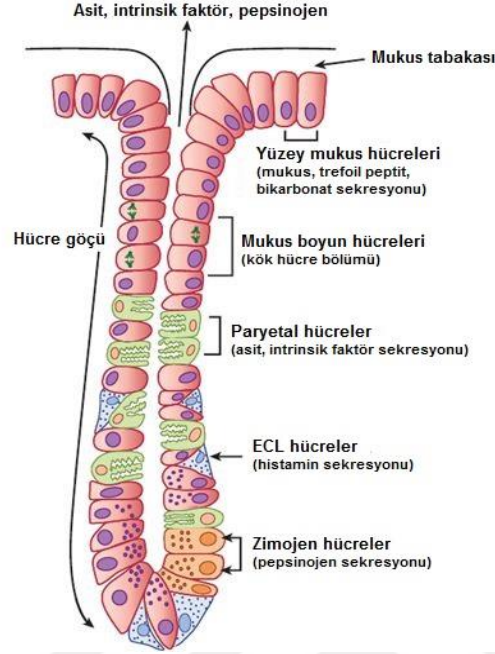


Şekil-2. Midenin histolojik yapısı (Barrett ve diğ., Ganong'un Tıbbi Fizyolojisi, 2019).

#### 4.1.3. Mide bezleri ve salgıları

Mide gövdesi, salgı ürünlerini kanallar yoluyla midenin lümenine boşaltan oksintik (mide, kardia) bezleri içerir. Bu bezin daha derinlerinde ise mukozaya boyun hücreleri, paryetal hücreler ve esas (zimojen, peptik) hücreleri içeren pilor bezi bulunur. Midenin mukozaya hücreleri, mide sıvısı adı verilen bir sıvı salgılar. Mide sıvısının dört ana bileşeni vardır: **hidroklorik asit (HCl)**, **pepsinojen**, **intrinsik faktör** ve **mukustur** (Costanzo

L. S., Fizyoloji, 2018) (Şekil-3). Bunlar arasında temel sekresyon ürünü tüm yüzeyini kaplayan mukus salgısıdır (Guyton ve Hall, Tıbbi Fizyoloji, 2017).

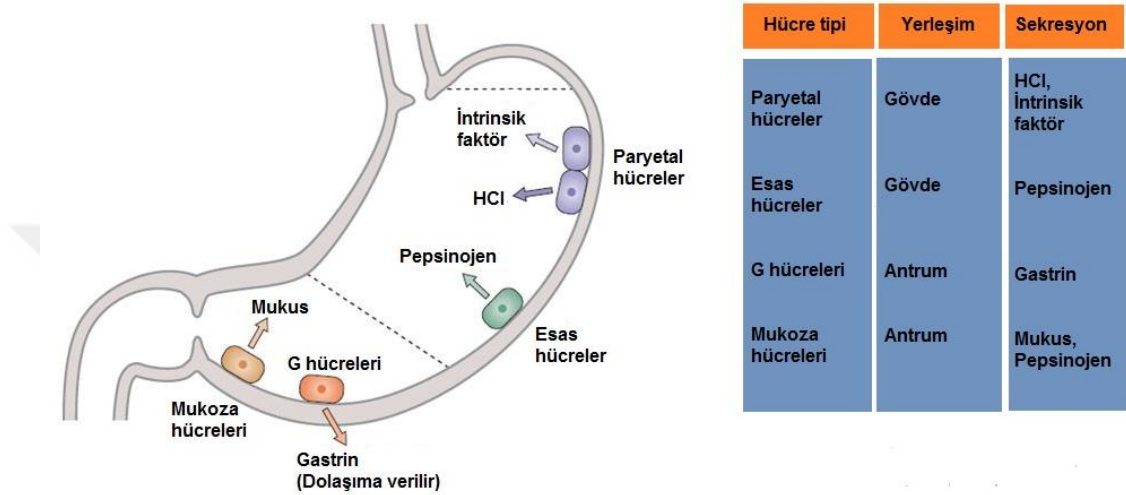


**Şekil-3.** Mide bezlerinin yapısındaki hücre tipleri (Barrett ve diğ., Ganong'un Tıbbi Fizyolojisi, 2019).

Paryetal hücreler HCl ve intrinsik faktörü salgılamak; esas hücrelerin sekrete ettiği ürün pepsinojendir. HCl ve pepsinojen birlikte protein sindirimi sürecini başlatır. İntrinsik faktör ise ileumda B12 vitamininin emilimi için gereklidir ve mide sıvısının tek temel bileşenidir (Calam ve Baron, 2001) (Şekil-3). Mukus da müköz hücreler tarafından salgılanır ve yüksek viskoz ve alkali bir içeriğe sahiptir. Bu alkali içeriği sayesinde alttaki mide duvarının yüksek asidik ve proteolitik enzim aktivitesi olan mide sekresyonuyla olan doğrudan teması engellenmiş olur ve mide duvarını HCl'in aşındırıcı etkisinden korur. Aynı zamanda mukus, besinlerin kayganlaştırılmasında görev alır (Guyton ve Hall, Tıbbi Fizyoloji, 2017).

Midenin antrumu, oksintik bezlere benzeyen fakat daha derin çukurlarla yapılandırılmış pilor bezlerini ihtiva eder. Yapısal olarak oksintrik bezlere benzer fakat daha az miktarda peptik hücre içerirler. İki hücre tipi vardır: **G hücreleri** ve **mukoza hücreleri** (Guyton ve Hall, Tıbbi Fizyoloji, 2017). Bu bezler büyük miktarda ince mukus salgılar ve aynı zamanda mide asit salgısının düzenlenmesinde ana role sahip

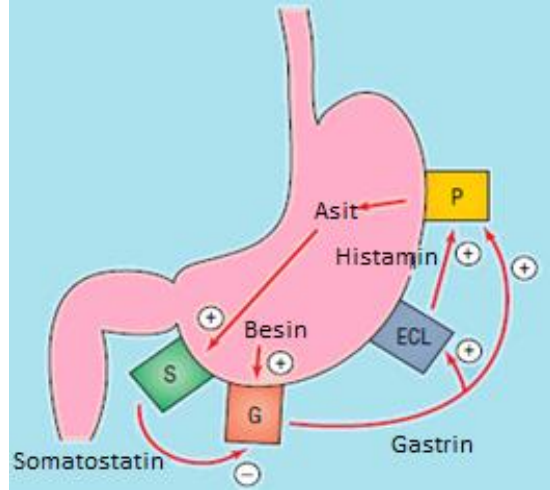
gastrin hormonu da salgılar. G hücreleri, pilor kanalına değil, direkt olarak dolaşıma gastrin salgılar. Mukoza boyun hücreleri ise mukus,  $\text{HCO}_3^-$  ve pepsinojeni salgılar (Şekil-4). Mukus ve  $\text{HCO}_3^-$  mide mukozası üzerinde nötrleştirici ve koruyucu bir etkiye sahiptir (Costanzo L. S., Fizyoloji, 2018). Salgılanan bu mukus besinlerin hareketini kayganlaştırır ve aynı zamanda mide duvarının mide enzimleri tarafından sindirilmesini önler (Guyton ve Hall, Tıbbi Fizyoloji, 2017).



Şekil-4. Gastrik hücre salgıları (Costanzo L. S., Fizyoloji, 2018).

#### 4.1.3.1. Mide asit sekresyonu

Mide mukozasındaki bazı özel hücreler asit sekresyonunun kontrolüne katkıda bulunur. Antrumdaki G hücreleri gastrin hormonunu sekrete eder ve bu hormon, korpustaki enterokromaffin benzeri hücreleri (ECL) üzerinde hareket eder. Bu aktivite sayesinde histamin salgılanması tetiklenerek parietal hücrelerden asit sekresyonu uyarılır. Gastrin aynı zamanda parietal hücreleri doğrudan uyararak ECL ve parietal hücrelerin büyümesini destekler. G hücreleri, ECL ve parietal hücrelerin hepsi, mide boyunca yer alan somatostatin hücrelerinden inhibitör peptit somatostatinin salgılanmasıyla düzenlenir (Calam ve Baron, 2001) (Şekil-5).

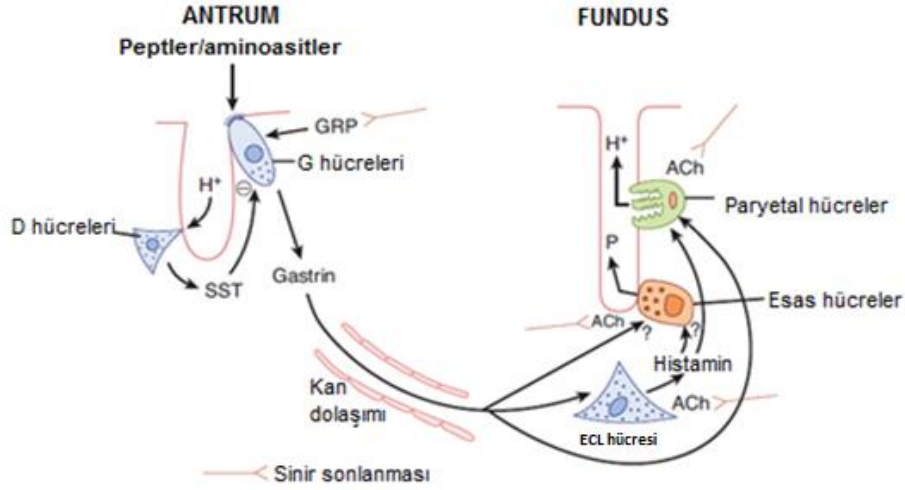


Şekil-5. Mide asit sekresyonunun etki mekanizması (Calam ve Baron, 2001).

#### 4.1.3.1.1. Mide asit sekresyonunun uyarılması

Oksintrik bezlerin paryetal hücreleri HCl salgılayan tek hücrelerdir. Bu hücreler, histamin salgılayan ECL hücreleriyle temas halindedir. Gastrin hormonu ECL hücrelerini uyarak histamin salgısını, histamin salgısı da paryetal hücrelerden HCl salgılanmasını uyarır (Barrett ve diğ., Ganong'un Tıbbi Fizyolojisi, 2019) (Şekil-6). Bu sıvının pH değeri yaklaşık 0,8'dir,  $H^+$  iyon konsantrasyonu bu pH düzeyinde arteriyel kandakinden yaklaşık üç milyon kat daha fazladır (Guyton ve Hall, Tıbbi Fizyoloji, 2017). Fizyolojik olarak, bu düşük gastrik pH'ın işlevi, parakrin etkiyle zimojen hücreler tarafından salgılanan inaktif haldeki pepsinojeni, aktif formu olan ve protein sindirim sürecini başlatan pepsine dönüştürmektir (Barrett ve diğ., Ganong'un Tıbbi Fizyolojisi, 2019). Bu salgılamada ana itici kuvvet hidrojen-potasyum pompası ( $H^+-K^+$  ATPaz) tarafından sağlanır. Mide sıvısındaki yüksek  $H^+$  iyon konsantrasyonu mukozaya az miktarda geri sızar. Asidin geri sızmasının önlenmesi mide bariyeriyle sağlanır (Calam ve Baron, 2001).

Mide salgılarını uyaran temel faktörler **histamin**, **asetilkolin (ACh)** ve **gastrin**dir (Soybel, 2015). Her biri bazolateral membranda spesifik reseptörlerine bağlanır ve farklı bir hücresel etki mekanizmasına sahiptir. Gastrin ve ACh mide salgısını sitozolik  $Ca^{2+}$  konsantrasyonunu yükselterek düzenler; histamin ise hücre içinde siklik adenosin 3,5-monofosfat (cAMP) düzeyini artırır. Bu iki ayrı yol sinerjik olarak çalıştığında salgılanma hızı oldukça yüksek düzeylere çıkar (Fox S. I., Human Physiology 2010).



**Şekil-6.** Gastrik asit ve pepsin sekresyonunun mediyatörleri (Barrett ve diğ., Ganong'un Tıbbi Fizyolojisi, 2019).

Histamin mide mukozasındaki ECL hücrelerinden salgılanır. Parakrin mekanizma ile  $H_2$  reseptörlerine bağlandığında yakındaki paryetal hücrelere yayılır (Şekil-6). Histamin için ikinci haberci cAMP'dir. Histamin, bir Gs proteini tarafından adenilat siklaz ile birleştirilen  $H_2$  reseptörlerine bağlanır. Adenilat siklaz aktive olduğunda cAMP üretimi artar ve cAMP, protein kinaz-A'yı etkileyerek paryetal hücreler tarafından  $H^+$  salgılanmasına yol açar (Yao ve Forte, 2003).

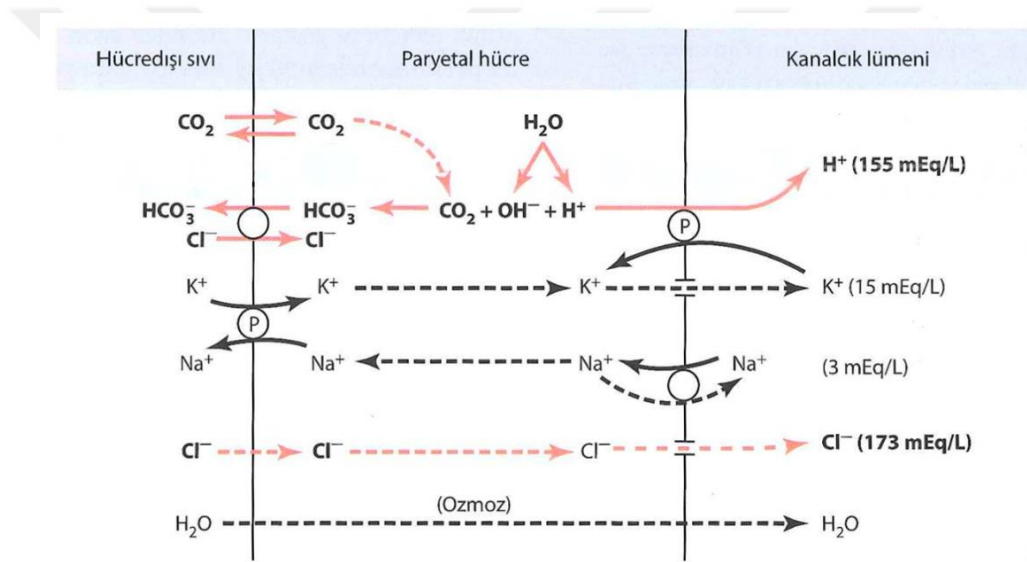
ACh, vagus sinirinden serbestlenir ve paryetal hücrelerdeki muskarinik ( $M_3$ ) reseptörlerine bağlanır. ACh için ikinci haberci inozitol trifosfat ( $IP_3$ ) yoludur. ACh muskarinik reseptörlere bağlandığında fosfolipaz C aktive edilir. Fosfolipaz C, membran fosfolipitlerden diaçilgliserol (DAG) ve  $IP_3$ 'ü serbest bırakır ve daha sonra  $IP_3$ , endoplazmik retikulumdan sitozole  $Ca^{2+}$  serbestlenmesini sağlar.  $Ca^{2+}$  ve DAG, nihai fizyolojik etkiyi, yani paryetal hücrelerin  $H^+$  salgısını üretmek üzere protein kinazları aktive eder. ACh ayrıca ECL hücrelerinden histamin salgılanmasını teşvik ederek dolaylı olarak  $H^+$  salgısını da artırır (Samuelson ve Hinkle, 2003) (Şekil-6).

Gastrin, mide antrumundaki G hücreleri tarafından dolaşıma salgılanır. Paryetal hücrelere lokal difüzyonla değil, bir endokrin mekanizmasıyla ulaşır. Böylece gastrin, mide antrumundan sistemik dolaşıma verilir ve daha sonra dolaşım yoluyla mideye geri gönderilir (Şekil-6). Gastrin, paryetal hücrelerdeki kolesistokinin (CCK) B reseptörlerine bağlanır (CCK-B reseptörü gastrin ve CCK için eşit afiniteye sahiptir, oysa CCK A reseptörü CCK için spesifiktir). ACh gibi, gastrin  $IP_3/Ca^{2+}$  ikincil haberci sistemi yoluyla  $H^+$  salgılanmasını uyarır. Bunun için uyaranlar midenin iritasyonu,

küçük peptitlerin ve amino asitlerin varlığı ve vagus sinirinin uyarılmasıdır. ACh gibi, gastrin ayrıca ECL hücrelerinden histamin salgılanmasına neden olarak dolaylı olarak  $H^+$  salgısını uyarır (Calam ve Baron, 2001; Soybel, 2005).

#### 4.1.3.1.2. Mide asit sekresyonunun hücresel mekanizması

Midenin lümenine bakan hücre zarlarına “apikal (luminal) membran” denir ve kan dolaşımına bakan hücre zarlarına “bazolateral membran” denir. Apikal membran  $H^+$ - $K^+$  ATPaz ve  $Cl^-$  kanallarını içerir; bazolateral membran  $Na^+$ - $K^+$  ATPaz ve  $Cl^-$  ile  $H-HCO_3^-$  kanallarını içerir. Hücreler karbonik anhidraz enzimi taşırlar (Samuelson ve Hinkle, 2003).



**Şekil-7.** HCl salgılanmasının hücresel mekanizması (Guyton ve Hall, Tıbbi Fizyoloji, 2017)

Paryetal hücrelerde gerçekleşen HCl'in sekresyonu şu adımlarda gerçekleşir (Ramsay ve Carr, 2011) (Şekil-7).

- 1) Hücre içi sıvıda, aerobik metabolizmadan üretilen karbondioksit ( $CO_2$ )  $H_2O$  ile birleşerek karbonik anhidraz enziminin katalizörlüğünde karbonik asidi ( $H_2CO_3$ ) oluşturur.  $H_2CO_3$  daha sonra  $H^+$  ve  $HCO_3^-$ 'e ayrışır.  $H^+$  ve  $Cl^-$  ile midenin lümenine salgılanır ve  $HCO_3^-$  kana emilir.
- 2) Apikal membranda  $H^+$ ,  $H^+$ - $K^+$  ATPaz yoluyla midenin lümenine salınır.  $H^+$ - $K^+$  ATPaz,  $H^+$  ve  $K^+$  'yı elektrokimyasal gradiyentine karşı taşıyan primer aktif taşımanın gerçekleştiği süreçtir.  $Cl^-$  apikal zardaki  $Cl^-$  kanallarından difüze edilerek  $H^+$  iyonunu lümene doğru takip eder.

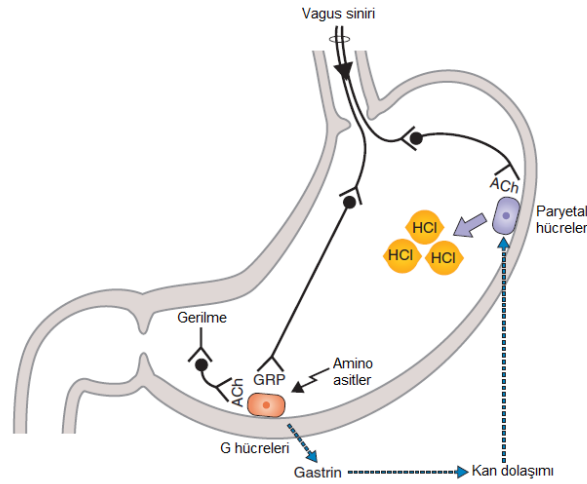
3) Bazolateral membranda,  $\text{HCO}_3^-$  ve bir  $\text{Cl}^-$  kanal vasıtasıyla hücreden kana emilir. Sonunda  $\text{HCO}_3^-$  pankreatik sekresyonlarda gastrointestinal sisteme tekrar geri salgılanır.

4) Eş zamanlı olarak, gastrik paryetal hücrelerin apikal ve bazolateral membranlarında meydana gelen olaylar,  $\text{HCl}$ 'nin net sekresyonuna ve  $\text{HCO}_3^-$  'ın net emilimine yol açar.

#### **4.1.3.1.3. HCl sekresyonunun inhibisyonu**

HCl salgılanması, pepsinojenin pepsine aktivasyonu için HCl'ye artık ihtiyaç kalmadığında, diğer bir ifadeyle kimus ince bağırsağa geçtiğinde inhibe edilir. Yani HCl salgılanmasının ana inhibitör kontrolü mide içeriğinin pH'sının azalmasıdır (Costanzo L. S., Fizyoloji, 2018). Midede besin olduğunda  $\text{H}^+$  salgılanır ve mide içeriği asitleştirilir. Daha sonra kimus duodenuma geçtiğinde, tamponlama kapasitesi azalır ve ayrıca  $\text{H}^+$  salgısı mide pH'sını daha düşük değerlere getirir. Bu düşük pH daha sonra gastrin sekresyonunu inhibe eder, bu da  $\text{H}^+$  sekresyonunu azaltır (Daniels ve Allum, 2005).

Paryetal hücreler tarafından  $\text{H}^+$  salgılanması için ana inhibitör mekanizma somatostatini içerir. Midede D hücreleri tarafından salgılanan somatostatin, hem doğrudan yoldan hem de dolaylı yollardan gastrik  $\text{H}^+$  sekresyonunu baskılar. Doğrudan yolda, somatostatin, bir  $\text{Gi}$  proteini aracılığıyla paryetal hücrelerdeki reseptörlere bağlanır. Somatostatin reseptörüne bağlandığında,  $\text{Gi}$  aktive edilir, adenilat siklaz inhibe edilir ve cAMP seviyeleri azaltılır; bu şekilde, somatostatin, histaminin  $\text{H}^+$  salgısı üzerindeki uyarıcı etkisini antagonize eder. Dolaylı yolda somatostatin hem ECL hücrelerinden histamin salgılanmasını hem de G hücrelerinden gastrin salgılanmasını bloke eder (Şekil-8). Bu dolaylı etkilerin net sonucu olarak histamin ve gastrinin uyarıcı etkileri azalır. Somatostatine benzer şekilde, prostaglandinler de bir  $\text{Gi}$  proteinini aktive ederek ve adenilat siklazı inhibe ederek histaminin  $\text{H}^+$  salgılanması üzerindeki uyarıcı etkisini antagonize ederler (Costanzo L. S., Fizyoloji, 2018).



**Şekil-8.**Gastrin hormonunun sekresyonu ve etki mekanizması (Barrett ve diğ., Ganong'un Tıbbi Fizyolojisi, 2019).

## 4.2. Mide Ülseri

### 4.2.1. Mide ülserinin tanımı

Mide ülseri, gastrik mukozanın harabiyeti sonucu oluşan lezyonlar olarak tanımlanır. Midede mukozal bütünlüğün bozulması, savunma mekanizmalarının zayıflaması ve agresif faktörlerin varlığıyla ilişkilidir (Harbison ve Dempsey, 2005).

### 4.2.2 Mide ülserinin epidemiyolojisi

Hastalık dünya genelinde yaygın prevalansa sahiptir, özellikle genç popülasyon başta olmak üzere nüfusun yaklaşık %5-10'unu etkileyen ciddi bir küresel sağlık problemidir (Sumbul ve diğ., 2011; Thorsen ve diğ., 2013).

### 4.2.3. Mide ülserinin etiyolojisi

Hastalığın patofizyolojik temelinde mide asit sekresyonunda artış ve mukozal bariyerdeki bozulma yatmaktadır. Bunun yanı sıra *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) enfeksiyonu, sigara ve alkol tüketimi, stres, travma, NSAİİ kullanımı, beslenme alışkanlıkları ve genetik yatkınlık etiyolojik nedenleri arasında yer alır (Mulholland ve Debas, 1987; Hunt ve ark., 2015). Bunlar içerisinde NSAİİ, alkol kullanımı ve stres ülsera yol açan majör faktörlerdir. NSAİİ çoğunlukla analjezik, anti-piretik ve anti-inflamatuvar ajan olarak kullanılmaktadır (Cooke, 1996; Sánchez-Fidalgo ve diğ., 2004) ve bu ilaçların ölçsüz kullanımı mide mukozasında tahribata yol açar (Davies

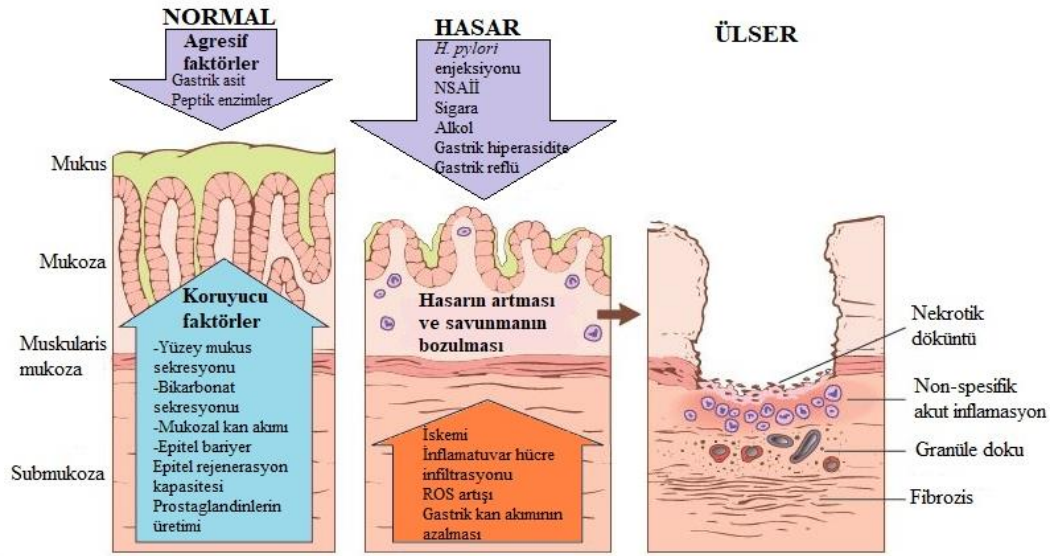
ve ark., 2000). Sonuçta midede kanama, perforasyon ve ülserasyon alanları gelişir. Kanama genellikle ilk gelişen komplikasyondur ve hastaların üçte birinde görülür, perforasyona ise nispeten daha az sayıda hastada rastlanır. Özellikle *H. pylori* ve NSAİİ, dokuda asit ve pepsin gibi agresif faktörlerin artışına sebep olmaktan ziyade koruyucu mekanizmaları ekarte ederek ülsera yol açar. NSAİİ mukus sekresyonunu azaltırken, *H. pylori* proteaz enzimleriyle mukus yıkımına neden olmaktadır (Pawlik ve ark., 2002).

#### **4.2.4. Mide ülserinin patofizyolojisi**

Hastalık midede gastrik asidin aşırı salgılanması, miyeloperoksidaz aktivitesinde lokal artışa sebep olan inflamatuvar hücre infiltrasyonu, azalmış mide motilitesi ve azalmış gastrik kan akımıyla karakterizedir (Singh ve ark., 2007).

Mukozal savunmanın kritik mekanizmaları şunlardır: yüzey epitel hücrelerinin sağlam tabakası, bu tabakanın hücreleri hasar gördüğünde ya da kaybolduğunda hızlı bir şekilde tamiri, mukusun varlığı, luminal bikarbonatın varlığı, bikarbonatın alkali gelgitini tamponlayan  $H^+$  iyonlarının bulunduğu serozal kısım, mukozal kan akımı, büyüme ve anjiyogenez faktörleri ve motilitedir. Bu karmaşık “sitoproteksiyon” sürecinin önemli araçları prostaglandinler (özellikle PGE2), NO, kalsitonin geni ile ilişkili peptit (CGRP) ve çeşitli gastrointestinal sistem hormonlarıdır (Harbison ve Dempsey, 2005). Bu koruyucu faktörler ile agresif faktörler arasındaki dengenin bozularak agresif faktörler lehine kayması gastrik lezyonların oluşmasında rol oynar (Cho ve ark., 1992; Sánchez-Fidalgo ve diğ., 2004). Gastrik mukozadaki savunma mekanizmalarında kırılmaya sebep olan etkenler ise; gastrik mukozal bariyeri aşan  $H^+$  iyonlarının mukozaya geri difüzyonu, lokal mukozal iskemi, bikarbonat ve mukus sekresyonlarında bozulma, hücre dökülmesinde hızlanma veya hücre yenilenmesinde azalmadır (Harbison ve Dempsey, 2005) (Şekil-9).

Mide mukozasına yeterli kan ve oksijen desteğinin sağlanamadığı durumlarda ortaya çıkan ve iskemiyle sonuçlanan mikrosirkülasyondaki tahribat gastrik erozyonlara neden olabilir. Dokuda meydana gelen bu lezyonlar damarların, düz kas hücrelerinin ve subepitelyal miyofibroblastların hasar görmesinden kaynaklanır (Al Asmari ve ark., 2016) (Şekil-9).



**Şekil-9.** Mide ülserin patolojisi (Nelson Fausto, Robbins ve Cotran, Hastalığın Patolojik Temeli, 2008).

Gastrik mukozal savunmanın ilk hattı, mukus-bikarbonat-fosfolipit bariyeridir (Anand ve diğ., 1999; Lichtenberger, 1999). Mide mukozasının yüzeyi mukus, bikarbonat anyonları ve sürfaktan fosfolipitlerinden oluşan bir tabakayla kaplıdır. Mideyi döşeyen yüzey epitel hücrelerinin ürettiği mukus, asit ve pepsinin lümeninden mukozaya geçişini engeller. Aynı zamanda bu tabaka,  $\text{HCO}_3^-$  iyonlarını tutabilir ve mukus-mukoza arasında pH değeri yaklaşık 7 olan mikroçevreyi muhafaza edebilir. Mukus tabakası ayrıca pepsin penetrasyonunu önleyebilir ve böylece epitelin proteolitik sindirimini önler (Allen ve Flemström, 2005).

Gastrik mukus sekresyonu gastrin ve sekretin gibi gastrointestinal hormonların yanı sıra PG ve ACh tarafından düzenlenir.  $\text{HCO}_3^-$  iyonun mukus tabakasına salgılanması, epitel yüzeyinde mide asidine karşı ilk savunma hattını temsil eden pH gradientinin korunması için elzemdir (Allen ve Flemström, 2005). Yüzey epitel hücrelerinin apikal membrandan  $\text{HCO}_3^-$  salgılanmasına  $\text{Cl}^-$ - $\text{HCO}_3^-$  anyon değişiricisi ile PGE (EP1 reseptörleri aracılığıyla), luminal asit, kortikotropin serbestleştirici faktör (CRF), melatonin, üroguanilin ve oreksin A gibi çeşitli faktörler aracılık eder (Holzer, 2000; Allen ve Flemström, 2005).

Mukus-bikarbonat bariyeri, epiteli gastrik lümeninden ayıran tek sistemdir. Bu yüzden koruyucu bariyer patolojik nedenlerle kırıldığında veya zararlı ajanlar tarafından nekroza uğradığında ikinci savunma mekanizması devreye girer. Bu hat intraselüler

asit nötralizasyonu, hızlı epitel onarımı ve mukozal kan akımının sürdürülmesini içerir. Yüzey epitel hücrelerinin kesintisiz tabakası, bir sonraki mukozal savunma hattını temsil eder. Bu epitel doku, mukus, bikarbonat ve gastrik mukozal bariyerin diğer bileşenlerinin üretiminden sorumludur (Holzer, 2001). Bu hücrelerin yapısı hidrofobiktir ve yüzeylerindeki fosfolipit sayesinde asit ve suda çözünebilir toksik ajanları itebilirler (Lichtenberger, 1999; Takahashi ve diğ., 2000). Yüzey epitel hücreleri de sıkı bağlantılarla birbirine bağlanır, bu da asit ve pepsin geri difüzyonunu önleyen sürekli bir bariyer oluşturur (Allen ve Flemström, 2005).

Epitel hücrelerinde bulunan bir diğer ilgili koruyucu faktör sıcaklık artışları, oksidatif stres ve sitotoksik ajanlar dahil strese tepki olarak aktifleşen ısı-şok proteinleridir (Tanaka ve ark., 2007; Laine ve diğ., 2008). Bu proteinler protein denatürasyonunu önleyebilir ve hücreleri yaralanmaya karşı koruyabilir. Gastrik epitelin bütünlüğü, mukozal progenitör hücreler tarafından sağlanan sürekli hücre yenilenme süreciyle korunur. Bu hücreler, epitelyal yüzeyde hasarlı veya yaşlı hücrelerin değiştirilmesini sağlayan sürekli, koordineli ve kontrollü proliferasyonu gerçekleştirir. Doku savunma sistemi, hücre hasarının üstesinden gelemediğinde bazal membranda harabiyet kaçınılmazdır ve bu durumda sıklıkla lezyonlar gelişebilir. Tam bir epitelyal rejenerasyon süreci yaklaşık 3-7 gün sürerken, genel glandüler hücre replasmanı aylar gerektirir. Bununla birlikte, hasardan sonra yüzey epitelinin geri dönüşü çok hızlı bir şekilde gerçekleşir (yani birkaç dakika) ve mide bezlerinin boyun bölgesinde bulunan hücrelerin göçüyle sonuçlanır (Laine ve diğ., 2008). Böylece dokunun tamiri sağlanarak yeniden yapılanma gerçekleşir.

Mukozal kan akımı, gastrik mukozaya oksijenle besin maddelerinin sağlanması ve mide mukozasından toksik metabolitlerin uzaklaştırılması için esastır. Arterler muskularis mukozaya gömülüdür ve burada kılcıl damarlara dal verir, daha sonra lamina propriaya girer ve glandüler epitel hücrelerinin yakınlarına doğru ilerler. Bu mikrodamarları kaplayan düz kas endotel hücreleri, güçlü vazodilatörler olarak işlev gören nitrik oksit (NO) ve prostasiklin (PGI<sub>2</sub>) üretir. Böylece mide mukozası hasara karşı korunur ve lökotrien C<sub>4</sub>, tromboksan A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) ve endotelin dahil olmak üzere çeşitli vazokonstriktörlerin zararlı etkileri engellenir. Ek olarak NO ve PGI<sub>2</sub>, endotelial hücrelerin canlılığını korur ve mikrovasküler trombosit ve lökosit adezyonunu önleyerek mikro-iskemik olayların ortaya çıkmasının önüne geçer (Laine

ve diğ., 2008). Mide mukozası tahrip edici iritanlara ya da asit geri emilimine maruz kaldığında, mukozal kan akımında büyük ve hızlı bir artış meydana gelir. Bu süreç, asit geri emiliminin dilüsyonuna veya zararlı ajanların uzaklaştırılmasına izin verir. Kan akımındaki artış, mide mukozal hücre hasarını önlemek için önemli bir mekanizma olarak kabul edilir ve dolayısıyla akımın azalması veya geçici kaybı dokuda nekroz gelişmesine yol açar. Mukozal kan akımındaki artışa NO serbestlenmesi aracılık eder ve NO gastrik mukozayı etanol veya endotelin-1 ile indüklenen yaralanmaya karşı korurken, NO sentazın inhibisyonunun mukozal yaralanmayı artırdığını gösteren deneysel kanıtlar vardır (Holzer, 2006) Sonuç olarak endojen NO'nun kan akımının sürdürülmesinde, granülasyon dokusunda anjiyogeneze ve mide ülseri iyileşmesinde önemli bir rol oynadığı görülmektedir (Ma ve diğ., 2002; Okabe ve Amagase, 2005).

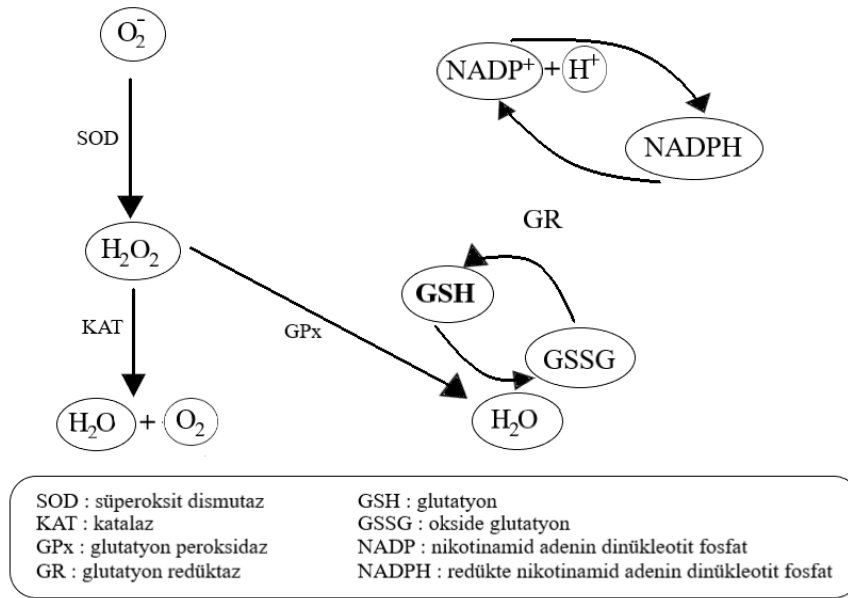
Gastrik mukoza ve submukozanın damarları, mukozal katmanın tabanındaki pleksusta düzenlenen ekstrinsik primer aferent duyu nöronları tarafından inerve edilir. Bu pleksustan kaynaklanan sinir lifleri kılcal damarlarla birlikte ilerler ve yüzey epitel hücrelerinin bazal membranına ulaşır. Bu sinirler lüminal asitliği ve asit geri emilimini tespit edebilir. Bu duysal sinirlerin aktivasyonu, submukozal arteriyollerin tonusunu modüle eder ve bu sayede mukozal kan akımını düzenler. Özellikle bu duysal sinirlerin uyarılması, CGRP ve P maddesinin büyük submukozal damarları çevreleyen sinir terminallerinden serbestlenmesine yol açar (Holzer, 2006). CGRP daha sonra NO sekresyonuna aracılık ederek submukozal damarların vazodilatasyonu aracılığıyla mukozal bütünlüğün korunmasına katkıda bulunur. Duysal inervasyonun mide mukozasının yaralanmalardan korunmasında önemli rol oynadığı, duysal inervasyon (kapsaisin aracılı) ablasyonunun vazodilatör yanıtı bozduğu ve gastrik mukozanın hasar verici ajanlara duyarlılığını artırdığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Holzer, 2006).

Mide mukozası, mukozal bütünlüğün korunması ve zararlı faktörlere karşı koruma için önemli kabul edilen PGE2 ve PGI2 üretiminin kaynağıdır (Halter ve ark., 2001; Konturek ve diğ., 2005). Prostaglandinlerin neredeyse tüm mukozal savunma mekanizmalarını uyarma potansiyeline sahip olduğu gösterilmiştir. Mukus ve bikarbonat sekresyonu seviyelerini koruyarak gastrik kan akımını regüle eder. Bu sayede bakteri kolonizasyonuna ve mekanik yaralanmaya karşı koruyucu bir bariyer

görevi gören mukusu artırmaya yardımcı olur. Mukozal immün hücre fonksiyonunu ve bazal asit salınımını kontrol eder. Gastrik sistemdeki PGE2 aktivasyonu gastrik mukozal savunma mekanizması için önemlidir. Endojen PGE2 özellikle asit debisini azaltır; mukus, bikarbonat ve fosfolipit üretimini uyarır. Aynı zamanda epitelyal proliferasyonu stimüle ederek tamir sürecine katkıda bulunur. PG mukozal kan akımının artmasını regüle eder (Wallace ve diğ., 2005; Wallace, 2008). PG'nin mast hücresi aktivasyonunun yanı sıra vasküler endotele lökosit ve trombosit adezyonunu önlediği de bilinmektedir (Halter ve ark., 2001; Brzozowski ve diğ., 2005).

Oksidatif stresin uyarılması ve pro-inflamatuvar sitokinler ile mediyatörlerin üretimi de ülser sürecinde kritiktir. Serbest radikallerin üretimi midede mukozal lezyonların gelişimine aracılık eder (Del Soldato ve diğ., 1986; Parks, 1989; Yoshikawa ve diğ., 1990 Vaananen ve ark., 1991). Gastrotoksik ajanlar ve koruyucu mekanizmalar arasındaki dengenin bozulmasıyla dokuda akut inflamasyon meydana gelir. Gelişen akut inflamasyonda interlökin (IL)-1 $\beta$  ve tümör nekroz faktörü (TNF)- $\alpha$ , birincil rol oynayan majör pro-inflamatuvar sitokinlerdir (Singh ve ark., 2007). Bu sürece mide mukozasına nötrofil infiltrasyonu eşlik eder. Nötrofiller süperoksit radikal anyonunu (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) üretir ve bu radikal anyon, hücrenin yapısındaki lipitlerle reaksiyona girerek malondialdehit (MDA)'e metabolize olur, nihayetinde dokuda lipit peroksidasyonu başlatır (Kwiecien ve diğ., 2002).

Organizma, reaktif oksijen türlerini ortamdaki süpüren ve yıkıcı etkilerini önleyen enzimatik sistemlere sahiptir. Bunların başlıcası süperoksit dismutaz (SOD)'dır. Bu enzim O<sub>2</sub>'nin daha az zararlı hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)'e parçalanmasını katalizler. Katalaz da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in su (H<sub>2</sub>O) ve O<sub>2</sub>'ne degradasyonunu hızlandıran enzimdir ve böylece H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> non-toksik hale dönüştürülür. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> metabolizmasının ikinci yolu, glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitesine ve müşterek çalışan glutatyon redüktazına bağlıdır. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in suya glutatyon peroksidaz ile indirgenmesine, glutatyonun indirgenmiş formdan (GSH) oksitlenmiş formuna (GSSG) çevrilmesi eşlik eder (Şekil-10). Ortamdaki reaktif oksijen türlerinin aşırı artmasıyla, bu enzimatik basamaklar sekteye uğrar ve sonucunda gastrik mukozal hasar kaçınılmaz hale gelir (Whittle, 2003; Lamarque, 2004).



**Şekil-10.** Organizmada reaktif oksijen türlerinin oluşumu (Kwiecien ve diğ., 2002).

Gastrik mukozal savunma kısmen merkezi sinir sistemi ve hormonal faktörler tarafından aktive edilen mekanizmalarla desteklenir (Laine ve ark., 2008). Deneysel çalışmalar, santral vagal aktivasyonun mukus sekresyonunu uyardığını ve midenin yüzey epitel hücrelerinde hücre içi pH'ı artırdığını göstermiştir. Ek olarak, kortikotropin serbestleştirici faktör (CRF) yolu strese karşı endokrin yanıtı kapsar (Chatzaki ve diğ., 2006). Ayrıca periferel CRF, gastrik savunma mekanizmalarının düzenlenmesine önemli ölçüde katkıda bulunur. Özellikle CRF2 reseptörünün, gastrik epitel hücrelerinde anti-apoptotik etkilere aracılık ettiği ve aynı zamanda mide boşalmasını ve motilitesini inhibe ettiği bilinmektedir (Chatzaki ve ark., 2006).

Duyusal aferent sinirlerden NO ve CGRP sekresyonunun uyarılmasıyla mukozal kan akımının artırılması da dahil olmak üzere midede önemli koruyucu mekanizmalar stimüle edilir (Brzozowski ve ark., 2005). Glukokortikoidlerin, mide seviyesinde koruma mekanizmalarını desteklediği gösterilmiştir. Bu hormonlar strese yanıtta yer alır ve yaralanmaya karşı güçlü gastroprotektif faktörleri temsil eder. Bu iddia ile tutarlı olarak, glukokortikoid antagonistleri stres kaynaklı erozyonların şiddetini artırmış ve bu hormonların stres sırasında koruyucu rolünü desteklemiştir (Filaretova ve ark., 2001). Glukokortikoidlerin koruyucu etkilerini uyguladıkları mekanizmalar arasında glikoz homeostazının sürdürülmesi, mukozal kan akımının artışı ve mukus

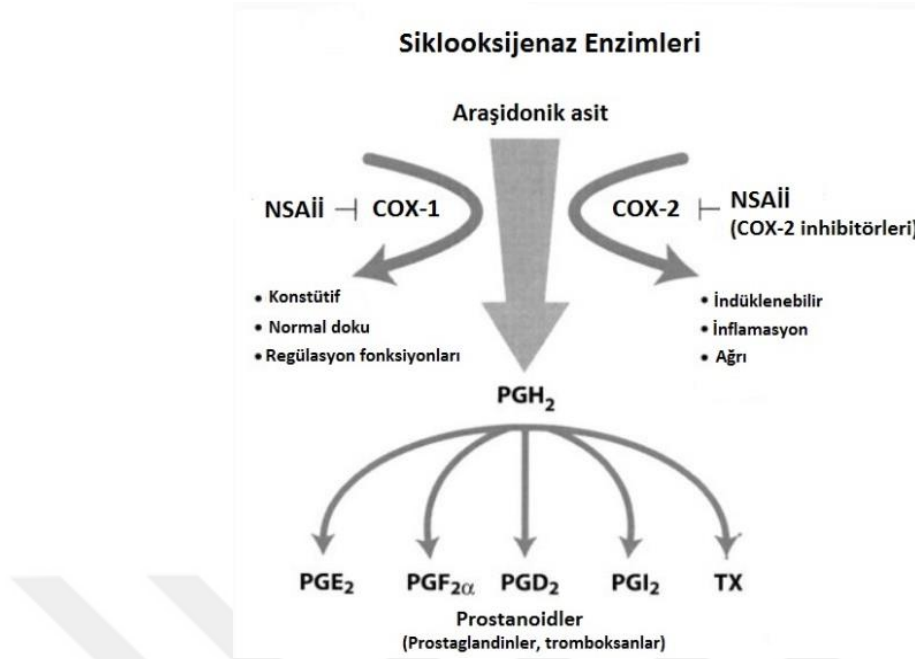
salgılanması hem mide motilitesinin hem de mikrovasküler geçirgenliğin artırılması yer alır (Filaretova ve diğ., 2007).

#### **4.2.3. Deneysel mide ülseri modelleri**

Belirgin gastrik erozyonları indükleyen ve deney hayvanları üzerinde oldukça sık kullanılan ülser modelleri mevcuttur. Bu modeller, patojenik mekanizmaların aydınlatılmasına ve yanı sıra, yararlı terapötik müdahaleler üzerinde çalışılmasına da izin vermiştir (Lee, 2000). Deneysel ülser çalışmalarında sıklıkla kullanılan modeller şu şekilde özetlenebilir:

##### **4.2.3.1. NSAİİ ile oluşturulan mide ülseri modeli**

NSAİİ sınıfı ilaçlar, klinikte özellikle romatoid artrit tedavisinde kullanılan ağrı kesici, yangı önleyici, ateş düşürücü etkileri olan ajanlardır (Vane, 2000; Hultqvist ve diğ., 2006). Uzun süre ve/veya yüksek doz indometazin kullanımının mide mukozasında erozyona, ülseratif lezyonlara ve peteşiyal kanamalara sebep olduğu bilinmektedir (McCarthy, 1995; Sumbul ve ark., 2011). NSAİİ'nin neden olduğu gastrik ülserasyon patogenezinde, araşidonik asitten prostaglandinlerin sentezi için gerekli COX enzimlerinin aktivitelerini bloke etmesi ve sonucunda epitel hasarına yol açması yatar (Wallace ve diğ., 2000). COX enzimleri, araşidonik asit metabolizmasının vücut savunma hattındaki en önemli yollardan birini oluşturur (Şekil-11). COX enziminin vücutta iki izomeri vardır: Bunlardan COX-1 yapısal formdur. Damar endoteli, mide mukozası, böbrek, kalp ve trombosit hücrelerinde bulunur. Fizyolojik fonksiyonları düzenleyen, mide bariyeri için kritik öneme sahip PG (özellikle PGE2 ve PGI2) üretiminden sorumludur (Pawlik ve ark., 2002). Diğer izoform COX-2 ise çoğu dokuda bir dizi uyarana yanıt olarak, inflamasyon durumlarında PG üreten indüklenabilir formdur (Wallace ve ark., 2005). COX-2 makrofajlarda ve diğer inflamatuvar hücrelerde yer alır. Lökosit adezyonunu önler ve kan akımını sürdürmeye yardımcı olur (Wallace ve Miller, 2000).

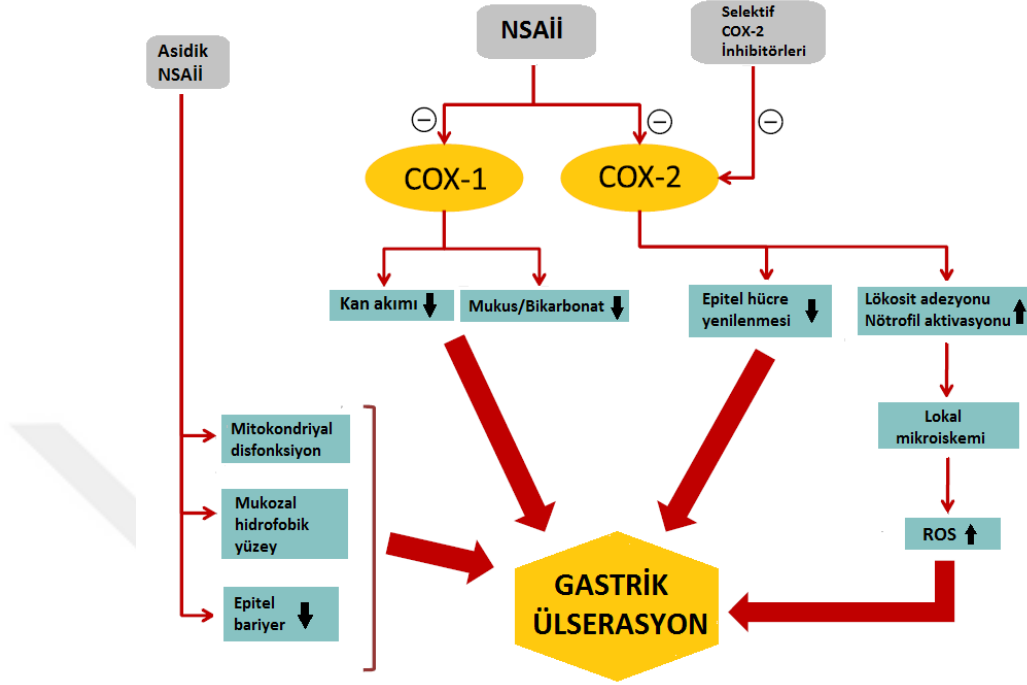


**Şekil-11.** Araşidonik asit metabolizması.

Bu grupta yer alan bir ilaç olan indometazin COX-1 ve COX-2 enzimlerini inhibe ederek sitoprotektif homeostatik mekanizmaların kaybına ve dolayısıyla mide lezyonlarına sebep olur (Adinortey ve diğ., 2013) veya mevcut hasarı şiddetlendirir (Delaney ve diğ., 2007; Sostres ve ark., 2013). COX enzimlerinin baskılanması PG üretimini azaltır (Sabiü ve ark., 2015) ve sonuçta mide mukozası endojen ve ekzojen saldırılara duyarlı hale gelir. İndometazin PGE<sub>2</sub>, bikarbonat, mukus üretimini bloke ederek (Wallace ve ark., 2000); mide asit sekresyonunu artırarak; oksidan parametrelerin düzeylerini yükselterek; anti-oksidan parametrelerin seviyesini ise düşürerek mide hasarının oluşmasına yol açar (Şekil-12).

Gastrik bikarbonat ve mukus sekresyonunun azalması NSAİİ'ye bağlı erozyonları daha da artırır (Davenport, 1967). Dolayısıyla mide koruyucu mekanizmayı engellemekle kalmaz, nötrofil aktivasyonunu stimüle ederek doku harabiyetine neden olur ve mukozal kan akımını azaltır. Neticede indometazinin de dahil olduğu NSAİİ lipid peroksidasyonunu başlatan, reaktif oksijen türlerini üreten ve böylece mukozal hücrelerin anti-oksidan sistemlerine müdahale eden, ayrıca lökosit adezyonunu indükleyen ve inflamatuvar yanıtı artıran bir pro-oksidan katalizör görevi görür (Suleyman ve diğ., 2010; Tarnawski ve ark., 2013). Artan gastrik asit, pepsin ve reaktif oksijen türleri gibi agresif faktörler, yeterli mukozal kan akımı, mukozal bikarbonat

bariyeri, endotel hücre rejenerasyonu ve PGE2 üretimi gibi koruyucu faktörleri ezdiğinde bu dengesizlik ülser oluşumuna yol açabilir (Li ve diğ., 2006).



Şekil-12. NSAİİ'lerin ülserine sebep olan mekanizması (Fornai ve ark., 2011).

PG inhibisyonunun yanı sıra ROS, inflamatuvar sitokinler, lipid peroksidasyonu, nötrofil aktivasyonu, apoptoz ve mukozal kan akımının bozulması gastrik mukozal hasarı indükler (Takeuchi ve diğ., 1991; Ding ve ark., 1998; Wallace ve Devchand, 2005). Bununla birlikte, mide mukozasına yeterli kan akımını sağlayan bir vazodilatör olan NO'nun aşırı üretimi ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ekspresyonunun artması da indometazin ile indüklenen mide ülseri patogenezinde rol oynar (Bauer ve diğ., 1997). Mide ülserinin akut fazında pro-inflamatuvar bir sitokin olan TNF- $\alpha$ 'nın up-regülasyonu söz konusudur (Abbas ve Sakr, 2013). TNF- $\alpha$  mide paryetal hücrelerinin apoptozuna neden olabilir (Neu ve diğ., 2003) ve konstitütif nitrik oksit sentazın (cNOS) inhibe edebilir (Bauer ve diğ., 1997). Sonuç itibarıyla interlökinlerin (IL-1 $\beta$  ve IL-6) ve nötrofillerin toplanması ile serbest radikallerin üretimi oksidasyon dengesizliğine yol açar (Handa ve ark., 2004). Nötrofiller ve makrofajlar, reaktif oksijen türlerin üretimi ve doku hasarına neden olan proteolitik enzimleri ve lökotrienleri serbestleyerek ülser gelişimi sürecine katılırlar (Whittle, 2003; Jiménez ark., 2004).

İntragastrik veya parenteral olarak verilen aspirinin hayvanlarda ve insanlarda mide mukozası lezyonlarına neden olabileceği iyi bilinmektedir (Bugat ve diğ., 1976; Kauffman ve Grossman, 1978). Aspirin, PG biyosentezini inhibe ederek mide mukozasında hasara neden olur. Mide üzerinde ülserojenik etkisinin 7-8 saat olduğu bildirilmiştir (Vane, 1971). Bu etkinin, mide mukozasının asit çözeltisine maruz bırakılmasıyla arttığı bulunmuştur. Aspirin lipitte çözündüğü için plazma membranını kolayca aşabilir. Oral olarak alındığında asidik mide içeriğinde bulunur ve bundan dolayı hızla emilir. Gastrik mukozal toksisitesi epitel hücrelerde biriktiği için yüksek pH gösterir, mitokondriyal fosforilasyonu ve hücre tampon sistemini bozar ve hücre hasarına neden olabilir (Konturek ve diğ., 1981). Bu "bariyer kıran" ajan, vasküler tıkanıklık, ödem ve plazmanın lümene geçişiyle mast hücreleri tarafından intramukozal histamin salgılanmasına yol açar (Konturek ve diğ., 1981). Aspirin dışında ibuprofen ve ketoprofen gibi NSAİİ'ler de akut ülser modeli oluşturmak için kullanılır.

#### **4.2.3.2. Etanol ile oluşturulan mide ülseri modeli**

Etanol, gastrik ülser gelişimi için bir risk faktörü olarak kabul edilir. Doğrudan toksik etkiyle hayvanların mide mukozasında nekrotik lezyonlara neden olur. Etanol midede bikarbonatların salgılanmasını azaltır ve mukus üretimini inhibe eder (Marhuenda ve diğ., 1993). Dahası, etanol kaynaklı membran hasarı plazma zarında artmış iyon geçirgenliğiyle ilişkilidir. Ayrıca, mide mukozal hasarının patogenezinde önemli bir adımı temsil eden hücre içi  $Ca^{2+}$  birikimine yol açar. Bu da yüzey epitelinde hücre ölümüne ve dökülmeye yol açar (Massignani ve ark., 2009).

Etanol kaynaklı gastrik mukozal lezyonlar değişen miktarlarda (0,5-2,0 ml) ve konsantrasyonda (%50-100), intragastrik yolla uygulanmasıyla oluşturulabilir. Etanol uygulamasından 1-2 saat sonra incelendiğinde midede hemorajik erozyonlar ve ülserin geliştiği gözlenebilir. Ekzojen uygulanan PG'lerin absolut etanol (%99) dozundan önce verilmesinin genellikle hemorajik gastrik mukozal hasarı önlediği bilinmektedir. Bu etkinin azalmış mide asidi sekresyonuyla ilgili olmadığı ortaya konulmuştur (Robert ve diğ., 1979). PG'lerin gastrik sekresyon inhibisyonundan farklı bir mekanizma ile ülser hafifletici etki göstermeleri "sitoproteksiyon" terimiyle tariflenmektedir. Bununla birlikte, etanol kaynaklı gastrik yüzey epitelinde oluşan

hasarın sadece epitel altına prostaglandin uygulamasıyla önlenmediğini gösteren ayrıntılı histolojik raporlar nedeniyle tartışmalar ortaya çıkmıştır (Robert ve diğ., 1984). Robert, sitoproteksiyon tanımını, yüzey epiteli altındaki dokuda meydana gelen etanol hasarına karşı korumayı kapsayacak şekilde değiştirmiştir (Lacy ve Ito, 1982). Etanol HCl ve pepsinin proteolitik etkilerini aktive ederek mide mukozasına kolayca penetre olur ve sonuçta midede koruyucu mukozanın çözülmesine yol açar (Oates ve Hakkinen, 1988). Vasküler endotelin bozulması ve geçirgenliğinin artması asit sekresyonunu stimüle eder ve mikrovasküler hasara yol açar. Bu durum dokuda kan akımının azalmasıyla sonuçlanır. Etanol ayrıca hücrel antioksidan sistemleri de bozar (Arafa ve ark., 2003; Kim ve diğ., 2005). NO sisteminin vazodilatör etkisinin etanol tarafından modülasyonu gastrik mukozal kan akımının azalmasına neden olur (Glavin ve Szabo, 1992; Repetto ve Llesuy, 2002). Azalan kan akımı, mideyi pepsin ve mide asidine daha fazla maruz bırakır ve mukozanın direncini bozar.

#### **4.2.3.3. Pilor ligasyonu ile oluşturulan mide ülseri modeli**

Pilor ligasyonu, çeşitli ilaçların gastrik sekresyon üzerindeki etkinliğini araştırmak için kullanılan bir deneysel modeldir. Midenin pilorik ucunun bağlanması, ülser üreten midede asit akümülyasyonuna neden olur (Shay, 1945). Bu nedenle, temel olarak pilor tıkanıklığına bağlı asit-pepsin birikimindeki artış daha sonra mukozanın sindirilmesine neden olur.

#### **4.2.3.4. Stres ile oluşturulan mide ülseri modeli**

Stres ülserin güçlü bir indükleyicisidir. John Hunter ilk defa 1772’de ülser oluşumunda stresin etkili olabileceğine dikkat çekmiştir. Cushing ise 1932’de stres ülserlerinin hipotalamik lezyonlarla bir arada görülmesinin sık rastlanılan bir durum olduğunu bildirmiştir (Karasu, 2001). Yanıklar (Curling ülseri), santral sinir sistemi travması (Cushing ülseri, intrakraniyal travma), şok, sepsis, çoklu organ yetmezliği, respiratuvar yetmezlik, hipotansiyon, hatta sistemik enfeksiyonlar dahil çeşitli faktörler üst gastrointestinal bölgede kanama ve lezyon gelişmesine sebep olur (Glavin ve Szabo, 1992). Lezyonlar özellikle midenin korpus ve fundus bölümünde daha sık görülür ve genellikle yüzeysel ve geniş hemorajik erozyonlar şeklinde ortaya

çıkar. Bazen de peteşi şeklinde görülebilirler. Makroskopik görüntü olarak ülserli alan mukozadan keskin sınırlarla ayrılmış haldedir.

Stres kaynaklı ülserlerin patofizyolojisi karmaşıktır. Deneysel çalışmalar doğrultusunda, stres ülserlerinin mukozayı koruyan etmenler ile mukozaya hasar veren faktörler arasındaki dengenin bozulmasına bağlı olarak geliştiği fikri benimsenmiştir (Büyükcoşkun, 2002). Buna ilaveten stresin mide mukozasına yapışan mukusun kalitesini ve miktarını azalttığı da bulunmuştur. Strese bağlı ülserlerde, histaminin aşırı salgılanması ve buna bağlı olarak asit sekresyonundaki artış olaya eşlik etmektedir. Ayrıca mukus üretiminde azalma (Li ve ark., 2006), pankreatik sıvının geri akması, mide kan akımının zayıflaması (Pawlik ve diğ., 2002) söz konusudur. Stres ülseri oluşumunda mukozal iskeminin kritik faktör olduğu ve mukozal hasarın bu nedenle geliştiği belirtilmektedir (Brodie ve Hanson, 1960). Stres, gastrointestinal motilitede de artışa neden olur ve midede asitle temas ettiğinde hasara daha duyarlı olan kıvrımlara yol açar (van Stee ve diğ., 2018).

Strese bağlı ortaya çıkan yanıt olarak üretilen ROS, nötrofil aktivasyonuna neden olmaktadır. Etiyopatogenez midede nötrofillerin birikimi, pro-inflamatuvar sitokin oluşumunda artış, aşırı ROS üretimi, antioksidan tüketimi ve mukozal kan akımının azalmasıyla karakterizedir (Bahadır ve diğ., 2016).

Hayvanın bir strese karşı ülseratif yanıtı predispozan faktörlere (yaş, cinsiyet, suş vb.), ülseri indüklemek için kullanılan stresin doğasına ve stres sonrası olaylara bağlıdır. Stres ülserini tetiklemek için sıçanlarda en sık kullanılan yöntemler soğukta kısıtlama, suya daldırma, şok stresi ve kısmi gıda yoksunluğunu kapsar (Takeuchi ve ark., 1976).

#### **4.2.3.5. Asetik asit ile oluşturulan mide ülseri modeli**

Sıçanlarda asetik asidin submukozal enjeksiyonu yoluyla kronik gastrik ülseri indüklemek için bir model önerilmiştir (Takagi ve diğ., 1968). Daha sonraları ise, asetik asit çözeltisinin intralüminal uygulanmasını içeren yeni bir yöntem geliştirilmiştir (Okabe ve Amagase, 2005). Bu model halen farklı ilaçların etkisini değerlendirmek veya kronik ülserlerin iyileşme süreci üzerine çeşitli ajanları test etmek için kullanılmaktadır (Adinortey ve ark., 2013). Düşük dozda uygulanan asetik asit çözeltisi epitel tabakasında sınırlı ve zayıf yaralanmalara yol açar ve lezyonlar ortalama 10 gün içerisinde kendiliğinden iyileşir. Ancak %10-30 konsantrasyonda

(0,01-0,03 ml) asetik asit çözeltisi uygulandığında ülserasyonlu bölgelerin 60 günden fazla devam ettiği gösterilmiştir (Takeuchi ve ark., 1976).

#### 4.2.3.6. *Helicobacter pylori* ile oluşturulan mide ülseri modeli

*Helicobacter pylori* gram-negatif olan, spiral şekilli, son derece hareketli bir patojendir (Marshall ve Warren, 1984) ve insan midesinin değişken asidik ortamında sıklıkla gelişebilir (Schade ve diğ., 1994).

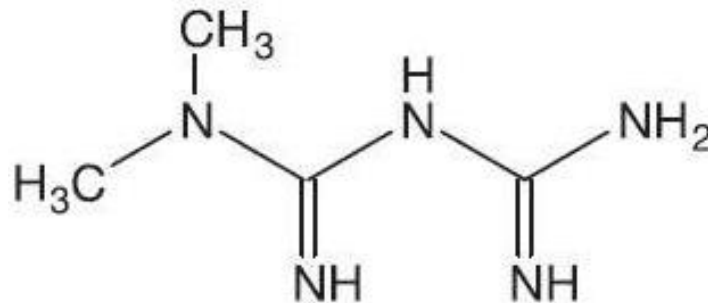
*H. pylori* mide yüzeye ulaşır doğrudan yapışmak için yüzey epitelini kaplayan mukus-HCO<sub>3</sub> tabakasına penetre olur. Bu durumda, mukus içine nüfuz eden *H. pylori* hızlı bir şekilde epitelyal hücrelerin yüzeyine ulaşır ve psödopodu aracılığıyla kalıcı olarak buraya yapışır. Yüzey epiteline yapışmayı takiben, *H. pylori* sitotoksinlerini salgılar (Rektorshek ve ark., 2000). Gastrik mukozadaki *H. pylori*, özellikle de antrumda, COX-2'nin aşırı ekspresyonunu indükler (Konturek ve diğ., 2001). Lökosit kemoatraktanlarının (trombosit aktive edici faktör (PAF), lökotrien B<sub>4</sub> gibi), kemokinlerin (IL-8 gibi) ve TNF- $\alpha$  gibi sitokinlerin sekresyonunu uyarır (Pawlik ve ark., 2002).

### 4.3. Metformin

Metformin klinikte yaygın olarak tip 2 diabetes mellitus (T2DM) tedavisinde kullanılan ve ağızdan alınan, anti-hiperglisemik özelliğe sahip biguanid sınıfından bir ilaçtır (Sanchez-Rangel ve Inzucchi, 2017). Diyabette vasküler komplikasyonların önlenmesinde birinci basamaktır (Davis ve diğ., 2006).

#### 4.3.1. Metforminin kimyasal yapısı

Metforminin kimyasal formülü C<sub>4</sub>H<sub>11</sub>N<sub>5</sub> şeklindedir ve “1,1-dimetil-biguanid hidroklorit” olarak isimlendirilir (Şekil-13).



Şekil-13. Metforminin kimyasal yapısı.

Başlangıçta, Fransız leylağı olarak da bilinen *Galega officinalis* bitkisi (Resim-1)'nden ekstrakte edilen bu guanidin türevi, ilk olarak 1922'de dimetilamin hidroklorit ve 2-siyanoguanidin reaksiyonundan sentezlenmiştir ve Jean Sterne'nin çalışmalarından sonra 1957'de insanlarda ilaç olarak kullanılmaya başlanmıştır (Bailey, 2017; Sanchez-Rangel ve Inzucchi, 2017).



**Resim-1.** *Galega officinalis* (Fransız leylağı) bitkisi.

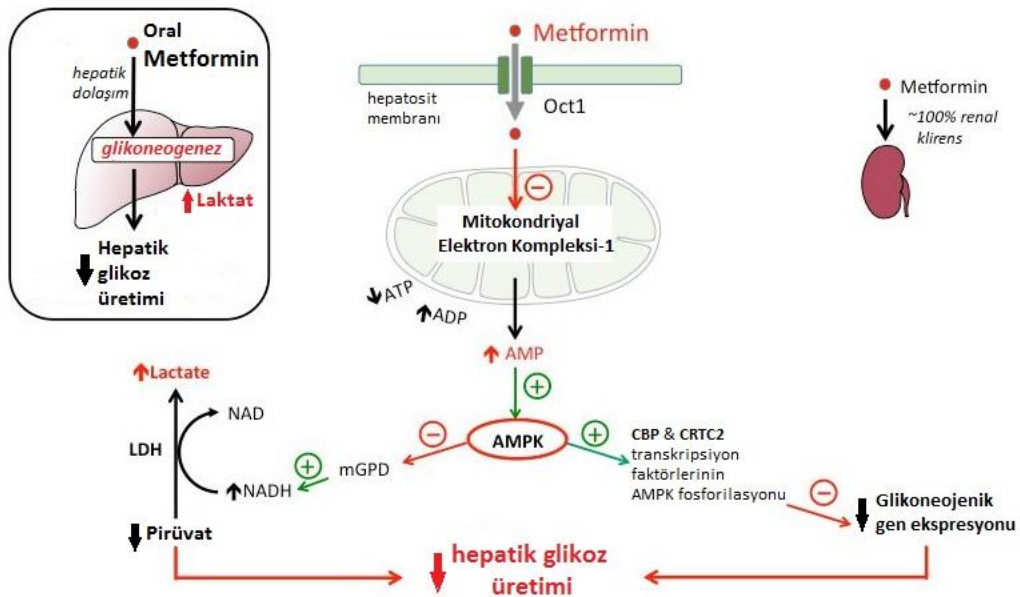
Metformin beyaz renkli kristal yapıya sahip bir bileşiktir ve moleküler ağırlığı 165,63 g/mol'dür (Apotex NZ Ltd, Metformin Datasheet) Suda tamamen çözünürken etanolde (%96) çok az çözünür, pratik olarak kloroform ve eterde ise çözünmez (Apotex NZ Ltd, Metformin Datasheet). Kimyasal olarak, hidrofilik bir bazdır ve katyonik tür olarak fizyolojik pH (7,4)'da bulunur (Graham ve diğ., 2011). Metformin 2,8-11,5 asit ayrışma sabit değerlerine (pKa) sahiptir ve bu nedenle fizyolojik pH değerlerinde hidrofilik katyonik türler olarak büyük ölçüde mevcuttur (Blaney ve diğ., 1990). Metforminin 11,5'lik pKa değeri, kanda %0,01'den daha az birleşmiş olan diğer birçok temel ilaçtan daha güçlü bir baz yapar. Bu kimyasal parametreler düşük lipofilik özellik gösterir ve sonuç olarak metforminin hücre zarlarından hızlı pasif difüzyonu olası değildir (Graham ve diğ., 2011).

Plazmadaki maksimum konsantrasyonu ortalama 3 saatte (0,5 gr dozdan sonra 1,0-1,6 mg/ml (yaklaşık 6-10 mM) ve 1,5 gr dozdan sonra 3 mg/ml (yaklaşık 18 mM)'dir. Plazma yarılanma ömrü yaklaşık 20 saattir (Tucker ve diğ., 1981). Metforminin taşınması bir takım organik taşıyıcılar yoluyla gerçekleşir. Metformin ince bağırsaktan

kana emilir ve emilimine esas olarak enterositlerin lümenal tarafında lokalize olan plazma membran monoamin taşıyıcısı (PMAT) aracılık eder (Foretz ve ark., 2014). Metformin vücutta metabolize edilmez ve değişmeden böbreklerden idrarla atılır.

#### 4.3.1. Metforminin T2DM üzerine etkisi

Metformin, diyabet tedavisi için geliştirilen diğer biguanid ilaçlara (fenformin ve buformin) kıyasla daha güvenilirdir ve iyi tolere edilir. Terapötik dozlarda laktik asidoz insidansı daha nadirdir (Foretz ve ark., 2014). Metformin, glikoz düşürücü etkisini esas olarak hepatik glikoneogenezi baskılayarak ve böylece karaciğerde glikoz üretimini azaltarak gösterir (Natali ve Ferrannini, 2006; de Souza Silva ve ark., 2010). Bu etkisini glikojen sentaz üzerinden hücre içi glikojen sentezini uyararak gerçekleştirir (Şekil-14). Bununla birlikte glikozun intestinal emilimini azaltır, periferik dokularda (iskelet kası, yağ dokusu gibi) kinaz aktivitesini ve GLUT-4'ün taşıma kapasitesini geliştirerek insülin aracılı glikoz kullanımını artırır, yağ asitlerinin konsantrasyonunu düşürür ve glikoneogenezi azaltarak anti-lipolitik bir etki ortaya koyar (Kirpichnikov ve ark., 2002). Ek olarak metformin, glukagon benzeri peptit-1 (GLP-1)'in aktivasyonu aracılı inkretin aksıyla etkileşime girerek glikoz homeostazına da katkıda bulunabilir (Maida ve ark., 2011; Lv ve diğ., 2012). Post-reseptör düzeyde insülin direncini azaltır ve insülin duyarlılığını artırır.



Şekil-14. Metforminin hepatik glikoneogeneze etki mekanizması (<http://tmedweb.tulane.edu/pharmwiki/doku.php/metformin>, Erişim tarihi: 18.11.2020)

Metformin, moleküler seviyede AMPK aktivitesini artırır (Zhou ve diğ., 2001). Hücresel seviyede enerji tüketimi arttığında AMPK, ATP kullanan yolları regüle eder ve enerji homeostazını eski haline getirmek için ATP üretim yollarını stimüle eder (Tian ve ark., 2001) (Şekil-14). AMPK, endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) aktivasyonu, anjiyogenez ve proliferasyon gibi birçok hücresel fonksiyonun düzenlenmesinde de görev alır (Zou ve ark., 2002). AMPK aktivasyonu sırasında gözlenen fizyolojik değişiklikler katabolik bir duruma neden olur ve protein, glikoz ve lipid biyosentezi gibi yüksek ATP tüketimi gerektiren hücresel süreçleri inhibe eder (Li ve McCullough, 2010). Son dönemde yapılan bir çalışmada, metformine bağlı insülin davranışının AMPK aracılı asetil-CoA karboksilazın inhibisyonuyla hepatik lipid homeostazındaki değişikliklere yol açtığı gösterilmiştir (Zou ve ark., 2002; Fullerton ve diğ., 2013). Metforminin etkisinin altında yatan moleküler mekanizmanın en önemli bulgularından biri, metformine bağlı AMPK aktivasyonunun, primer hepatositlerde glikoz üretiminin inhibisyonuyla ilişkili olduğunun gösterilmesidir (Zou ve ark., 2002; Cao ve diğ., 2014). Düşük metformin konsantrasyonlarının AMPK aktivasyonu yoluyla AMP/ATP oranındaki artıştan bağımsız olarak glikoz üretimini baskıladığını göstermektedir (Cao ve diğ., 2014; Saisho, 2015). Metformin AMPK'yı dolaylı olarak aktive eden, mitokondriyal solunum zinciri kompleks-1'in inhibisyonuna, ikincil olarak da ATP tükenmesine ve AMP seviyelerinde artışa yol açtığı düşünülmektedir (Hawley ve diğ., 2010; Cao ve diğ., 2014). Ek olarak, kendi başına AMPK aktivasyonunun veya glikoneojenik gen ekspresyonunun inhibisyonunun değil, hücre içi ATP seviyelerinin dengesizliğinin, metforminin hepatik glikoz çıkışı üzerindeki etkilerinin altında yatan kritik faktörü oluşturduğu ileri sürülmüştür (Foretz ve ark., 2010). Ayrıca, yüksek AMP seviyeleri adenilat siklazı inhibe eder, böylece glukagona yanıt olarak cAMP oluşumunu ve sonuçta açlık glikoz seviyeleri azalır (Miller ve diğ., 2013; Venna ve ark., 2014).

### **2.3.2. Metforminin diğer etkileri**

Dislipidemi veya diyabetik dislipidemi plazmada trigliserit ile düşük yoğunluklu lipoprotein-kolestrol (LDL-C) seviyelerinin yükselmesi ve yüksek yoğunluklu lipoprotein-kolesterol (HDL-C)'ün azalmasıyla karakterize anormal lipid metabolizmasıdır (Wu ve Parhofer, 2014). Yüksek insülin konsantrasyonları, T2DM

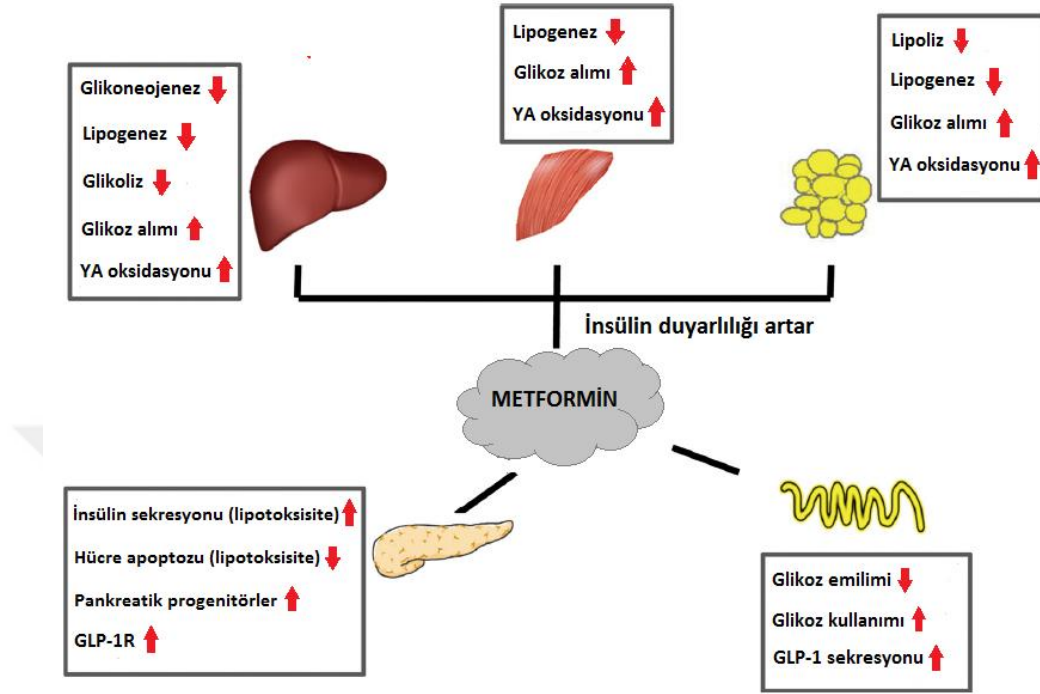
hastalarında yaygın olarak görülen bağırsak lipoprotein metabolizmasının düzensizliğine atfedilebilir (Gutierrez-Repiso ve diğ., 2015). Metformin tedavisinin T2DM hastalarında, bağırsak kaynaklı trigliserit açısından zengin lipoproteinleri azalttığı, plazma şilomikronlarını %50 oranında ve şilomikron kalıntılı lipoprotein fraksiyonlarını %20 oranında azaltarak bağırsak lipoprotein metabolizmasının gelişmesine katkıda bulunduğu ileri sürülmüştür (Şekil-15). Bununla birlikte, metforminin lipid metabolizması üzerindeki etkileri bağırsakta lokalize gibi görünmektedir (van Stee ve ark., 2018).

Hepatositlerde trigliserit birikimi, non-alkolik yağlı karaciğerin ayırt edici özelliğidir. Metformin, *in vivo* ve *in vitro* yüksek yağlı diyet tarafından indüklenen hepatik lipid birikimini baskılar (Şekil-15). Ayrıca, hiperglisemi ve hiperinsülinemi ile indüklenen HepG2 hücrelerinde trigliserit birikimi metformin uygulamasıyla azaltılmıştır (Zhu ve ark., 2018).

Obez farelerde yapılan bir araştırmada, hepatik ve plazma trigliserit artışı metformin tedavisiyle doza bağımlı bir şekilde azaltılmıştır (Lin ve ark., 2017). Plazma trigliserit azalmasının altında yatan mekanizma çeşitli çalışmalarla bildirilmiştir. Apolipoprotein A5 (ApoA5), trigliserit metabolizmasının düzenlenmesinde, özellikle hepatositlerde lipid damlacıklarının oluşumunda önemli bir rol oynar . Obez farelerde plazma ApoA5 düzeylerinin yükselmesiyle hepatositlerde trigliserit miktarı arasında pozitif korelasyon olduğu gösterilmiştir (Li ve ark., 2016). Metforminin dört hafta süreyle uygulanması, obez farelerde hepatosit ApoA5 ekspresyonunu da azaltmıştır (Lin ve ark., 2000).

Hem insan hem de hayvanlarla yapılan bir araştırmada, T2DM hastası 12 denek ve 23 sağlıklı birey yer almıştır ve bu kişilere iki hafta boyunca metformin (1500 mg/gün) uygulanmıştır. Hayvan çalışması kısmında ise yetişkin sıçanlar kullanılmış ve içme suyuna metformin (2,5 mg/ml) ilave edilmiştir. Metformin hem açlık hem de post-prandiyal durumda plazmadaki laktat ve pirüvat seviyelerini önemli ölçüde artırmıştır. Aynı zamanda, karaciğerde yağ oksidasyon ile ilişkili enzimin up-regülasyonu, kahverengi adipoz dokuda eşleşmemiş protein (UCP)-1 ve iskelet kasında UCP-3 ile birlikte kontrol grubuna kıyasla visceral yağ kütlelerinde önemli bir azalma sağlamıştır (Şekil-15). Visceral yağı azaltma üzerindeki etkisini muhtemelen yakıt kaynağının yağ

oksidasyonuna geçişi ve bu ilacın anoreksijenik etkisinden bağımsız olarak adaptif termogenezin up-regülasyonu ile gerçekleşmiştir (Tokubuchi ve diğ., 2017).



**Şekil-15.** Metforminin vücuttaki hedef dokuları (Zhou ve diğ., 2001).

Obezitede metforminin karaciğer üzerindeki anti-inflamatuvar etkisiyle ilgili bulgular çelişkilidir. Metforminin kısa süreli uygulaması (10 gün) obez farelerin karaciğerlerinde lipit birikimini süprese etmiş ancak inflamatuvar belirteçleri engellememiştir. Bir hepatosit kültür ortamında IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, monosit kemoatraktan protein (MCP)-1 ve IFN- $\gamma$  dahil olmak üzere hepatositlerde sitokin konsantrasyonunun arttığı ve aynı şekilde, hepatosit kültür ortamında IL-1 $\beta$  ve IL-6 konsantrasyonunun uzun süreli metformin tedavisiyle arttığı tespit edilmiştir. Bunun aksine, metforminin (150 mg/kg/gün) uzun süreli (dört hafta) uygulamasının obez farelerin karaciğerindeki inflamasyonu azalttığı bulunmuştur (Barbero-Becerra ve diğ., 2012). Adiposit dokudaki bulgulara benzer şekilde metformin, gelişmiş AMPK fosforilasyonu ile ilişkili olarak c-JNK-1'in fosforilasyonunu, azalmış yağ birikimini ve hepatositlerde pro-inflamatuvar sitokinleri azaltmış ve uzun süreli uygulamasından sonra yağ birikimini düşürmüştür (Barbero-Becerra ve diğ., 2012, Bi ve ark., 2019). Birkaç klinik çalışmanın sonuçları, kardiyovasküler hastalığı olan bireylerde metforminin kardiyovasküler koruyucu etkisini göstermektedir (Inzucchi ve diğ.,

2015; Griffin ve diğ., 2017; Ismail-Beigi ve diğ., 2017). Metformin ile tedavi edilen diyabet hastalarında ölümcül olmayan miyokard infarktüsü gelişme riski %39 oranında azalmıştır (Johnson ve ark., 2002). Son zamanlarda yapılan, çift kör randomize bir başka çalışma, yüksek kardiyovasküler hastalık riski olan aşırı kilolu veya obez tip 1 diyabeti olan yetişkin hastalarda metforminin kardiyometabolik etkilerini değerlendirilmiş ve bu popülasyonda karotis arter intima-media kalınlığına bağlı olarak vücut ağırlığı, LDL-kolesterol ve ateroskleroz ilerlemesinde azalma gözlemlenmiştir (Jenkins ve ark., 2018). Bu bulgular metforminin kardiyovasküler hastalık riskini azaltmadaki potansiyel rolünü göstermektedir. Metformin ayrıca makrovasküler olayları ve diyabetle ilişkili mortaliteyi önemli ölçüde azaltır ve kardiyak iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruduğu ve tam olarak anlaşılmayan mekanizmalar yoluyla kalp yetmezliğinin gelişimini geciktirdiği gösterilmiştir (Ye ve ark., 2011).

Metformin alan diyabetik hastalarda anti-hipertansif etkiler gözlenmiştir ancak altta yatan mekanizma tam olarak açıklanamamıştır. Olası bir mekanizma AMPK aktivasyonu yoluyla anjiyotensin-II ile indüklenen endoplazmik retikulum stresinin inhibe edilmesidir. Anjiyotensin-II verilmiş farelerde endoplazmik retikulum stres belirteçlerinin ekspresyonu metformin uygulaması (300 mg/kg) ile önemli ölçüde süprese olmuştur; bununla birlikte metformin, AMPK $\alpha$ -2 knock-out farelerde endoplazmik retikulum stres yaratan faktörlerin azaltılmasındaki koruyucu etkisini kaybetmiştir (Duan ve diğ., 2017). Bu nedenle metforminin, vasküler düz kas hücrelerinde anjiyotensin-II ile indüklenen endoplazmik retikulum stresini inhibe etmesi ve AMPK $\alpha$ -2'yi aktive ederek anjiyotensin-II ile indüklenen hipertansiyonu baskılaması muhtemeldir (Duan ve diğ., 2017).

Metforminin bir başka etkisi, kemirgen karaciğerinde gösterildiği gibi hepatik steatozu azaltarak lipid metabolizmasını düzenler (Lin ve diğ., 2000; Woo ve ark., 2014). Bir klinik çalışmada da paralel gözlemler bildirilmiştir (Marchesini ve diğ., 2001). Yakın zamanda metforminin, kahverengi yağ dokusunda VLDL-trigliserit alımında ve yağ asidi oksidasyonunda seçici bir artışla plazma trigliseritlerini düşürerek dolaşımdaki lipidler üzerinde olumlu etkisi olduğu iddia edilmiştir (Geerling ve diğ., 2014). Dokuda lipid depolanmasında metformine bağlı azalma, muhtemelen AMPK aktivasyonunun

aracılık ettiği hem yağ asidi oksidasyonunda hem de lipogenezin inhibisyonundaki artışla tutarlıdır (Zhou ve diğ., 2001; Zang ve diğ., 2004; Geerling ve ark., 2014).

#### **4.3.3. Metforminin anti-inflamatuvar etkileri**

Son yıllarda yapılan birçok deneysel hayvan çalışmalarında ve insanlarda yapılan klinik araştırmalarda metforminin etkisinin sadece anti-hiperglisemik olmadığı gösterilmiştir.

Yakın dönmede yapılan bir çalışmada, yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlara farklı dozlarda dört hafta boyunca metformin uygulanmış, metforminin sadece vücut ağırlığını önemli ölçüde azaltmadığı; aynı zamanda adipoz dokuda TNF- $\alpha$ , MCP-1 ve leptin düzeylerinde anlamlı bir düşüş sağladığı rapor edilmiştir (Lu ve diğ., 2016).

Bir başka araştırmada ise metforminin, M1 makrofajlarının inhibisyonu ve M2 (anti-inflamatuvar) makrofajların artışı yoluyla pro-inflamatuvar sitokin üretimini azalttığı gösterilmiştir (Jing ve diğ., 2018).

Ülseratif kolit üzerine yapılan bir çalışmada, metformin uygulamasının doza bağlı olarak kolonik mukozal hasarı önemli ölçüde azalttığı, oksidatif homeostazı ve bağırsak transitini koruduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda kolon mukozası üzerindeki restoratif etkisine, pro-inflamatuvar mediyatörlerin doku seviyesinde belirgin bir düşüş ve COX-2, iNOS ve NF- $\kappa$ B'nin immüno-reaktivitesinin eşlik ettiği ileri srlmştir (Pandey ve ark., 2017).

Dekstran sodyum sülfat (DSS) ile indüklenen kronik ülseratif kolit modelinde yedi gün süreyle intraperitoneal metformin uygulamasının kolonik oksidatif stres belirteçlerini, TNF- $\alpha$  ile NF- $\kappa$ B seviyelerini ve mukozal hasar skorunu iyileştirerek kolitin şiddetini hafiflettiği gösterilmiştir (Samman ve diğ., 2018). Başka bir akut kolit modelinde, oral gavaj yoluyla uygulanan metformin TNF- $\alpha$  ile uyarılan IL-8 indüksiyonunu inhibe etmiş ve inhibitör kappa B- $\alpha$  (I $\kappa$ B- $\alpha$ ) fosforilasyonunu ve NF- $\kappa$ B DNA bağlama aktivitesini zayıflatmıştır. Aynı zamanda, bağırsak epitel hücrelerinde AMPK aktivitesini stimüle etmiş ve farelerde kolon kanseri gelişimini engellemiştir (Koh ve diğ., 2014).

İnflamatuvar bağırsak hastalığı fare modelinde, metformin, sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü-3 (STAT3) ekspresyonunu ve yardımcı T17 (Th17) hücre çoğalmasının aktivatörünü düzenleyerek hastalık skor indeksini azaltmış; IL-17, p-

STAT3 ve p-mTOR (fosforile-rapamisin protein kompleksinin memeli hedefi) ekspresyonunu inhibe etmiştir. Bununla birlikte p-AMPK ve Foxp-3'ün ekspresyon seviyelerini artırmıştır (Lee ve diğ., 2015).

Farelerle yapılan bir araştırmada, lipopolisakkarit (LPS) ile indüklenen depresif benzeri davranışları, metformin uygulaması tersine çevirerek hafifletmiştir. LPS amigdala dokusunda Lcn-2 (lipokalin-2)'nin mRNA ekspresyonunu ve IL-1 $\beta$  gibi inflamasyonla ilişkili sitokinleri artırırken; metformin, Lcn-2'nin ekspresyon seviyesini ve IL-1 $\beta$ , IL-6 ve Willebrand factor (vWF) dahil inflamatuvar molekülleri regüle etmiş ve LPS'ye bağlı depresif davranışı azaltmıştır (Yang ve diğ., 2020).

Metforminin diyabetik olmayan kişilerde ve bazı hayvan modellerinde kardiyovasküler sistem üzerine olumlu etkileri olduğu son yıllarda gösterilmiştir (Viollet ve diğ., 2012; Nesti ve Natali, 2017) Hipertansiyona bağlı otonomik etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada, kronik uygulamasının hipertansif sıçanlarda kardiyak sempatik tonusu azalttığı, plazma TNF- $\alpha$  seviyelerini düşürdüğü, NOX1 ve COX1'in doku ekspresyonunu zayıflatığı ileri sürülmüştür (Oliveira ve diğ., 2019).

## 5. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun "19.2019.mar" protokol numaralı onayı ile gerçekleştirilmiştir ve Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Ana Bilim Dalı laboratuvarında yürütülmüştür.

### 5.1. Deney Hayvanları

Çalışmada Marmara Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi (DEHAMER)'nden temin edilen 280-450 gram ağırlığında, Sprague-Dawley erişkin sıçanlar kullanıldı. Tüm çalışmada toplam 80 tane olmak üzere, 72 erkek ve 8 dişi sıçan yer aldı.

Hayvanlar 12 saat aydınlık-12 saat karanlık döngüsüne sahip,  $20\pm 2^{\circ}\text{C}$  sıcaklığındaki standart laboratuvar koşullarında tutuldu. Standart pellet yemi ve musluk suyuna erişimleri serbest olacak şekilde beslendi. Hayvanlar deneylerden önce 24 saat süreyle aç bırakıldı. Bu sürede hayvanların suya erişimleri serbest olarak devam etti.

### 5.2. Kimyasal Ajanlar

Metformin (Cayman Chemical, 13118) fosfat tamponlu tuzlu su (PBS) ( $\text{pH}=7,2$ ) içinde çözündürüldü ve hayvanlara 2 ml/kg hacim içerisinde 500 mg/kg dozunda gavaj yoluyla verildi. Bu dozun belirlenmesi amacıyla preliminar çalışmada 100 mg/kg, 200 mg/kg ve 500 mg/kg dozlarında metforminin her iki ülser modelinde lezyonlar üzerine makroskopik düzeydeki etkisi incelendi ve en etkin doz olarak 500 mg/kg kabul edilerek deneyler bu doz ile gerçekleştirildi.

Ranitidin (Cayman Chemical, 16939) PBS ( $\text{pH}=7,2$ ) içinde çözündürüldü ve hayvanlara 1 ml/kg hacim içerisinde 50 mg/kg dozunda gavaj yoluyla uygulandı (Odabasoglu ve diğ., 2006).

İndometazin (Sigma, 67H1609) %5 sodyum bikarbonat ( $\text{NaHCO}_3$ ) içerisinde çözündürüldü ve hayvanlara 1 ml/kg hacim içerisinde 80 mg/kg dozunda gavaj yoluyla verildi (Kwon ve ark.,2019).

Absolut etanol (MERCK 100983, for analysis EMSURE®) her hayvan için 5 ml/kg gavaj yoluyla uygulandı (Shokunbi ve Odetola, 2008).

### 5.3. Deney Grupları ve Protokolü

Hayvanlar rastgele aşağıdaki şekilde gruplara ayrıldı:

İndometazin (İndo) ile oluşturulan mide ülseri grupları:

- I. İndo kontrol grubu (n=8):** 24 saatlik açlığı takiben indometazin çözücüsü %5 NaHCO<sub>3</sub> gavaj yoluyla (1 ml/kg hacim içinde) uygulandı.
- II. İndo grubu (n=8):** 24 saatlik açlığı takiben indometazin (80 mg/kg) gavaj yoluyla (1 ml/kg hacim içinde) uygulandı.
- III. İndo+metformin grubu (n=8):** Üç gün süreyle sıçanlara metformin (500 mg/kg) gavaj yoluyla (2 ml/kg hacim içinde) uygulandı. Üçüncü gün metformin uygulanmasından 60 dakika sonra indo (80 mg/kg) gavaj yoluyla (1 ml/kg hacim içinde) uygulandı.
- IV. İndo+ranitidin grubu (n=7):** Üç gün süreyle sıçanlara bu ülser modelinde tedavi edici etkinliği bilinen H<sub>2</sub> reseptör antagonisti ranitidin (50 mg/kg) gavaj yoluyla (1 ml/kg hacim içinde) uygulandı. Üçüncü gün ranitidin uygulamasından 60 dakika sonra indometazin (80 mg/kg) gavaj yoluyla (1 ml/kg hacim içinde) verildi.

Bu gruptaki hayvanlar indometazin veya çözücüsünün uygulanmasının ardından 6 saat sonra dekapite edildi.

Etanol ile oluşturulan mide ülseri grupları:

- I. Etanol kontrol grubu (n=8):** 24 saatlik açlığı takiben sıçanlara fizyolojik tuzlu su (5 ml/kg) gavaj yoluyla uygulandı.
- II. Etanol grubu (n=8):** 24 saatlik açlığı takiben sıçanlara absolut etanol (5 ml/kg) gavaj yoluyla uygulandı.
- III. Etanol+metformin grubu (n=8):** 3 gün süreyle sıçanlara metformin (500 mg/kg) gavaj yoluyla (2 ml/kg hacim içinde) uygulandı. Üçüncü gün metformin uygulamasından 60 dakika sonra absolut etanol (5 ml/kg) gavaj yoluyla verildi.
- IV. Etanol+ranitidin grubu (n=7):** 3 gün süreyle bu ülser modelinde tedavi edici etkinliği bilinen H<sub>2</sub> reseptör antagonisti ranitidin (50 mg/kg) gavaj yoluyla (1

ml/kg hacim içinde) uygulandı. Üçüncü gün ranitidin uygulamasından 60 dakika sonra sıçanlara absolut etanol (5 ml/kg) gavaj yoluyla verildi.

Bu gruptaki hayvanlar ise etanol veya fizyolojik tuzlu su uygulanmasından 1 saat sonra dekapite edildi.

Tüm gruplarda mideler küçük kurvatürden açıldı ve fizyolojik tuzlu su ile yıkandı. Makroskopik olarak incelenen mide dokularının bir bölümü biyokimyasal analizler için -80°C’de saklanırken bir bölümü histolojik değerlendirmeler için %10’luk formaldehite veya nötral formaldehite alındı. Gövde kanı toplandı ve serumu ayrıldıktan sonra -80°C’de muhafaza edildi.

#### **5.4. Mide Dokusunun Makroskopik Düzeyde Değerlendirilmesi**

Midelerin makroskopik olarak incelenmesinde her bir lezyonun uzunluğu ölçülerek toplam uzunluk “lezyon uzunluğu” (mm) cinsinden ifade edildi (Dekanski ve ark., 1975). Midenin skorlanması ise aşağıdaki kriterlere göre yapıldı (Maksimum skor 6):

- 0= hasar yok
- 1= lümende kan varlığı
- 2= noktasal erozyonlar
- 3= 1-5 arası sayıda küçük erozyonlar (<2 mm)
- 4= 5’ten fazla sayıda küçük erozyonlar (<2 mm)
- 5= 1-3 arası sayıda büyük erozyonlar (>2 mm)
- 6= 3’ten fazla sayıda büyük erozyonlar (>2 mm)

#### **5.5. Mide Dokusunda Biyokimyasal Analizler**

##### **5.5.1. Malondialdehit (MDA) ölçümü**

Mide örnekleri MDA tayinleri için %10’luk triklor asetik asit (TCA) ile homojenize edildikten sonra 3000 rpm’de, 4°C sıcaklıkta, 15 dakika santrifüje edildi. Süpernatantlar ayrılıp 15 000 devirde eş hacimde tiyobarbitürik asit (TBA) ile 15 dakika 100°C kaynar suda bekletildi. Soğuma işlemini takiben lipid peroksidasyon düzeyi spektrofotometrede 535 nm dalga boyunda okundu ve değerler nmol/g şeklinde ifade edildi (Casini ve diğ., 1986).

### 5.5.2. Miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi ölçümü

İnflamasyonlu dokuda nötrofil infiltrasyonun bir belirteci olarak MPO aktivitesi ölçüldü. Alınan mide örnekleri %0,5'lik hekzadesil trimetil amonyum bromür (HETAB) içeren 50 mM PBS içinde (pH=6) homojenize edildi. Daha sonra 12 000 rpm'de, 4°C'de, 10 dakika santrifüjlendi. Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra pellet 50 mM PBS içinde tekrar homojenize edildi. 50 mM PBS + o-dianisidin. 2HCl (20 mg/ml) + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (20 mM) örnek içeren tüpler oda sıcaklığında 3 dakika inkübe edildi ve reaksiyon %2'lik sodyum azid ile durduruldu. Absorbans değerleri 460 nm'de okundu. Değerler U/g olarak ifade edildi (Bradley ve diğ., 1982).

### 5.5.3. Glutasyon (GSH) aktivitesi ölçümü

Mide örnekleri GSH tayinleri için %10'luk triklor asetik asit (TCA) ile homojenize edildikten sonra 3000 rpm'de, 4°C sıcaklıkta, 15 dakika santrifüje edildi. Ölçümleri için modifiye Ellman yöntemi kullanıldı. Disodyum fosfat (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 0,3 M) içine alınan doku örnekleri 10 dakika karanlıkta 5,5'-ditiyobis-2-nitrobenzoik asit (DTNB) ve sodyum sitrat (NaNO<sub>3</sub>) ile etkileşimi sonrası spektrofotometrik olarak 412 nm dalga boyunda okundu ve değerler µmol/g şeklinde ifade edildi (Aykaç ve diğ., 1985).

### 5.5.4. Süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz enzim düzeylerinin tayini

%10 gramlık doku homojenatı 10 dakika süreyle 4000 rpm'de santrifüje edildi. Her tüpe 30 saniye arayla 0,2 ml riboflavin ve süpernatant konularak 460 nm'de absorbansı okundu. Daha sonra tüpler oda sıcaklığında 20 W floresan lamba bulunan kutu içinde 8 dakika inkübe edildi ve 460 nm dalga boyunda absorbansı okundu. Aşağıdaki formüle göre süpernatantın SOD aktivitesi U/ml cinsinden hesaplandı (Mylroie ve diğ., 1986; Zhang ve ark., 2016):

$$\text{SOD aktivitesi} = \frac{S_0 - S_1}{S_1} \times \text{Sistem hacmi} / \text{Örnek hacmi} \times \text{Dilüsyon faktörü}$$

S<sub>0</sub>: Reaksiyonun sıfırıncı dakikasında okunan değer

S<sub>1</sub>: İnkübasyon sonrası okunan değer

Katalaz aktivitesi ölçümünün esası H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin H<sub>2</sub>O'ya dönüşümü sırasında absorbans azalmasının tayinine dayanmaktadır ve absorbansta gözlenen azalma hızı enzim aktivitesiyle doğru orantılıdır. Ölçüm için %10 gramlık doku homojenatı 10 dakika

4000 rpm’de santrifüj edildi. Numune ve kör olarak işaretlenmiş iki ayrı deney tüpü aşağıdaki tabloya göre (Tablo-1) çalışıldı. Çözeltiler eklendikten 1 dakika sonra 240 nm dalga boyunda absorbansları okunarak aşağıdaki formüle göre katalaz aktivitesi U/ml cinsinden tayin edildi (Aebi, 1984):

$$\text{Katalaz aktivitesi} = (K_0 - K_1) / 0,036 \times \text{Dilüsyon faktörü}$$

$K_0$ : Kör tüpünde okunan değer

$K_1$ : Numune tüpünde okunan değer

0,036: Ekstinksiyon katsayısı

**Tablo-1.** Katalaz tayini için kullanılan çözelti miktarları.

|                                                          | Numune | Kör    |
|----------------------------------------------------------|--------|--------|
| Fosfat tamponu                                           | -      | 0,2 ml |
| Süpernatant                                              | 0,4 ml | 0,4 ml |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> çözeltisi + fosfat tamponu | 0,2 ml | -      |

### 5.6. Mide Dokusunun Mikroskopik Düzeyde Değerlendirilmesi

%10’luk formaldehit içinde fikse edilen doku örnekleri kademeli olarak alkol serilerinden geçirildi ve dehidrate edilerek parafine gömüldü. Yaklaşık 5 µm’lik kalınlığındaki kesitler histopatolojik değerlendirme için hematoksilin&eoizin ile boyandı. Mukozal hasar, lökosit infiltrasyonu ve kanama dikkate alınarak dijital kamera ataçmanlı (Olympus C-5060) Olympus BX51 fotomikroskobu ile incelenerek fotoğraflandı. Mide hasarı aşağıdaki dört kritere göre semikantitatif olarak değerlendirildi ve her bir kriter 0-3 arasında (0: yok, 1: hafif derecede, 2: orta derecede, 3: ciddi derecede) skorlandı (Maksimum skor 12) (Haklar ve diğ., 2001; Jahovic ve diğ., 2007).

- Yüzey epitelinde dökülme
- Kanama, fokal nekroz ve mukozal konjesyon
- Glandüler hücrelerde hasar
- İnflamatuvar hücre infiltrasyonu

Ek olarak mukus yapımının değerlendirilmesi için mide örneklerinde periodic asit-schiff (PAS) boyaması yapıldı. Bunun için, dokular Carnoy sıvısı (etanol/asetik

asit/kloroform=6:1:3) sıvısında 24 saat bekletildikten sonra parafine gömüldü ve 5 µm'lik kesitler PAS ile boyandı.

### **5.7. Mide Dokusunda Kemiluminisans Ölçümü**

Doku örnekleri 0,2 mM luminol (hidroksil radikal, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, hipoklorit, ONOO<sup>-</sup> ölçümü) veya lusigenin (O<sub>2</sub> için seçici) varlığında özel probalar kullanılarak luminometre ile oda sıcaklığında ölçüldü. Tüm sayımlar 5 dakika boyunca 15 saniyelik aralıklarla elde edildi ve sonuçlar mg doku başına eğri altında kalan alan şeklinde ifade edildi (Haklar ve diğ., 2001).

### **5.8. Mide Dokusunda Apoptozun Değerlendirilmesi**

Apoptotik indeksi değerlendirilmek üzere TUNEL (TdT-mediated dUTP nick end labeling; Sigma-Aldrich; Taufkirchen, Germany) immünohistokimyasal boyama tekniği kullanıldı (Lucassen ve diğ., 1995; Umemura ve ark., 1996). Mide örnekleri %10'luk nötral formaldehit solüsyonunda fikse edildi ve histolojik doku takibinin ardından parafin bloklarına gömüldü. Daha sonra 5 µm kalınlığında kesitler alındı (Leica RM 2245 model; Almanya) ve poly-L-lysine lamlara aktarıldı. Deparafinizasyon işleminin ardından etüvde, 65-75°C sıcaklıkta, 15 dakika bekletildi. Ksilen ve alkol serilerinden geçirilerek rehidratasyon gerçekleştirildi. Daha sonra PBS içerisine alındı ve ardından permeabilizasyon solüsyonunda 5 dakika bekletildi. Sitrat tampon solüsyonuna alınarak 750 Watt mikrodalgada 1 dakika tutuldu. Hızlı soğutma işlemi için tekrar PBS içerisine alınarak +4°C buzdolabında 5 dakika bekletildi. Daha sonra 37°C'de karanlık ve nemli ortamda 60 dakikalık inkübasyon ve yıkama işlemlerinin ardından kesitleri ışık mikroskobunda görünür hale getirmek için kesitlere POD (horseradish peroksidaz) çevirici (Roche Diagnostics; Mannheim, Germany) eklenerek etüvde 37°C'de 30 dakika bekletildi. Daha sonra renklendirme için %0,05 3,3' diaminobenzidin karışımı kullanıldı. Bu karışımda 3 dakika bekletildi ve PBS ile yıkanarak Mayer Hematoksilen ile zıt boyama yapıldı. Çeşme suyunda hücre çekirdeklerinin belirginleştirilmesi sağlandı ve ksilen ile şeffaflaştırıldı. Son olarak preparatlar entellan ile kapatıldı. Kesitler ışık mikroskobunda (Leica DM 4000B) Stereoinvestigator 11,0 görüntü analiz programı (Microbrightfield, Colchester, VT, USA) ile incelendi. Sayım sırasında üç farklı işaretleyici kullanıldı. Apoptotik,

nekrotik ve normal hücreler ayrı işaretleyiciler kullanılarak işaretlendi. Her bir karede, sayım alanı belirlendi ve apoptotik indeks (%) apoptotik hücre/toplam hücre x 100 formülüne göre tayin edildi (Karakoyun ve ark., 2011).

### 5.9. Mide Kan Akımı Ölçümü

Mide kan akımı ölçümü için farklı hayvanlarda aşağıdaki gruplar oluşturuldu:

- I. İndo grubu (n=5):** 24 saatlik açlığı takiben indometazin (80 mg/kg) gavaj yoluyla (1 ml/kg hacim içinde) uygulandı.
- II. İndo+metformin grubu (n=5):** Üç gün süreyle sıçanlara metformin (500 mg/kg) gavaj yoluyla (2 ml/kg hacim içinde) uygulandı. Üçüncü gün metformin uygulanmasından 60 dakika sonra indo (80 mg/kg) gavaj yoluyla (1 ml/kg hacim içinde) uygulandı.
- III. Etanol grubu (n=4):** 24 saatlik açlığı takiben sıçanlara absolut etanol (5 ml/kg) gavaj yoluyla uygulandı.
- IV. Etanol+metformin grubu (n=4):** Üç gün süreyle sıçanlara metformin (500 mg/kg) gavaj yoluyla (2 ml/kg hacim içinde) uygulandı. Üçüncü gün metformin uygulamasından 60 dakika sonra absolut etanol (5 ml/kg) gavaj yoluyla verildi.

Bu gruplarda ise etanol uygulanmasından 1 saat ve indometazin uygulanmasından 6 saat sonra ketamin (100 mg/kg) ve ksilazin (10 mg/kg) anestezi altında Lazer-doppler akımölçer (PeriFlux System 5000, Perimed, Sweden) yardımıyla mide kan akımının ölçümleri yapıldı. Anestezi altındaki hayvanlara epigastrik inzisyon yapıldı ve mide izole edilerek açığa çıkarıldı. Midenin korpus serozal yüzeyine yerleştirilen prob yardımıyla 15 dakikalık kayıtlar alındı. Daha sonra hayvanlar kardiyak ponksiyon ile sakrifiye edildi. Kan akımının değerlendirilmesi sırasında ilk 5 dakikalık süre stabilizasyon süresi kabul edildi ve değerlendirmeye alınmadı, sonraki 5 dakikalık kayıt değerlendirmeye alındı. Bu beş dakikalık analizde arkefaktlar ekarte edilerek ortalama kan akımı hesaplandı ve perfüzyon birimi (PU) cinsinden ifade edildi (Sarnik ve diğ., 2007).

### 5.10. Serumda TNF- $\alpha$ ve IL-1 $\beta$ Ölçümleri

Bu ölçümler için ticari ELISA kitleri kullanıldı. Tayinler sıçana özgün TNF- $\alpha$  kitinde (Invitrogen, Canada, USA) ve IL-1 $\beta$  kitinde (Invitrogen, Canada, USA) belirtilen talimatlar takip edilerek gerçekleştirildi. İlk aşamada 96 kuyucuklu ELISA plakasına mikropipet yardımıyla 400  $\mu$ l yıkama çözeltisi eklenerek yıkandı. Daha sonra hazırlanan standart çözeltiden 100  $\mu$ l kör kuyucuklarına, 50  $\mu$ l ise örneklerin dahil edileceği kuyucuklara yüklendi. Ardından serumdan alınan her bir örnek 50  $\mu$ l olarak kuyucuklara konuldu ve biotin konjugatı ilave edilerek iki saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı (400 rpm). Inkübasyon sonrası mikroplakalara 400  $\mu$ l yıkama solüsyonu ilave edilerek yıkama işleminden geçirildi. Daha sonra streptavidin-HRP konjugatı eklenerek bir saat inkübasyona izin verildi (400 rpm). Bir saatin sonunda kuyucuklara 400  $\mu$ l yıkama çözeltisi eklenerek tekrar yıkandı. Devamında 100  $\mu$ l TMB substrat çözeltisi (renk geliştirici solüsyon) eklendi ve 10 dakika tekrar inkübe edildi. Son aşamada reaksiyon 100  $\mu$ l stop solüsyonu ilave edilerek durduruldu. Plakaların spektroskopik ölçümleri Synergy H1 Hybrid Multi-Mode Microplate Reader (Biotek, Vermont, USA) kullanılarak 450 nm'de okundu. Standart eğri oluşturuldu ve buna göre sitokin seviyeleri pg/ml protein olarak ifade edildi (Gomaa ve diğ. 2018).

### 5.11. İstatistiksel analiz

Çalışmadaki tüm veriler ortalama  $\pm$  standart hata şeklinde ifade edildi. Mikroskopik skor sonuçları parametrik olmayan Mann-Whitney U kullanılarak kıyaslandı. Diğer parametreler için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve ardından Tukey-Kramer çoklu karşılaştırma testleri kullanıldı. Analizler istatistiksel analiz programı GraphPad Software (San Diego, CA, USA) kullanılarak yapıldı ve  $p < 0,05$  istatistiksel anlamlılık değeri olarak kabul edildi.

## 6. BULGULAR

### 6.1. Serumda Glikoz Düzeyi Bulguları

Deneylere başlamadan önce deneylerde kullanılacak olan metformin dozunun sıçanlarda serum glikoz düzeylerini etkileyip etkilemediğini görmek için kontrol grupları ve indometazin veya etanol ile birlikte metformin uygulanan gruplarda serum glikoz seviyeleri tayin edildi. Tablo-2’de gösterilen sonuçlara göre, her iki kontrol grubuyla (92,75±4,34 mg/dL ve 80,25±5,71 mg/dL) metformin uygulanan gruplar (103,60±6,34 mg/dL ve 94,00±7,78 mg/dL) kıyaslandığında serum glikoz düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı.

**Tablo-2.** Deney gruplarında serum glikoz düzeyleri.

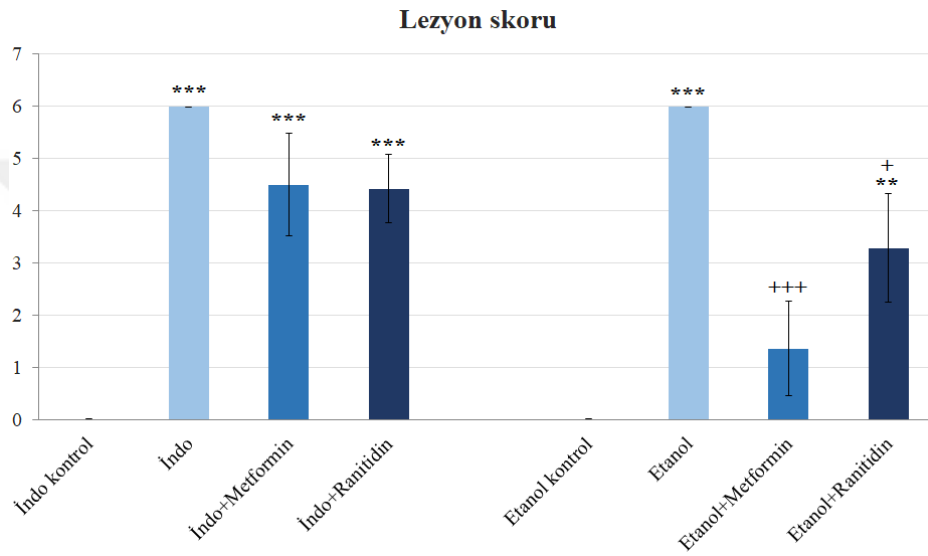
| Serum glikoz düzeyi (mg/dL)   |               |
|-------------------------------|---------------|
| <b><u>İndo grupları</u></b>   |               |
| <b>İndo kontrol</b>           | 92,75 ± 4,34  |
| <b>İndo+Metformin</b>         | 103,60 ± 6,34 |
| <b><u>Etanol grupları</u></b> |               |
| <b>Etanol kontrol</b>         | 80,25 ± 5,71  |
| <b>Etanol+Metformin</b>       | 94,00 ± 7,78  |

### 6.2. Mide Dokusunun Makroskopik Bulguları

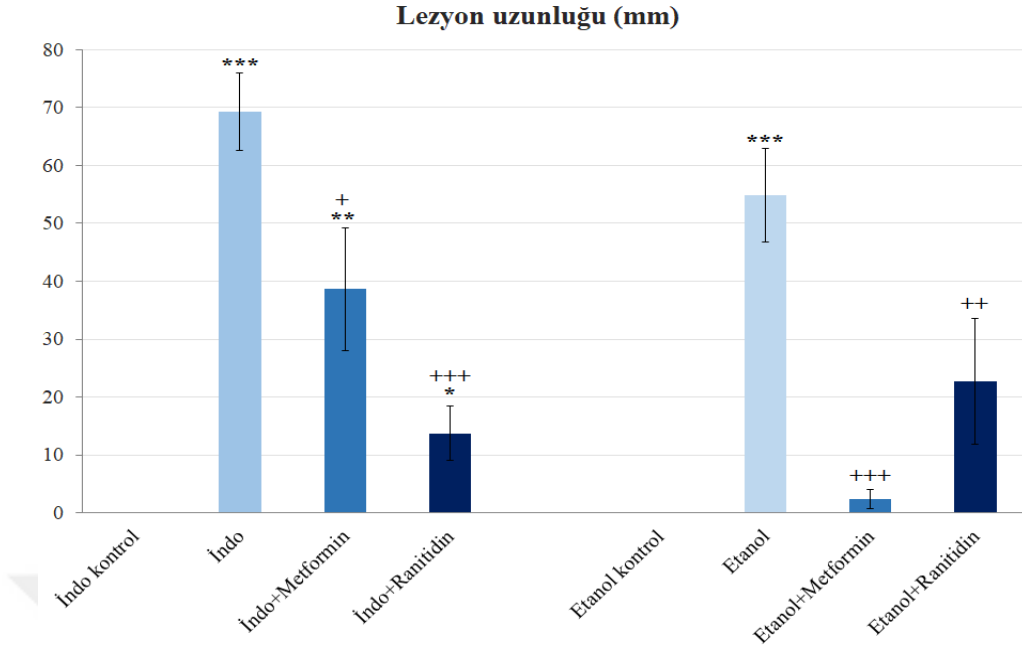
Metformin ön tedavisi alan indo grubunda, lezyon skoru (4,50±0,98) tedavisiz gruba kıyasla (5,99±0,01) anlamlı bir değişiklik göstermemekle birlikte lezyon uzunluğu (38,63±10,56 mm) tedavisiz gruba göre (69,31±6,67 mm) anlamlı olarak azaldı (p<0,05). Ranitidin alan indo grubunda, lezyon skoru (4,43±0,65) açısından tedavisiz gruba kıyasla (5,99±0,01) anlamlı fark bulunmadı ancak lezyon uzunluğu (13,71±4,71 mm) tedavisiz gruba kıyasla azaldı (69,31±6,67 mm) (p<0,001) (Şekil 16 ve Şekil 17).

Etanol gruplarına bakıldığında, etanol grubunda makroskopik parametreler (lezyon skoru: 5,99±0,00; lezyon uzunluğu: 54,88±8,11 mm) kontrol grubuna kıyasla (lezyon

skoru:  $0,01 \pm 0,01$ ; lezyon uzunluğu:  $0,01 \pm 0,01$  mm) anlamlı artış gösterdi ( $p < 0,001$ ). Metformin ön tedavisi yapılan etanol grubunda ise (lezyon skoru:  $1,37 \pm 0,90$ ; lezyon uzunluğu:  $2,38 \pm 1,69$  mm) tedavisiz gruba göre bu parametreler (lezyon skoru:  $5,99 \pm 0,00$ ; lezyon uzunluğu:  $54,88 \pm 8,11$  mm) azaldı ( $p < 0,001$ ). Benzer şekilde, ranitidin ön tedavisi yapılan etanol grubunda da makroskopik parametreler (lezyon skoru:  $3,29 \pm 1,04$ ; lezyon uzunluğu:  $22,71 \pm 10,89$  mm) tedavisiz etanol grubuna göre anlamlı bir düşüş gösterdi ( $p < 0,05$  ve  $p < 0,01$ ) (Şekil-16 ve Şekil-17).

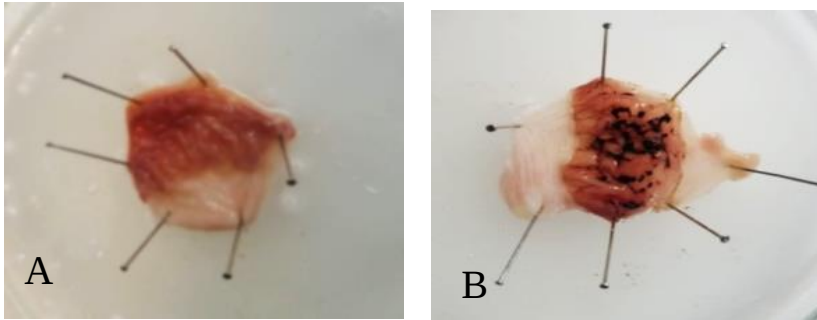


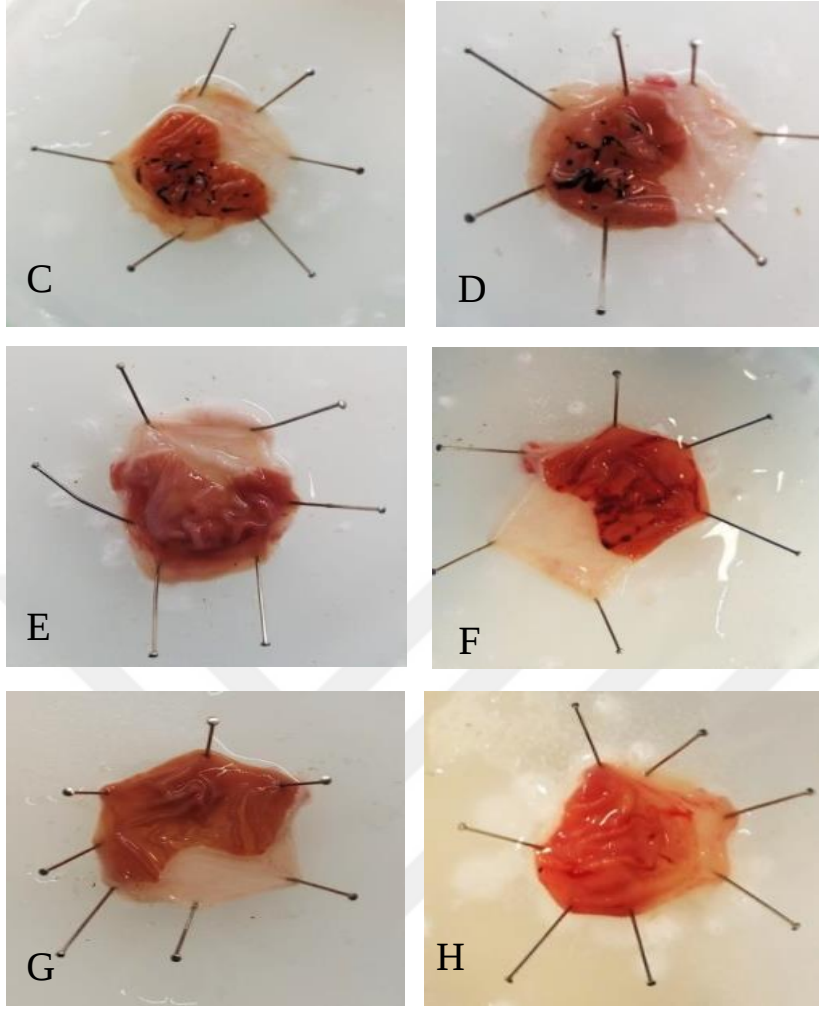
**Şekil-16.** Deney gruplarına ait lezyon skoru verileri (\*\* $p < 0,01$  \*\*\* $p < 0,001$  kontrol gruplarına göre; + $p < 0,05$  ve +++ $p < 0,001$  indo veya etanol gruplarına göre).



**Şekil-17.** Deney gruplarına ait lezyon uzunluğu verileri (\* $p<0,05$ , \*\* $p<0,01$  ve \*\*\* $p<0,001$  kontrol gruplarına göre; + $p<0,05$ , ++ $p<0,01$  ve +++ $p<0,001$  indo veya etanol gruplarına göre).

Deney gruplarına ait temsili mide örneklerinin fotoğraf görüntüleri de Resim-2’de görülmektedir.





**Resim-2.** Deney gruplarına ait temsili mide örneklerinin makroskopik görüntüleri. A) İndo kontrol, B) İndo C) İndo+Metformin, D) İndo+Ranitidin, E) Etanol kontrol, F) Etanol G) Etanol+Metformin, H) Etanol+Ranitidin.

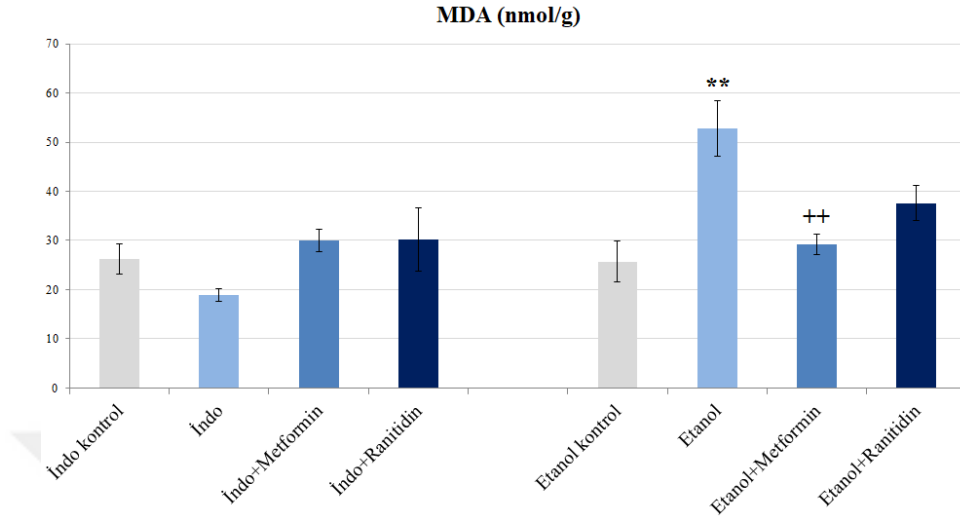
### 6.3. Mide Dokusunun Biyokimyasal Bulguları

#### 6.3.1. MDA düzeyleri

Lipit peroksidasyonun bir belirteci olan MDA düzeylerine bakıldığında, indo grupları arasında anlamlı bir fark görülmedi (Şekil-18).

Etanol gruplarına bakıldığında, etanol grubunda MDA düzeyi ( $52,76 \pm 5.68$  nmol/g) etanol kontrole ( $26,68 \pm 4,16$  nmol/g) göre anlamlı olarak yüksekti ( $p < 0,01$ ). Metformin uygulanan etanol grubunda MDA'da ( $29,23 \pm 2,11$  nmol/g) tedavisiz gruba kıyasla anlamlı bir azalma görüldü ( $p < 0,01$ ). Ranitidin ön tedavisi yapılan etanol grubunda da

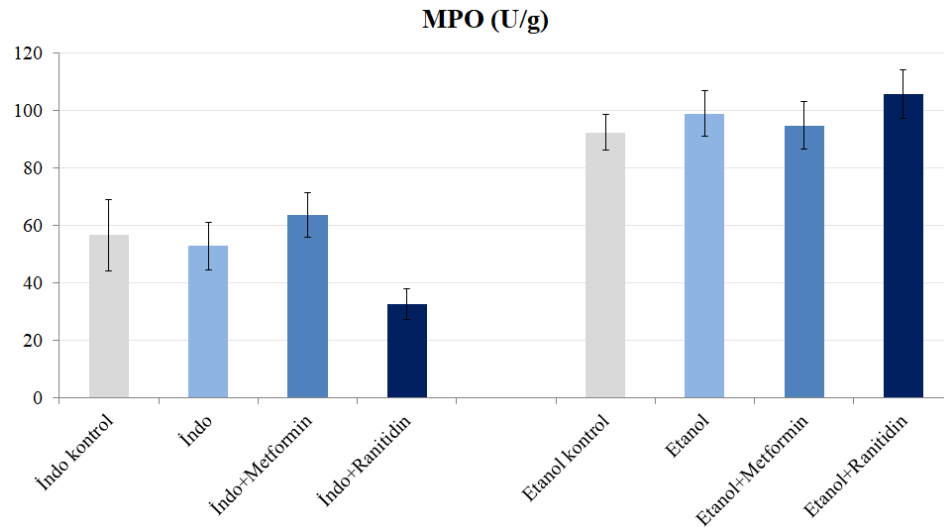
(37,61±3,62 nmol/g) tedavisiz gruba göre istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte düşüş eğilimi vardı (Şekil-18).



**Şekil-18.** Deney gruplarına ait MDA düzeyi verileri (\*\*p<0,01 etanol kontrol grubuna göre; ++p<0,01 etanol grubuna göre).

### 6.3.2. MPO aktivitesi

Dokuda nötrofil infiltrasyonunun bir göstergesi olan MPO enzim aktivitesi incelendiğinde, hem indo hem de etanol gruplarında, gruplar arası anlamlı bir değişiklik bulunamadı (Şekil-19).

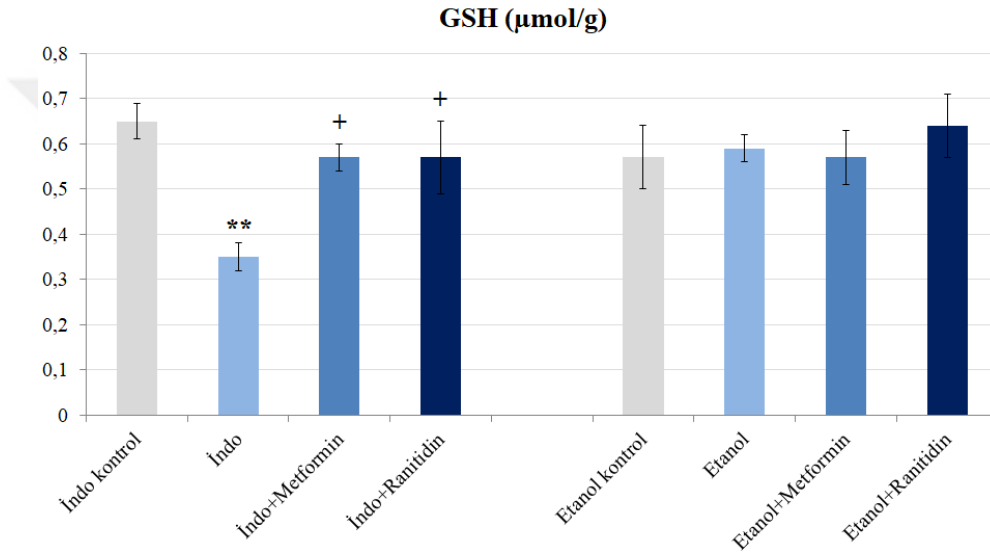


**Şekil-19.** Deney gruplarına ait MPO aktivitesi verileri.

### 6.3.3. GSH düzeyleri

İndo uygulaması ile ülser oluşturulan grupta, GSH değeri ( $0,35 \pm 0,03 \mu\text{mol/g}$ ) indo kontrole ( $0,65 \pm 0,04 \mu\text{mol/g}$ ) göre anlamlı olarak düşüktü ( $p < 0,01$ ). Metformin ön tedavisi ile ( $0,57 \pm 0,03 \mu\text{mol/g}$ ) GSH değerleri tedavisiz gruba göre artış gösterdi ( $p < 0,05$ ). Aynı şekilde ranitidin ön tedavisi yapılan grupta da ( $0,57 \pm 0,08 \mu\text{mol/g}$ ) tedavisiz gruba göre artış sağlandı ( $p < 0,05$ ) (Şekil-20).

GSH düzeyleri açısından karşılaştırıldığında, etanol gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Şekil-20).

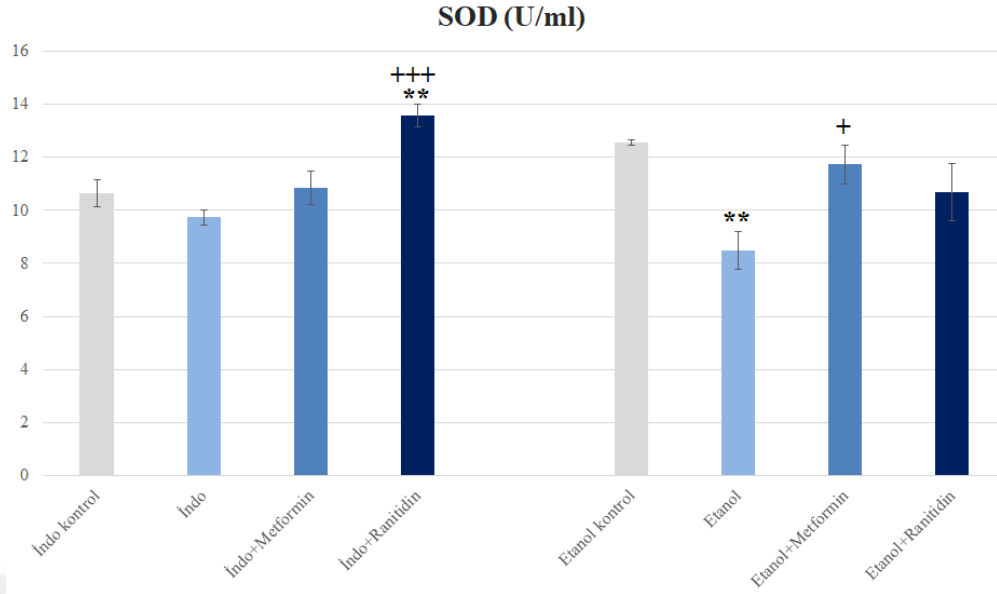


**Şekil-20.** Deney gruplarına ait GSH düzeyi verileri (\*\* $p < 0,01$  kontrol grubuna göre; + $p < 0,05$ ; indo grubuna göre).

### 6.3.4. SOD ve katalaz aktivitesi

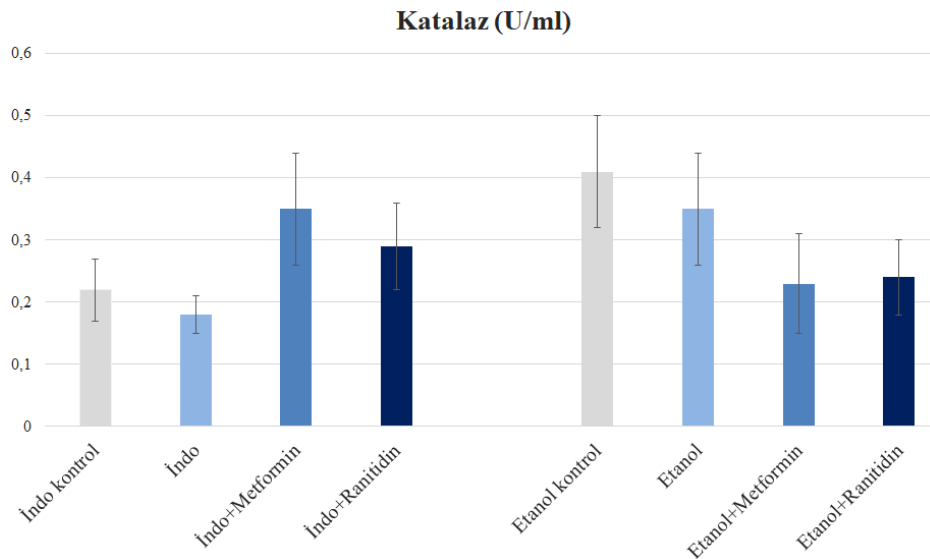
Süperoksit radikallerinin süpürücüsü SOD enzimi incelendiğinde, indo grubunda indo kontrol grubuna göre anlamlı bir fark tespit edilmedi, metformin ön tedavisi yapılan grup indo grubuna göre artış eğilimi gösterse de istatistiksel olarak anlamlı değildi. Ranitidin ön tedavisi yapılan grupta ( $13,56 \pm 0,42 \text{ U/ml}$ ) ise tedavisiz gruba ( $9,73 \pm 0,28 \text{ U/ml}$ ) göre belirgin bir artış vardı ( $p < 0,001$ ) (Şekil-21).

Etanol grubunda ( $12,57 \pm 0,10 \text{ U/ml}$ ), etanol kontrol grubuna ( $8,49 \pm 0,71 \text{ U/ml}$ ) kıyasla azalan ( $p < 0,01$ ) SOD aktivitesi metformin ön tedavisi ile ( $11,73 \pm 0,78 \text{ U/ml}$ ) artış kaydetti ( $p < 0,05$ ). Ranitidin ön tedavisi yapılan grupta da indo grubuna göre belirgin bir artış olmasına rağmen bu istatistiksel olarak anlamlı değildi (Şekil-21).



**Şekil-21.** Deney gruplarına ait SOD enzim aktivitesi verileri (\*\*p<0,01 indo kontrol grubuna göre; +p<0,05 ve +++p<0,001 indo veya etanol gruplarına göre).

Hidrojen persoksitin parçalanmasında görev alan anti-oksidan enzim katalaz aktivitesinde, indo ve etanol gruplarında, gruplar arası anlamlı bir fark belirlenemedi. Ancak, katalaz etkinliği indo grubunda indo kontrol grubuna göre düşme eğilimi sergilerken, metformin ve ranitidin ön tedavisi yapılan gruplarda da bir artış eğilimi gösterdi (Şekil-22).

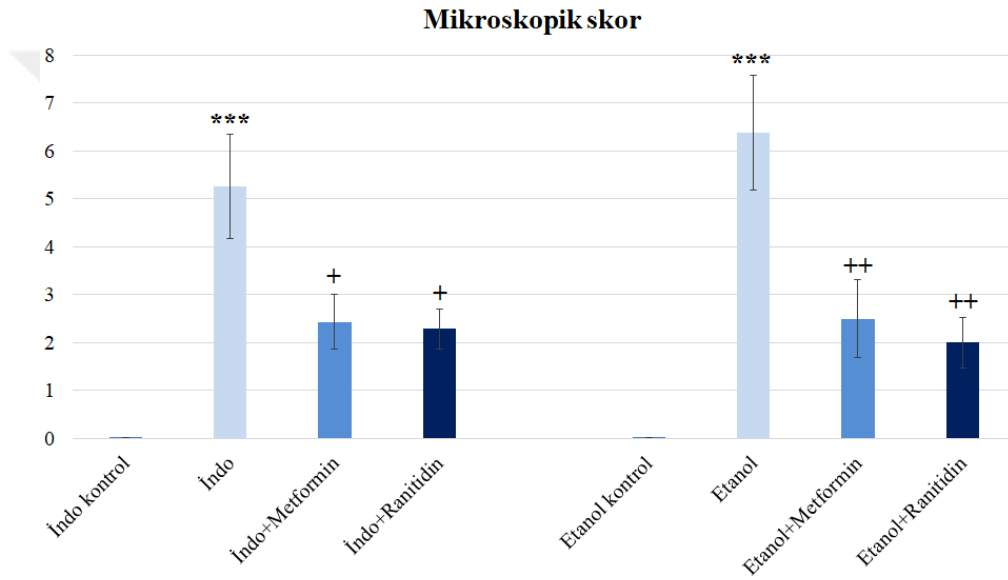


**Şekil-22.** Deney gruplarına ait katalaz enzim aktivitesi verileri.

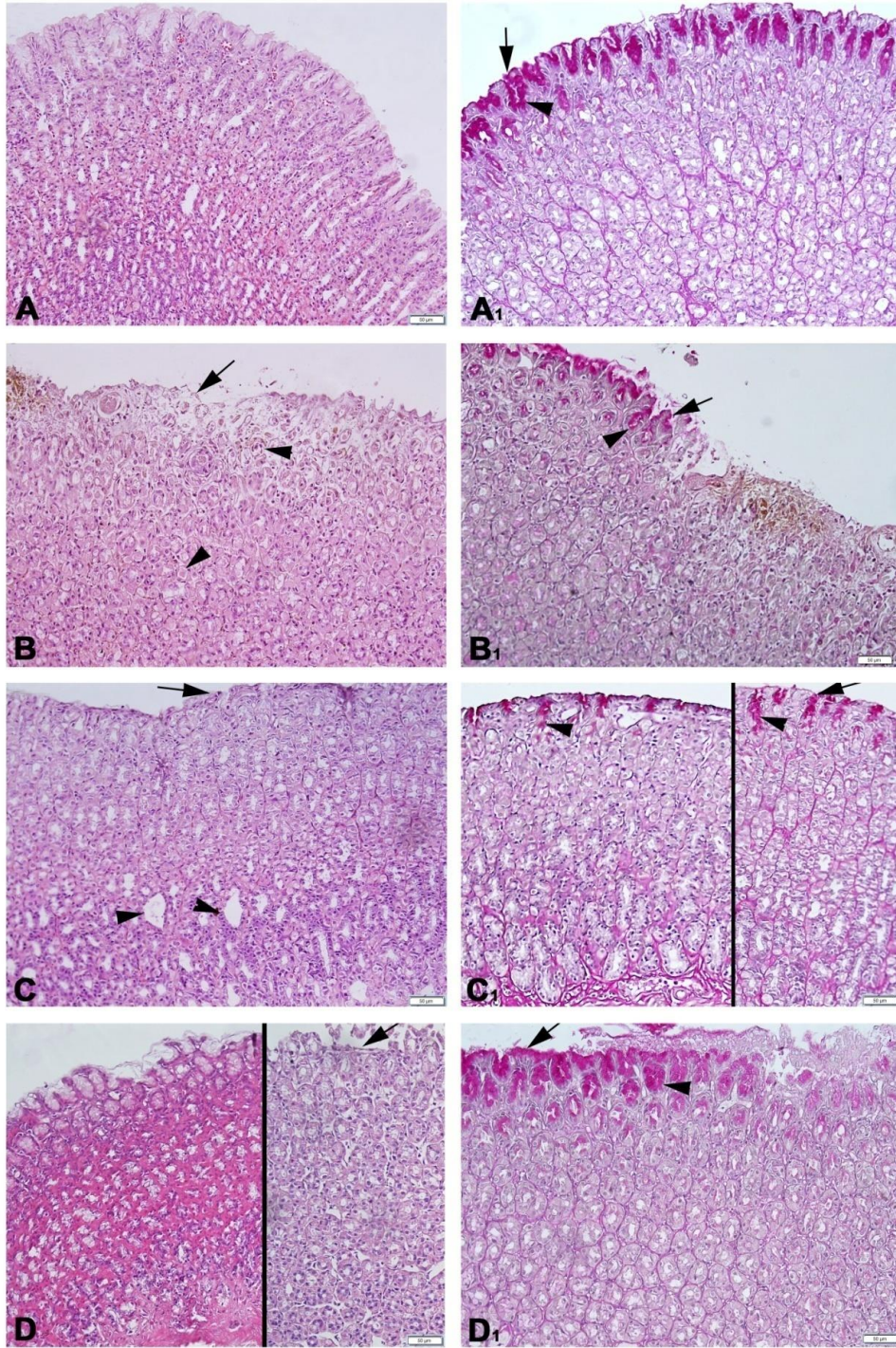
#### 6.4. Mide Dokusunun Histolojik Bulguları

İndo kontrol grubuna göre ( $0,01 \pm 0,01$ ) indo grubunda ( $5,25 \pm 1,09$ ;  $p < 0,001$ ) anlamlı olarak artış gösteren mikroskopik hasar skoru, metformin ön tedavisi yapılan grupta ( $2,43 \pm 0,57$ ;  $p < 0,05$ ) ve ranitidin ön tedavisi yapılan grupta ( $2,29 \pm 0,42$ ;  $p < 0,05$ ) düşüş kaydetti (Şekil-23).

Etanol grubunda ise kontrole göre anlamlı olarak artan mikroskopik skor ( $6,38 \pm 1,19$ ;  $p < 0,001$ ) etanol+metformin grubunda ( $2,50 \pm 0,82$ ;  $p < 0,01$ ) ve etanol+ranitidin ( $2,00 \pm 0,53$ ;  $p < 0,001$ ) grubunda anlamlı olarak azaldı (Şekil-23).

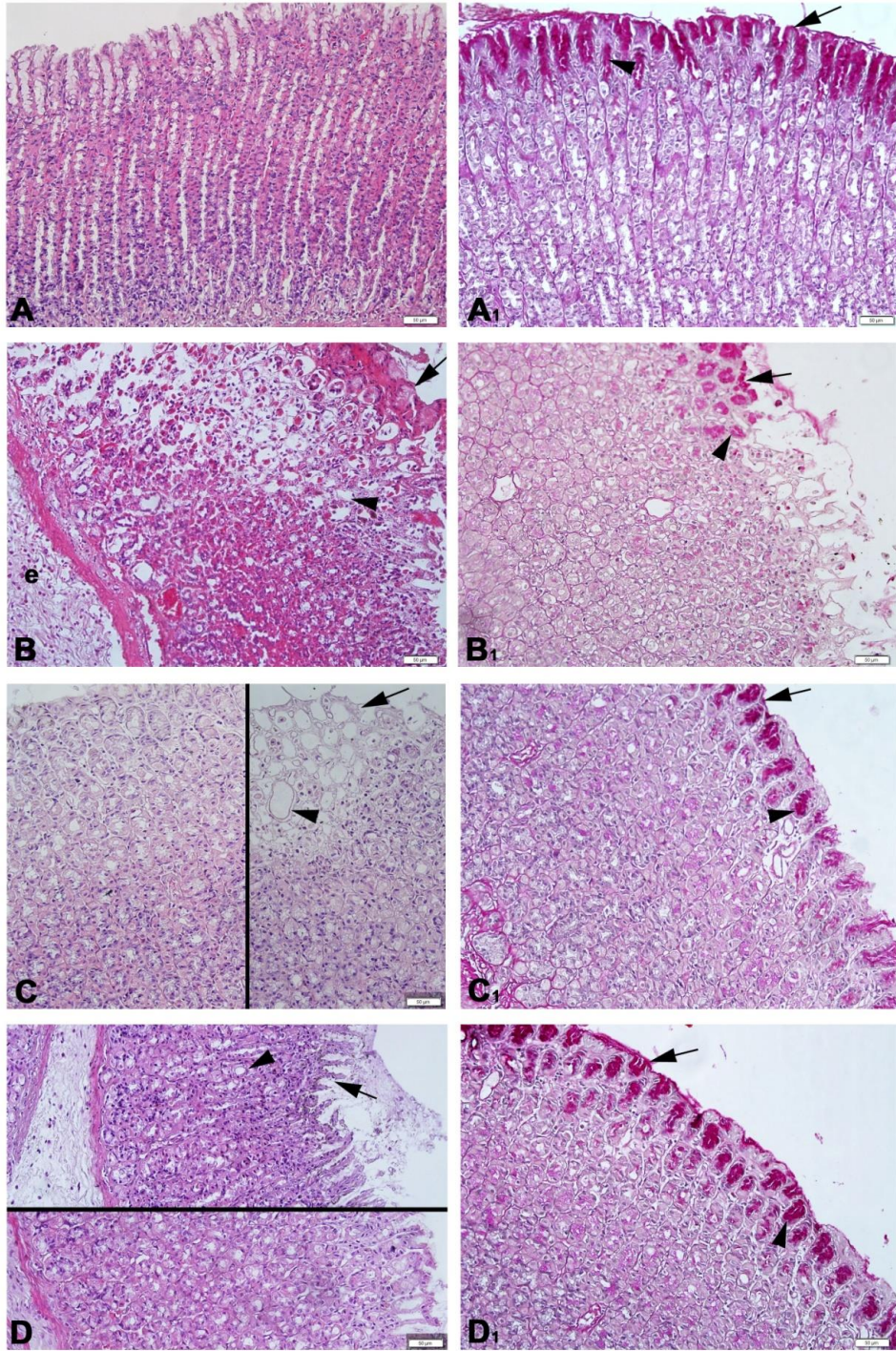


**Şekil-23.** Deney gruplarına ait mide mikroskopik skorlar (\*\*\*p<0,001 kontrol gruplarına göre, +p<0,05 ve ++p<0,01 indo veya etanol gruplarına göre).



**Resim-3.** A) İndo kontrol, B) İndo, C) İndo+Ranitidin, D) İndo+Metformin gruplarına ait H&E boyama görüntüleri. İleri derecede hasarlı yüzey epiteli (ok) ve glandüler epitel (ok) hücreleri. A<sub>1</sub>) İndo kontrol, B<sub>1</sub>) İndo, C<sub>1</sub>) İndo+Ranitidin, D<sub>1</sub>) İndo+Metformin gruplarına ait midelerin PAS boyama görüntüleri. PAS pozitif boyanmış yüzey (ok) ve boyun (ok başı) mukus hücreleri. Ölçek: 50 µm, büyütme: 10X.

İndo kontrol grubunda mide mukozası ve submukozası normal morfolojide izlendi. Yüzey mukus ve boyun mukus hücreleri normal dağılımda ve PAS pozitif olarak gözlendi. İndometazin ile ülserin indüklendiği grupta, yüzey mukus ve boyun mukus epitel hücrelerinde ve bez epitelinde ileri derecede hasar ve belirgin inflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlendi. Yüzey mukus ve boyun mukus hücrelerinin mukozal hasarın yaygın olduğu bölgelerde tamamen haraplandığı ya da hiç olmadığı ve PAS pozitif alanların oldukça azaldığı görüldü. Ranitidin alan indo grubunda yüzey ve boyun mukus hücre hasarının azaldığı, lümeni genişlemiş hasarlı glandüler epitel hücreleri olan tübüler bez yapısının olduğu gözlendi. Bu grupta PAS pozitif boyanan yüzey ve boyun mukus hücrelerin sayısı orta düzeyde arttı. Metformin alan indo grubunda ise yüzey ve boyun mukus hücrelerinin hasarının yer yer olduğu, glandüler epitel hücrelerinin ise hafif düzeyde hasarlı olduğu gözlendi. Bu grupta PAS pozitif boyanan yüzey ve boyun mukus hücrelerin sayısı orta düzeyde arttı (Resim-3).



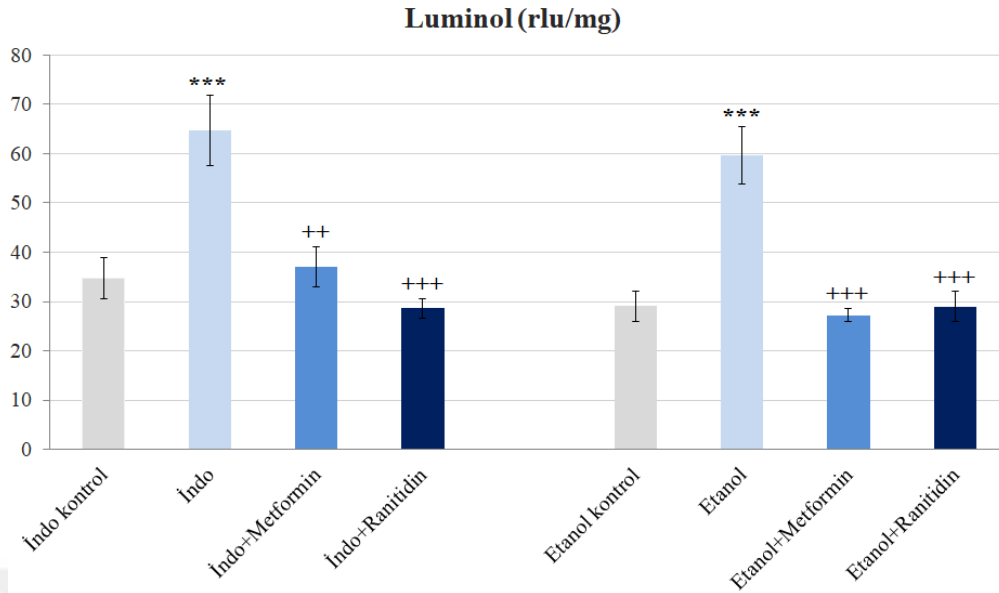
**Resim-4.** A) Etanol kontrol, B) Etanol, C) Etanol+Ranitidin D) Etanol+Metformin gruplarına ait H&E boyama görüntüleri. İleri derecede hasarlı yüzey epiteli (ok) ve glandüler epitel (ok) hücreleri ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu (e). A<sub>1</sub>) Etanol kontrol, B<sub>1</sub>) Etanol, C<sub>1</sub>) Etanol+Ranitidin, D<sub>1</sub>) Etanol+Metformin gruplarına ait midelerin PAS boyama görüntüleri. PAS pozitif boyanmış yüzey (ok) ve boyun (ok başı) mukus hücreleri. Ölçek: 50  $\mu$ m, büyütme: 10X.

Etanol kontrol grubunda mide mukozası ve submukozası normal morfolojide izlendi. Yüzey mukus ve boyun mukus hücreleri normal dağılımda ve PAS pozitif olarak gözlemlendi. Etanol ile ülserin indüklendiği gruplarda, yüzey mukus ve boyun mukus epitel hücrelerinde ve bez epitelinde ileri derecede hasar ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlemlendi. Yüzey mukus ve boyun mukus hücrelerinin mukozal hasarın yaygın olduğu bölgelerde tamamen haraplandığı ya da hiç olmadığı ve PAS pozitif alanların oldukça azaldığı görüldü. Etanol+Ranitidin grubunda yüzey ve boyun mukus hücrelerinin ve glandüler epitel hücre hasarının bazı bölgelerde devam ettiği gözlemlendi. Bu grupta, PAS pozitif boyanan yüzey ve boyun mukus hücrelerinin sayısının oldukça fazla arttığı tespit edildi. Metformin veya ranitidin alan etanol gruplarında, yüzey ve boyun mukus hücreleri ve glandüler epitel hücre hasarının bazı bölgelerde devam ettiği gözlemlendi. Bu gruplarda PAS pozitif boyanan yüzey ve boyun mukus hücrelerinin sayısının oldukça fazla arttığı görüldü (Resim-4).

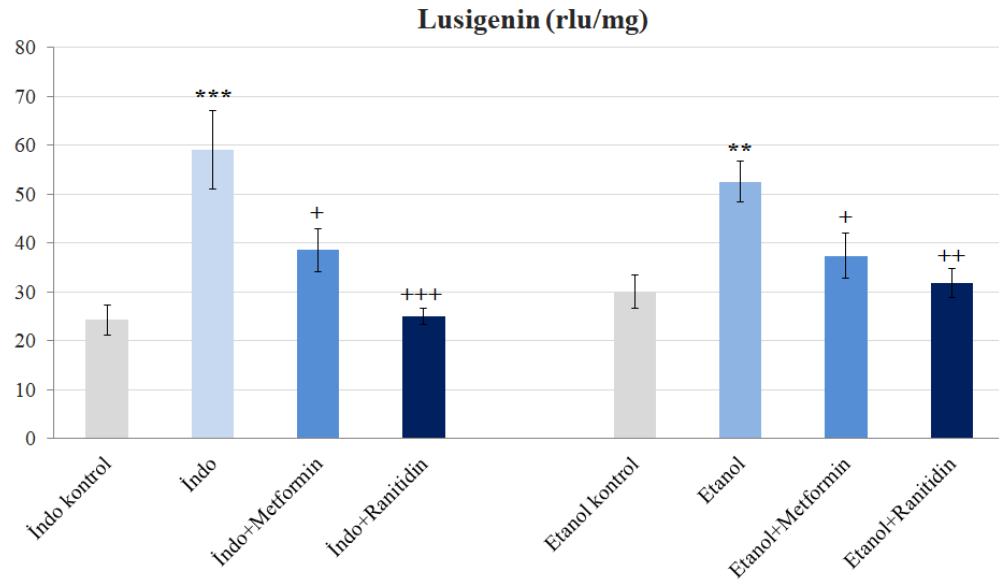
#### **6.4. Mide Dokusunun Kemiluminisans Bulguları**

İndo grubunda kontrol grubuna göre (luminol:  $34,65 \pm 4,18$  rlu/mg; lusigenin:  $24,23 \pm 3,11$  rlu/mg) artan kemiluminisans değerleri (luminol:  $64,69 \pm 7,06$  rlu/mg; lusigenin:  $59,01 \pm 7,98$  rlu/mg;  $p < 0,001$ ) metformin ön tedavisiyle birlikte düşüş kaydetti (luminol:  $37,00 \pm 4,05$  rlu/mg; lusigenin:  $38,54 \pm 4,39$  rlu/mg) ( $p < 0,01$  ve  $p < 0,05$ ). Ranitidin alan indo grubunda da kemiluminisans değerleri (luminol:  $28,67 \pm 1,97$  rlu/mg; lusigenin:  $25,03 \pm 1,63$  rlu/mg) indo grubuna göre anlamlı olarak azaldı ( $p < 0,001$ ) (Şekil-24 ve Şekil-25).

Etanol grubunda (luminol:  $59,71 \pm 5,87$  rlu/mg; lusigenin:  $52,56 \pm 4,12$  rlu/mg) kontrole (luminol:  $29,05 \pm 3,01$  rlu/mg; lusigenin:  $30,01 \pm 3,40$  rlu/mg;  $p < 0,001$  ve  $p < 0,01$ ) göre artan kemiluminisans değerleri, metformin tedavisiyle (luminol:  $27,15 \pm 1,32$  rlu/mg; lusigenin:  $37,33 \pm 4,64$  rlu/mg) azalma gösterdi ( $p < 0,001$  ve  $p < 0,05$ ). Benzer şekilde, ranitidin ön tedavisi yapılan etanol grubunda da (luminol:  $28,97 \pm 3,01$  rlu/mg; lusigenin:  $31,76 \pm 3,02$  rlu/mg) tedavisiz etanol grubuna oranla kemiluminisans değerleri anlamlı olarak azaldı ( $p < 0,001$  ve  $p < 0,01$ ) (Şekil-24 ve Şekil-25).



**Şekil-24.** Deney gruplarına ait mide luminol kemiluminisans değerleri (\*\*\*p<0,001 kontrol gruplarına göre; ++p<0,01 ve +++p<0,001 indo veya etanol gruplarına göre).



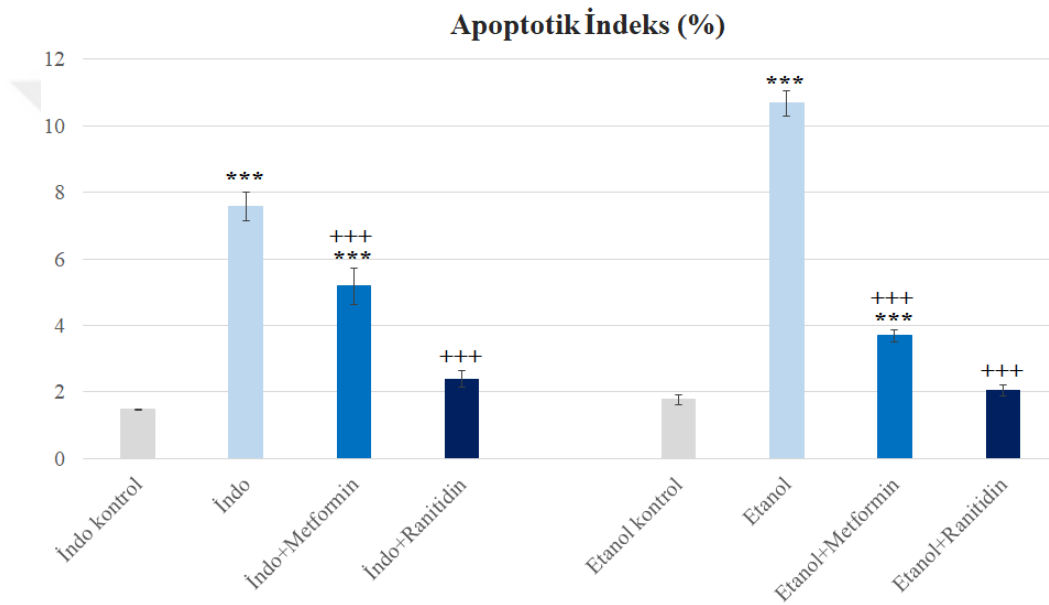
**Şekil-25.** Deney gruplarına ait mide lusigenin kemiluminisans değerleri (\*\*p<0,01 ve \*\*\*p<0,001 kontrol gruplarına göre; +p<0,05, ++p<0,01 ve +++p<0,001 indo veya etanol gruplarına göre).

## 6.6. Mide Dokusunun Apoptoz Sonuçları

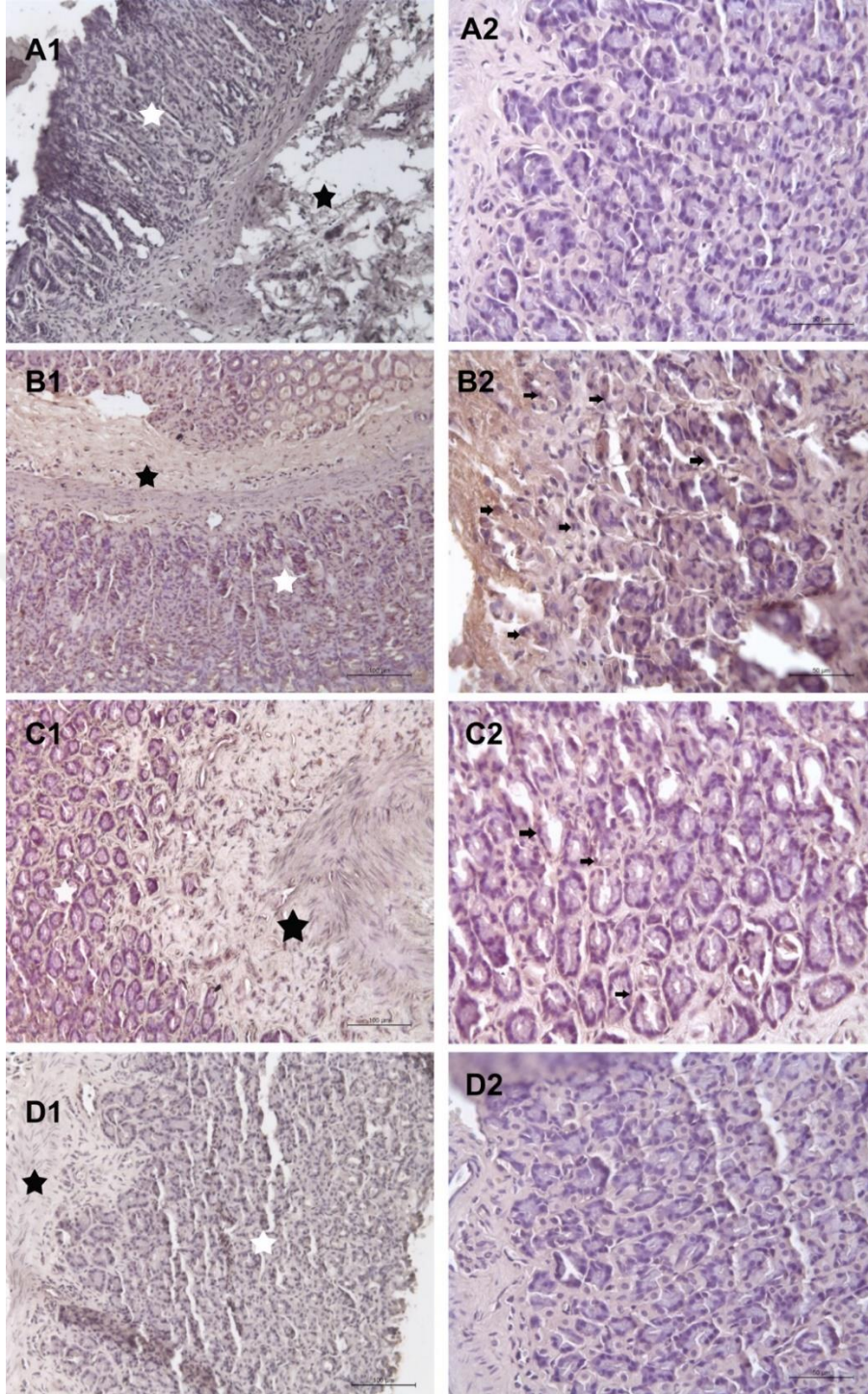
TUNEL tekniği kullanılarak yapılan immünohistokimyasal incelemelere göre indo kontrol grubuna (%1,74±0,14) göre indo grubunda (%7,57±0,42) anlamlı olarak artan

( $p<0,001$ ) apoptotik indeks, metformin ön tedavisi ile ( $5,18\pm0,54$ ;  $p<0,001$ ) anlamlı olarak azalma sağladı. Yine ranitidin ön tedavisi ( $2,40\pm0,24$ ) de indo grubuna göre apoptotik indeksi anlamlı olarak düşürdü ( $p<0,001$ ) (Şekil-26) (Resim-5).

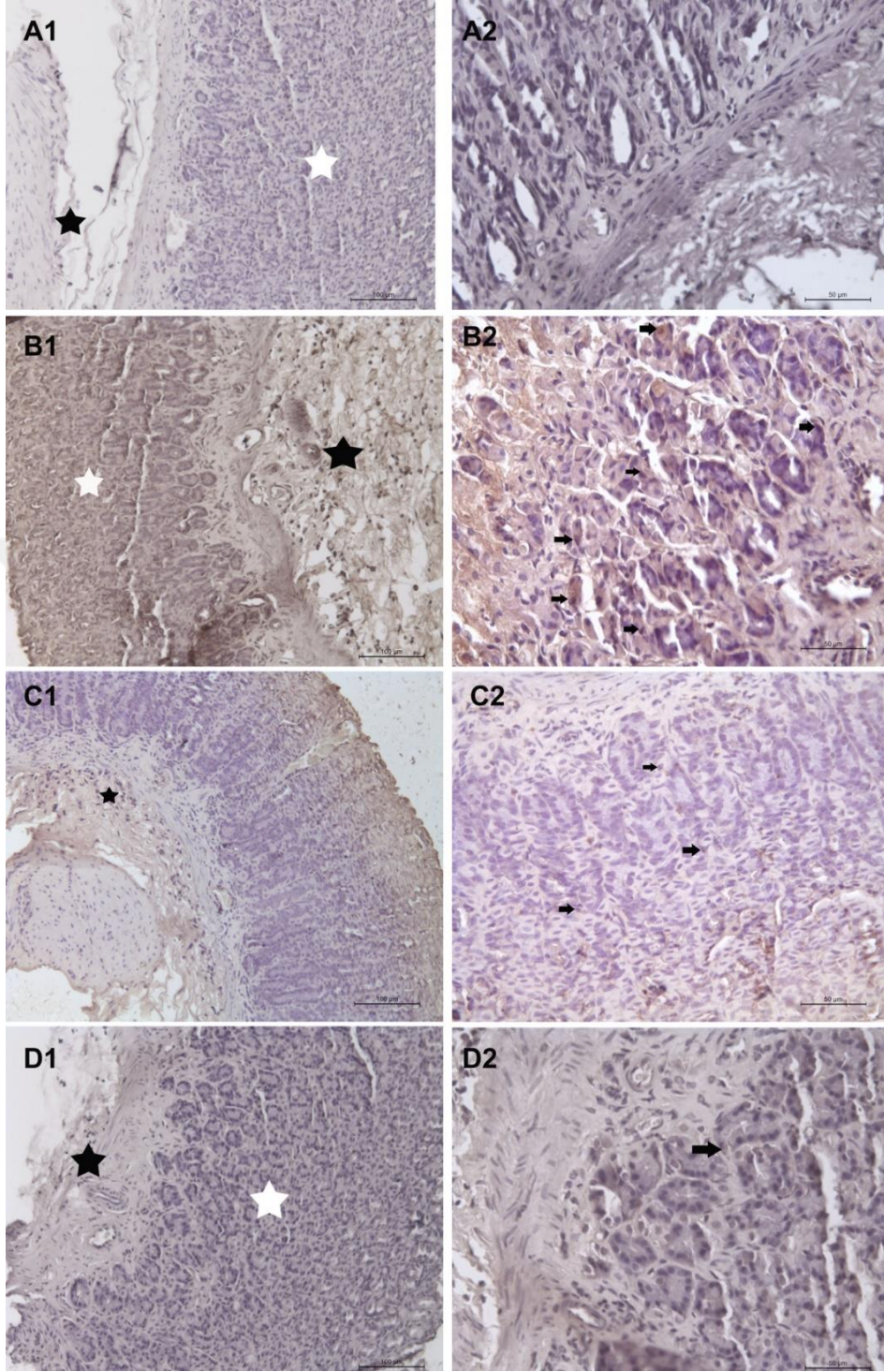
Etanol grubunda ise apoptotik indeks ( $10,67\pm0,38$ ) etanol kontrol grubuna ( $1,77\pm0,14$ ) anlamlı olarak arttı ( $p<0,001$ ). Metformin ön tedavisi alan grupta ( $3,69\pm0,19$ ;  $p<0,001$ ) ise, bu değer anlamlı olarak düşüş kaydetti. Benzer şekilde, ranitidin ön tedavisi yapılan grupta da ( $2,05\pm0,17$ ) apoptotik indeks anlamlı olarak düşüş gösterdi ( $p<0,001$ ) (Şekil-26) (Resim-6).



**Şekil-26.** Deney gruplarına ait mide örneklerinde apoptotik indeks (%) verileri (\*\*\* $p<0,001$  kontrol gruplarına göre; +++ $p<0,001$  indo veya etanol gruplarına göre).



**Resim-5.** İndo gruplarına ait mide örneklerinin immün boyama görüntüleri. İndo kontrol (A1-2), İndo (B1-2), İndo+Metformin (C1-2) ve İndo+Ranitidin (D1-2) grupları. Siyah yıldız ile işaretlenen tunica submukoza, beyaz yıldız ile işaretlenen tunica mukoza, siyah ok ile belirtilen apoptotik hücreler. A1, B1, C1 ve D1'in ölçek barı 100 µm, büyütme 20X; A2, B2, C2 ve D2'nin ölçek barı 50 µm, büyütme 40X.

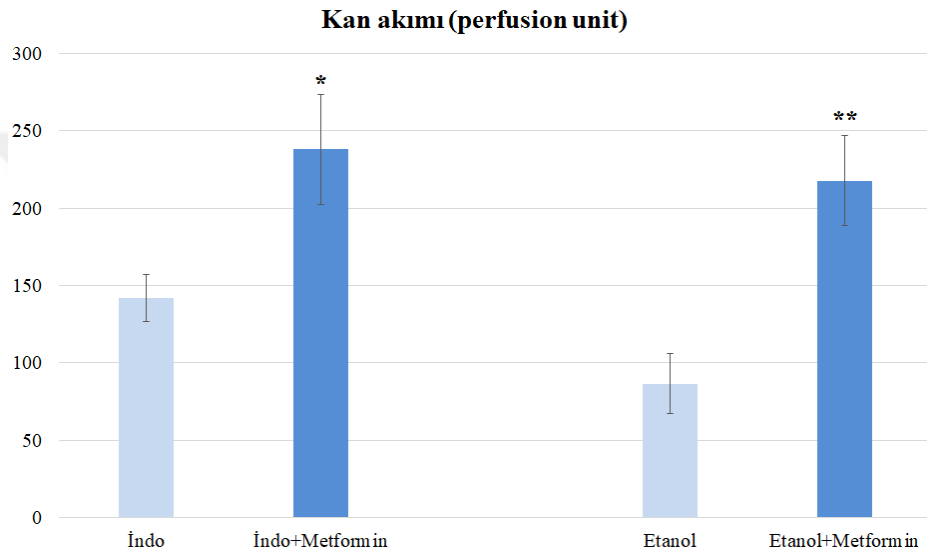


**Resim-6.** Etanol gruplarına ait mide örneklerinin immün boyama görüntüleri. Etanol kontrol (A1-2), Etanol (B1-2), Etanol+Metformin (C1-2) ve Etanol+Ranitidin (D1-2) grupları. Siyah yıldız ile işaretlenen tunica submukoza, beyaz yıldız ile işaretlenen tunica mukoza, siyah ok ile belirtilen apoptotik hücreler. A1, B1, C1 ve D1'in ölçek barı 100 µm, büyütme 20X; A2, B2, C2 ve D2'nin ölçek barı 50 µm, büyütme 40X.

## 6.6. Mide Kan Akımı Ölçüm Sonuçları

İndometazin verilmeden önce metformin alan grupta mide kan akımı ( $238,00 \pm 35,49$  PU) indometazin ile ülserin indüklendiği gruba ( $141,90 \pm 14,90$  PU) göre anlamlı olarak artış kaydetti ( $p < 0,05$ ) (Şekil-27).

Benzer şekilde, metformin ile ön tedavi edilen etanol grubunda da mide kan akımı ( $217,70 \pm 29,19$  PU) tedavisiz gruba ( $86,42 \pm 19,32$  PU) kıyasla artış gösterdi ( $p < 0,01$ ) (Şekil-27).



**Şekil-27.** Lazer-doppler akımölçer ile ölçülen mide kan akımı değerleri (\* $p < 0,05$  indo grubuna göre; \*\* $p < 0,01$  etanol grubuna göre).

## 6.7. Serumda TNF- $\alpha$ ve IL-1 $\beta$ Düzeyleri

Serum TNF- $\alpha$  düzeyleri ve IL-1 $\beta$  seviyeleri Tablo-3'te gösterilmiştir. Gruplar arasında TNF- $\alpha$  düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlılık tespit edilemedi.

IL-1 $\beta$  açısından indo grubunda ( $0,36 \pm 0,05$  pg/ml) ile indo kontrol ( $0,32 \pm 0,03$  pg/ml) grubu mukayese edildiğinde, anlamlı olarak artış gözlemlendi ( $p < 0,001$ ). Metformin ön tedavisi alan indo grubunda tedavisiz gruba göre anlamlı bir fark saptanmazken, ranitidin ön tedavisi bunu azalttı ( $p < 0,05$ ).

Etanol grubu ( $0,37 \pm 0,08$  pg/ml) ile etanol kontrol grubu ( $0,34 \pm 0,05$  pg/ml) karşılaştırıldığında, IL-1 $\beta$  seviyesi ülser grubunda anlamlı şekilde arttı ( $p < 0,05$ ).

Metformin ve ranitidin alan gruplarda ise tedavisiz etanol grubuna kıyasla anlamlı bir fark gözlenmedi (Tablo-3).

**Tablo-3.** Deney guplarına ait TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  seviyeleri (\*p<0,05 ve \*\*\*p<0,001 kontrol grularına göre; +p<0,05 indo veya etanol gruplarına göre).

|                               | TNF- $\alpha$ (pg/ml) | IL-1 $\beta$ (pg/ml) |
|-------------------------------|-----------------------|----------------------|
| <b><u>İndo grupları</u></b>   |                       |                      |
| <b>İndo kontrol</b>           | 0,20 $\pm$ 0,00       | 0,32 $\pm$ 0,03      |
| <b>İndo</b>                   | 0,22 $\pm$ 0,01       | 0,36 $\pm$ 0,05 ***  |
| <b>İndo+Metformin</b>         | 0,21 $\pm$ 0,00       | 0,35 $\pm$ 0,05      |
| <b>İndo+Ranitidin</b>         | 0,21 $\pm$ 0,01       | 0,34 $\pm$ 0,07 +    |
| <b><u>Etanol grupları</u></b> |                       |                      |
| <b>Etanol kontrol</b>         | 0,20 $\pm$ 0,01       | 0,34 $\pm$ 0,05      |
| <b>Etanol</b>                 | 0,20 $\pm$ 0,00       | 0,37 $\pm$ 0,08 *    |
| <b>Etanol+Metformin</b>       | 0,21 $\pm$ 0,00       | 0,35 $\pm$ 0,09      |
| <b>Etanol+Ranitidin</b>       | 0,21 $\pm$ 0,00       | 0,36 $\pm$ 0,06      |

## 7. TARTIŞMA VE SONUÇ

Gastrik ülser yaygın görülen bir üst sindirim sistemi hastalığıdır. Yüksek dozlarda ve sık NSAİİ kullanımı mide mukozasında hasara neden olmaktadır. NSAİİ, COX enzimini inhibe ederek etkinliğini gösterir ve midede koruyucu mekanizmalara ket vururlar. Nötrofil aktivasyonunu artırarak oksidan hasara sebep olur. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretiminin artmasıyla hücre membranlarında lipit peroksidasyonu başlar ve nihayetinde gastrik mukozal hasar meydana gelir (Demir ve diğ., 2002). Gastrik bikarbonat ve mukus sekresyonunun azalması da NSAİİ'ye bağlı erozyonların oluşumuna katkıda bulunur.

Etanol ise midede mukozal bariyer bütünlüğünü bozarak epitelde dökülmeye ve nekroza yol açar (Guslandi, 1987). Böylece mukozal geçirgenlik artar ve nötrofillerin tahrip olan bölgeye ekstrasvasyonu ROS ve diğer inflamasyon mediyatörlerinin miktarını yükselterek hücreler üzerinde oksidan hasarı tetikler. Artan ROS vazokonstrüksiyona, ödeme, hemorajiye ve iskemi sonucunda kan akımının bozulmasına, gastrik hücrelerin ölümüne yol açar (Pan ve ark., 2008).

T2DM tedavisinde en sık reçete edilen ilaçlar arasında yer alan metformin artmış kan glikoz düzeyini normal düzeye düşürme etkisinden bağımsız olarak inflamasyonda da önemli işlevlere sahiptir. Son dönemlerde yapılan çalışmalar, metforminin hipoglisemik etkisinin yanı sıra, anti-inflamatuvar ve anti-kanser gibi çeşitli potansiyel faydalı etkilere sahip olabileceği fikrine odaklanmıştır. Oksidan üretimini inhibe ederek veya başta SOD olmak üzere endojen anti-oksidan enzimlerin ekspresyonunu artırarak hücre içi regülasyonda görev aldığı rapor edilmiştir (Jones, 2008). Metforminin oksidatif stres ile aktive olan AMPK'nın NF-κB inhibisyonuna neden olabileceğini ileri süren çalışmalar vardır (Luo ve ark., 2010). NF-κB translokasyonunu baskılayarak inflamatuvar sitokinlerin genlerinin transkripsiyonunu engellemektedir (Tan ve ark., 2009).

Daha önce 2017 yılında yapılan bir çalışmada, asetik asit ile oluşturulan deneysel ülseratif kolit modelinde, farklı dozlarda ve sürelerde uygulanan metforminin kolonik mukozal hasarı önemli ölçüde azalttığı, oksidatif homeostazın sürdürülmesine ve doza bağlı şekilde bağırsak transitinin düzeltilmesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir

(Pandey ve diğ., 2017). Aynı çalışmada metforminin bu koruyucu etkisinin, inflamatuvar bağırsak hastalığı tedavilerinde yaygın olarak kullanılan mesalazin ile benzer düzeyde olduğu ileri sürülmüştür. Bizim çalışmamızın bulgularına göre, metformin ile üç günlük ön tedavi hem etanol hem de indometazin ile indüklenen mide ülseri modellerinde gastrik lezyonları hem makroskopik hem de mikroskopik düzeyde önemli ölçüde gerilettiler. Özellikle etanol ile indüklenen mide ülserinde metformin ön tedavisi, H<sub>2</sub> reseptör antagonisti olan ranitidin ön tedavisine benzer şekilde ülser gelişimini önlemede başarılı oldu. Ek olarak, metformin uygulanan ülser gruplarında mikroskopik düzeyde PAS pozitif hücre sayısının tedavisiz gruplara göre artması metforminin mukus miktarında artışa yol açığının da işaretidir.

Diyabetik hastalarla yapılan bir klinik çalışmada, metformin tedavisi ile sülfonilüre tedavisi karşılaştırılmış ve serumda ölçülen MDA düzeylerinin metformin tedavisi alanlarda anlamlı olarak düştüğü gösterilmiştir. Oksidatif stres parametreleri ise plazmada TAS (toplam antioksidan miktarı, µmol/l) ile belirlenmiş ve metformin tedavisi alan hastalarda, sülfonilüre tedavisi alan gruba göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (Faure ve diğ., 2008). Bir fare modelinde, metforminin pre ve post tedavilerinin karaciğeri asitaminofen kaynaklı akut yaralanmalardan koruduğu gözlemlenmiştir (Du ve ark., 2016). Dokudaki MDA seviyelerinde artış, artan serbest oksijen radikal üretiminin bir göstergesidir. Ayrıca, lipid peroksidasyonu, karaciğerde asitaminofen toksisitesinden sonra ROS üretimi ve hücre ölümüyle doğrudan bağlantılıdır (Yin ve diğ., 2011; Yoshioka ve ark., 2017). Metformin, histolojik olarak da kayda değer bir şekilde karaciğer dokusundaki lipid peroksidasyonunu iyileştirmiştir. Bizim çalışmamızda da MDA seviyelerinde, indo grupları arasında anlamlı bir fark bulunamazken; etanol grubunda etanol kontrol grubuna göre anlamlı olarak artan MDA düzeyi metformin ön tedavisiyle anlamlı olarak azalma gösterdi. ROS oluşumunun belirlenmesi için luminol ve lusigenin problemleri vasıtasıyla tayin edilen kemiluminisans sonuçlarına göre hem indometazin hem de etanol ile indüklenen ülser gruplarında artan luminol ve lusigenin miktarları metformin ön tedavisiyle oldukça düşüş kaydetti. Bu etki ranitidin ön tedavisi alan gruplara benzer şekilde gerçekleşti. Bu da metforminin, dokuda oksidan oluşumunu azalttığı ve dolayısıyla dokuyu ROS'e karşı koruduğu anlamına gelmektedir.

MPO sadece dokuya nötrofil infiltrasyonunun ve aktivasyonunun bir belirtici değil, aynı zamanda inflamatuvar koşullarda doku hasarına katkıda bulunan reaktif ara maddelerin oluşumunu da katalizleyen bir enzimdir. Ancak çalışmamızda, tedavisiz ülserli gruplarda midede mikroskobik düzeyde inflamatuvar hücre miktarında artış ve tedavilerle bu durumda kısmi düzelme görülmekle birlikte MPO aktivitesi açısından gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi.

Bir çalışmada, metformin tedavisi gentamisin ile indüklenen nefropatiye bağlı böbrek yetmezliğini tamamen engellerken (non-diyabetik hastalarda bile) bunu lipit peroksidasyonu azaltarak ve anti-oksidan sistemlerde artışa neden olarak sağlamıştır. (Morales ve diğ., 2010). Obez olmayan ve seçici spontan T2DM ile karakterize Goto-Kakizaki sıçanlar ile yapılan başka bir araştırmada ise (bu hayvanlarda oksidatif stres ve mitokondriyal disfonksiyon tipik fenomenlerdir), metformin GSH düzeylerini anlamlı derecede artırmıştır (Correia ve diğ., 2008) ve bu anti-diyabetik ajanın sinir sisteminde önemli bir anti-oksidan etkiye sahip olabileceği fikrini güçlendirmiştir. Yine bir başka çalışmada STZ ile indüklenen diyabetik sıçanların karaciğerinde, metforminin GSH düzeylerini artırdığı ortaya konulmuştur (Yanardag ve ark., 2005). Endojen anti-oksidan glutatyon, hücreleri  $H_2O_2$  ve lipit hidroperoksitler dahil radikallerden korur. Böylece, GSH eksikliği hücrelerin anti-oksidan kapasitesini düşürerek ROS birikmesine yol açar. Hayvan dokularında, GSH tükenmesi aynı zamanda serbest radikallerin neden olduğu hasara karşı duyarlılıklarını da artırır (Chan ve Cherian, 1992). Asitaminofen ile indüklenen akut karaciğer hasarı oluşturulan modelde, lipit peroksidasyonu düzeylerini normale döndüren metformin SOD, katalaz ve glutatyon transferaz enzimlerinin aktivitesini de artırarak anti-oksidan sistemlerin aktivasyonuna katkıda bulunmuştur (Du ve ark., 2016). Benzer başka bir çalışmada da metforminin karaciğeri alkole bağlı hasara karşı koruduğu gösterilmiştir (Bergheim ve ark. 2006). Aynı çalışmada, metformin tedavisi sonrası kandaki oksidan belirteçler (ROS, MDA ve protein karbonil) azalma kaydetmiştir. Bunun yanı sıra, metformin kanda anti-oksidan sistemlerin (plazmanın ferrik indirgeme kabiliyeti (FRAP) ve GSH) seviyesini artırmıştır (Tripathi ve ark., 2019). Çalışmamızın bulgularına göre de, indometazin ile ülser oluşturulan grupta azalan mide GSH düzeyi metformin ön tedavisiyle kontrol grubuna yakın düzeylere kadar artmıştır.

SOD enzimi, süperoksit serbest radikallerini  $H_2O_2$  ve moleküler  $O_2$ 'ne dönüştürürken, katalaz enzimi,  $H_2O_2$ 'e indirgemeyi katalizleyerek dokuları yüksek derecede reaktif serbest hidroksil radikallerinden korur (Fridovic, 1983; Ceretta ve ark., 2012). Mitokondriyal kompleks-1 inhibisyonu SOD2 (mitokondriyal SOD) ekspresyonunu indüklemesine rağmen yalnızca orta dereceli inhibisyon ROS üretimini inhibe eder. Bu nedenle, mitokondriyal kompleksin orta dereceli inhibisyonun, mitokondriyal işlevi koruduğunu ve SOD2'nin artan ekspresyonuyla ilgili olabileceği ileri sürülmüştür (Geng ve diğ., 2020). Bunun tersine, mitokondriyal kompleksin tam inhibisyonu, mitokondrinin ciddi işlev bozukluğuna yol açar ve hücre ölümünü şiddetlendirir. Palmitat ile hepatik hücre ölümünün indüklendiği deneysel bir modelde, metformin sadece SOD'un mitokondriyal izoformu olan SOD2 ekspresyonunu indüklerken sitoplazmik izoform olan SOD1 ekspresyonunu stimüle etmemiştir. Bu sonuçlar ayrıca mitokondrinin, lipotoksisteyi antagonize etmede metforminin ilk hedefi olabileceği fikrini desteklemektedir (Geng ve diğ., 2020).

Asetik asit ile indüklenen deneysel akut kolit modelinde, metforminin, ROS detoksifikasyonunda anahtar bir role sahip olan enzimatik anti-oksidanlar SOD ve katalaz aktivitesini artırdığı ve redoks dengesini koruyarak inflamasyona karşı koruduğu bildirilmiştir (Pandey ve ark., 2017).

Metforminin, iskemi-reperfüzyon ile gelişen ROS oluşumunu azaltarak ve endojen anti-oksidan Mn-SOD (SOD2) ile katalaz enzimlerinin up-regülasyonunu teşvik ederek kalbi iskemi-reperfüzyon hasarından koruduğu ortaya konulmuştur (Wang ve ark., 2017). Aşırı ROS üretimi, miyokardiyositlerin apoptozunun ana nedenidir (Murphy ve Steenbergen, 2008). Metformin uygulanan gruplarda apoptotik protein Bax ve apoptotik hücreler ile bölünmüş kaspaz-3'ün daha düşük ekspresyonu gösterilmiştir. Ek olarak, metformin tedavisi ROS aracılı apoptozu önemli ölçüde inhibe etmiştir. Metformin apoptozu AMPK/ROS sinyal yoluna bağlı şekilde apoptozu engellediğini gösterir. Böylelikle metforminin hem in vitro hem de ex vivo sıçanlarda anti-oksidan enzimlerin up-regülasyonu yoluyla miyokardiyal iskemi reperfüzyon hasarını hafifletebileceği kanıtlanmıştır (Wang ve ark., 2017).

Çalışmamızın verilerine göre, katalaz enzim düzeylerinde her iki ülser gruplarında anlamlı değişiklikler saptanmadı, ancak metformin ön tedavisi alan indo grubunda tedavisiz gruba kıyasla katalaz aktivitesi artma eğilimi gösterdi. SOD verilerine göre

ise, metformin ön tedavisi yapılan indo grubunda, tedavisiz gruba göre SOD aktivitesi anlamlı bir değişiklik göstermedi. Diğer taraftan, etanol gruplarına bakıldığında kontrole göre azalma gösteren SOD düzeyi metformin ön tedavisiyle engellendi.

Metforminin apoptoz üzerine etkisi literatürde tartışmalıdır. Bir çalışmada (Guigas ve ark., 2004) metforminin oksidatif stresin apoptoz üzerindeki sonuçlarını önlediği ve hipergliseminin mitokondri ile ilişkili toksisitesini azalttığı bildirilmiştir. Böylece mitokondriyal kompleks-1'i inhibe ederek hücre ölümünü önlemiş ve mitokondriyal geçirgenliği azaltmıştır. Buna karşılık, ilaçlarla AMPK aktivasyonu, JNK veya p38 kinazın aracılık ettiği hepatositler, pankreas  $\beta$  hücreleri kardiyomiyositler dahil olmak üzere, çeşitli hücrelerde apoptozu uyarmıştır. AMPK'nın aşırı ekspresyonunun hücrelerin hidrojen peroksit duyarlılığını artırdığı gözlemi (Lee ve diğ., 2010) hipotezini desteklemektedir. Rapor edilen başka bir çalışmaya göre (Langer ve diğ., 2016), yüksek glikoz düzeyi AMPK fosforilasyonunu azaltarak mTOR aktivasyonunu indüklerken, metformin ön tedavisi bunu ortadan kaldırarak tersine çevirmiştir. Ayrıca, doza bağımlı şekilde yüksek glikoz ile artmış podosit apoptozunu geri çevirmiştir. Diyabetik nefropatiye bağlı renal tübüler hasar üzerine yapılan diğer bir araştırmada, metformin doza bağlı olarak tübüler hücrelerde apoptotik hücre ölümünü ciddi şekilde azaltmıştır (Ishibashi ve diğ., 2012). Bizim bulgularımız da bu sonuçlarla uyumludur. Çalışmamızda indometazin ve etanolün sebep olduğu hasarla birlikte mide örneklerinde apoptoz artarken, metformin ile ön tedavi her iki modelde de apoptotik hücre oranını anlamlı derece düşürmüştür.

T2DM'un yönetiminde geniş spektruma sahip metforminin, doku kan akımı üzerindeki etkileri, artan kan akımı ve azalan aterotrombotik riskin kombinasyonu, risk altındaki dokuları koruyabilmesi nedeniyle önemlidir (Grant, 2003). T2DM ve obez hastalarda kan akımının azalması insülin direnci gelişmesine katkıda bulunan bir mekanizma olarak kabul edilmektedir (Baron ve diğ., 1990; Laakso ve ark., 1992). Bu konuyla ilişkili obez olmayan T2DM hastalarıyla yapılan bir çalışmada, periferik glikoz metabolizması, ön kolda indirekt kalorimetri ile analiz edilmiş ve metformin alan diyabet hastalarında ön kol glikoz alımı artmıştır. Aynı zamanda, ön kol glikoz alımındaki artış, kan akımındaki artıştan kaynaklandığı gösterilmiştir. Sonuçta, diyabette azalan kan akımının metformin tedavisinden sonra arttığı, kas düzeyinde insülin direncinin düştüğü ve kas tarafından glikoz alımının restore edildiği

gösterilmiştir (Magalhães ve ark., 2006). Çalışmaya göre, bu yeni etki, muhtemelen kemirgen modellerinde (Bhalla ve ark., 1996; Katakam ve diğ., 2000) ve hasta çalışmalarında (Landin ve diğ., 1991) bildirilen vasküler fonksiyondaki iyileşmeye katkıda bulunur veya bunun sonucu olabilir. Bu durum metforminin vasküler fonksiyon üzerinde doğrudan bir etkisi olduğunu göstermektedir (Magalhães ve ark., 2006). Periferik arter hastalığı olan 15 deneğin dahil edildiği, plasebo kontrollü çapraz geçişli bir çalışmada 6 aylık metformin tedavisinden sonra periferik arter kan akımı kısa bir iskemik dönemi takiben ölçülmüş ve elde edilen sonuçlara göre periferik arteriyel kan akımında anlamlı bir iyileşme olmuştur (Sirtori ve diğ., 1984).

T2DM yaygın mikro- ve makrovasküler yetmezlik ile ilişkilidir (Morris ve ark., 1995; Williams ve ark., 1996). Mikrovasküler deri kan akımı, periferik sempatik aktivite, endotel fonksiyonu ve çeşitli hormonal mekanizmalar gibi fizyolojik fonksiyonlar tarafından düzenlenen karmaşık bir sistemdir (Forst ve ark., 2005). İnsülin analogları ile gerçekleştirilen dört haftalık glisemik kontrolü iyileştirme stratejisi, mikrodolaşımdaki endotelial reaktiviteyi geliştirmiş ve metformin ile tedavi, metabolik kontrolün tamamlanmasından önce bile açlıkta mikrovasküler endotel fonksiyonu iyileştirebilmiştir (Forst ve ark., 2005). Bu çalışma dışında, metforminin insanlarda vasküler yanıtlar üzerindeki etkisine ilişkin farklı araştırmalar da yayınlanmıştır. İnsüline dirençli diyabetik deneklerden oluşan bir popülasyonda metforminin kan akımı üzerinde daha önce gözlemlenen etkilerini doğrulamakta ve genişletmektedir (Mather ve diğ., 2001). Metformin T2DM hastalarında, vazodilatör NO'nin prekürsörü L-arjinine karşı hemodinamik yanıtı artırmaktadır (Marfella, 1996; Asagami ve diğ., 2002). Metforminin kan akımı üzerindeki etkileri hem iskelet kasına hem de yağ dokusuna uzanıyor gibi görünmektedir ve muhtemelen NO metabolizmasının aracılık ettiği bir yolla kan akımını iyileştirdiği kabul edilmektedir (Grant, 2003). Bizim çalışmamızda da ülser oluşturulmadan önce metformin ön tedavisi yapılan sıçanlarda mide kan akımı, ülser gruplarına göre anlamlı olarak arttı. Sonuçta, metformini kan akımını regüle ederek sitoproteksiyona katkıda bulunması mümkündür. Önceki literatür bulgularına danyanarak, bu etkinin NO veya PG gibi vazodilatör mediyatörler aracılığıyla gerçekleşmesi mümkündür. Bu artışın altında yatan hücresel mekanizmaları anlamak için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Metformin anti-oksidan özelliklere sahip olmakla kalmaz, aynı zamanda anti-inflamatuvar NF- $\kappa$ B proteininin down-regülasyonuna yol açan TNF- $\alpha$  ve IL-6 gibi pro-inflamatuvar sitokinlerinin sinyal yollarını da suprese eder (Delkhosh-Kasmaie ve ark., 2018). Sıçanda obezite ve metabolik sendrom modellerinde, metforminin kanda TNF- $\alpha$  ve IL-6 gibi inflamatuvar araçların seviyelerini düşürdüğü ve adezyon moleküllerinin ekspresyonunu hafiflettiği gösterilmiştir (Hattori ve diğ., 2006; Desai ve diğ., 2013).

Yapılan çalışmalar metforminin makrofajlar üzerindeki inflamatuvar sinyalizasyonun diğer dokulardaki insülin duyarlılığını etkilediğini ileri sürmüştür. Makrofajlardan sitokin salgılanması incelendiğinde, metforminin, aktive makrofajlardan pro-inflamatuvar sitokin salgılanmasını azaltmada oldukça seçici davranmıştır. Bunu anti-inflamatuvar sitokin sekresyonunu ve makrofaj farklılaşmasını ve aktivasyonu belirteçlerini etkilemeden gerçekleştirmiştir (Jing ve diğ., 2017).

Metformin, vasküler endotelial hücrelerde TNF- $\alpha$  ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonunu önleyerek çeşitli inflamatuvar sitokinlerin ve hücre adezyon moleküllerinin NF- $\kappa$ B'ye bağlı gen ekspresyonunu bloke etmektedir. Bu etkiye AMPK'nın aracılık ettiği iddia edilmiştir (Huang ve diğ., 2009). Metforminin anti-inflamatuvar etkisi yalnızca vasküler endotelial hücrelerde ve düz kas hücrelerinde değil, aynı zamanda diğer hücre tiplerinde de rapor edilmiştir. Makrofajlarda NF- $\kappa$ B aktivasyonunun inhibisyonu yoluyla metforminin NO, PGE2 ve pro-inflamatuvar sitokinlerin (IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$ ) üretimini azalttığı bildirilmiştir (Hyun ve diğ., 2013).

Açlık glikozu bozulmuş olan hastalarda metforminin monositlerin salgılama işlevi üzerindeki etkisi incelenmiş ve metforminin monositlerden TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, MCP-1 ve IL-8 sekresyonunu azalttığı ve aynı zamanda, plazma CRP düzeyini düşürdüğü gösterilmiştir (Krysiak ve Okopien, 2013). Aynı grup, metforminin, IL-2, interferon (IFN)- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin lenfositler tarafından serbestlenmesi üzerinde de benzer baskılayıcı etkisi olduğunu bildirmiştir (Krysiak ve Okopien, 2012).

Ağırlıklı olarak makrofajlar tarafından serbestlenen TNF- $\alpha$ , inflamatuvar hastalıklarda önemli rol oynar (Koh ve diğ., 2014). Aslında, yüksek IL-6 ve TNF- $\alpha$  seviyeleri, birden fazla insülin hedef organında insülin duyarlılığını bozmuş ve bu da kronik

düşük dereceli inflamatuvar durumun ilerlemesini hızlandırmıştır (Wen ve ark., 2011). Bu nedenle, metforminin anti-inflamatuvar faydaları glikoz metabolizmasındaki bozukluğun iyileşmesine de katkıda bulunmuştur.

Metformin, transkripsiyon faktörü NF- $\kappa$ B'nin aktivitesinin bloke edilmesi ve pro-inflamatuvar sitokinlerin (TNF- $\alpha$ , IL-6 ve IL-1 $\beta$ ) salgılanması ve COX-2 ve iNOS'un inhibisyonu (Kalariya ve ark., 2012) yoluyla çeşitli hastalık durumlarında inflamasyonu inhibe eder (Isoda ve diğ., 2006).

Sıçanda kolit modelinde, metformin tedavisi MPO, nitrit, TNF- $\alpha$  ve PGE2 seviyelerini normalize etmiştir (Pandey ve diğ., 2017). Bu sitokinlerin iNOS'u stimüle ettiği, NO üretimini artırdığı ve bunun da COX'u indükleyebileceği iyi bilinmektedir.

Ülser patogenezinde pro-inflamatuvar araçlar önemli bir role sahiptir. NO üretimi, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 ve PGE2 gibi mediyatörlerin düzeylerindeki artışla ilişkilidir. Bu sitokinler çeşitli hücre tiplerini aktive ederek mukozal hasara katkıda bulunur ve seviyeleri inflamasyonun derecesiyle ilişkilidir. Çalışmamızda elde ettiğimiz verilere göre, her iki ülser modelinde de gruplar arasında serum TNF- $\alpha$  düzeyleri bakımından anlamlı bir fark bulunmadı. Serum IL-1 $\beta$  düzeylerinde, indo grubunda indo kontrol grubuna göre anlamlı bir artış görülürken metformin ön tedavisi yapılan grupta bu sitokin seviyesi düşüş meyili gösterse de istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenemedi. Etanol grubunda da etanol kontrol grubuna göre artmış olan serum IL-1 $\beta$  seviyesi metformin ön tedavisiyle bir düşüş eğilimi sergiledi ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Sonuç olarak, bu tez çalışması metformin ön tedavisinin farklı mide ülseri modellerinde koruyucu etkileri olduğu hipotezini doğrulayan ilk araştırmadır. Metformin indometazin ve etanol ile indüklenen mide ülseri modellerinde kısmi koruma sağladı. Bu korumada, oksidan oluşumunda ve dokuda apoptoz seviyesinde azalma ile mide kan akımındaki artma olası mekanizmalar olarak görülmektedir. Klinikte, T2DM hastalarında komorbidite durumunun yönetiminde metformin yeni bir strateji olabilir.

## KAYNAKLAR

Abbas Amr M, Hussein F Sakr. Effect of Selenium and Grape Seed Extract on Indomethacin-Induced Gastric Ulcers in Rats. *Journal of physiology and biochemistry*. 2013; 69, no. 3: 527-37.

Adinortey Michael Buenor, Charles Ansah, Isaac Galyuon, Alexander Nyarko. In Vivo Models Used for Evaluation of Potential Antigastroduodenal Ulcer Agents. *Ulcers* 2013.

Aebi Hugo. Catalase in Vitro. In *Methods in Enzymology*. 1984; 121-26: Elsevier.

Al Asmari Abdulrahman, Hamoud Al Shahrani, Nasser Al Masri, Ahmed Al Faraidi, Ibrahim Elfaki, Mohammed Arshaduddin. Vanillin Abrogates Ethanol Induced Gastric Injury in Rats Via Modulation of Gastric Secretion, Oxidative Stress and Inflammation. *Toxicology reports*. 2016; 3: 105-13.

Allen Adrian, Gunnar Flemström. Gastroduodenal Mucus Bicarbonate Barrier: Protection against Acid and Pepsin. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 2005; 288, no. 1: C1-C19.

Anand Bhupinderjit S, Jim J Romero, Sudershan K Sanduja, Lenard M Lichtenberger. Phospholipid Association Reduces the Gastric Mucosal Toxicity of Aspirin in Human Subjects. *The American journal of gastroenterology*. 1999; 94, no. 7: 1818-22.

Apotex Nz Ltd, New Zealand Data Sheet, Metformin Datasheet.

Arafa Hossam MM, Mohamed M Sayed-Ahmed. Protective Role of Carnitine Esters against Alcohol-Induced Gastric Lesions in Rats. *Pharmacological Research*. 2003; 48, no. 3: 285-90.

Asagami T., Abbasi F., Stuelinger M., Lamendola C., McLaughlin T., Cooke J. P., Reaven GM., Tsao P. S. Metformin treatment lowers asymmetric dimethylarginine concentrations in patients with type 2 diabetes. *Metabolism-Clinical and Experimental*. 2002; 51(7), 843-846.

Aykaç Gülçin, Uysal Müjdat, Yalçın A. Süha, Koçak-Toker Necla, Sivas Ahmet, Öz Hikmet. The Effect of Chronic Ethanol Ingestion on Hepatic Lipid Peroxide, Glutathione, Glutathione Peroxidase and Glutathione Transferase in Rats. *Toxicology*. 1985; 36, no. 1: 71-76.

Bahadır Elif, Muhammet Bulut, Beyza Kabayuka, Ece Soylem Senkal, Abdullah Avlac, Meral Yuksel, Feriha Ercan, Inci Alican. The Effect of Simvastatin Pretreatment on Stress-Induced Gastric Ulcer in Rats. *Marmara Medical Journal*. 2016; 29, no. 1.

Bailey Clifford J. Metformin: Historical Overview. *Diabetologia*. 2017; 60, no. 9: 1566-76.

Barbero-Becerra J, Santiago-Hernandez J J, Villegas-Lopez F A, Mendez-Sanchez N, M Uribe, Chavez-Tapia N C. Mechanisms Involved in the Protective Effects of Metformin against Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Current medicinal chemistry*. 2012; 19, no. 18: 2918-23.

Baron A. D., Laakso M., Brechtel G., Høit B., Watt C., Edelman, S. V. Reduced postprandial skeletal muscle blood flow contributes to glucose intolerance in human obesity. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1990; 70(6), 1525-1533.

Barrett Kim E, Susan M Barman, Heddwen L Brooks, Jason X-J Yuan. *Ganong's Review of Medical Physiology*. Çeviri Editörü: Prof. Dr. Ümmühan İsoğlu-Alkaç, *Ganong'un Tıbbi Fizyolojisi*. 25. Basım. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., İstanbul; 2018.

Bauer H., T Jung D. Tsikas, Do Stichtenoth, Frölich C., Neumann C. Nitric Oxide Inhibits the Secretion of T-Helper 1- and T-Helper 2-Associated Cytokines in Activated Human T Cells. *Immunology*. 1997; 90, no. 2: 205-11.

Bergheim I., Guo L., Davis M. A., Lambert J. C., Beier J. I., Dubeau I., James P. Luyendyk J. P., Roth R. A., Arteel, G. E. Metformin prevents alcohol-induced liver injury in the mouse: critical role of plasminogen activator inhibitor-1. *Gastroenterology*. 2006; 130(7), 2099-2112.

Bi Wei-Ping, Hui-Bin Man, Mao-Qiang Man. Efficacy and Safety of Herbal Medicines in Treating Gastric Ulcer: A Review. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. 2014; 20, no. 45: 17020.

Blaney JM, C Hansch, PG Sammes, JB Taylor, CA Ramsden. *Comprehensive Medicinal Chemistry*. Vol. IV. 'Quantitative Drug Design', Hansch, C., Sammes, P. G., Taylor, JB, Eds 1990.

Bradley Peter P., Dennis A. Priebat, Robert D. Christensen, Gerald Rothstein. MPO. Measurement of Cutaneous Inflammation: Estimation of Neutrophil Content with an Enzyme Marker. *The Journal Of. Investigative Dermatology*. 1982; 78: 206-09.

Brodie David A, Hanson Harley M. A Study of the Factors Involved in the Production of Gastric Ulcers by the Restraint Technique. *Gastroenterology*. 1960; 38, no. 3: 353-60.

Brzozowski Tomasz, Peter C Konturek, Robert Pajdo, Sławomir Kwiecień, Stanisław Konturek, Aneta Targosz, Grzegorz Burnat, Jakub Cieszkowski, Wiesław W. Pawlik, Eckhart G. Hahn. Agonist of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma: A New Compound with Potent Gastroprotective and Ulcer Healing Properties. *Inflammopharmacology*. 2005; 13, no. 1-3: 317-30.

Bugat Roland, Michael R Thompson, Dorothea Aures, and Morton I Grossman. Gastric Mucosal Lesions Produced by Intravenous Infusion of Aspirin in Cats. *Gastroenterology*. 1976; 71, no. 5: 754-59.

Büyükcoşkun Naciye İşbil. Stres Ülseri ve Nöropeptidler. *Uludağ üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 2002; 28, no. 3: 109-13.

Calam John, JH Baron. Pathophysiology of Duodenal and Gastric Ulcer and Gastric Cancer. *Bmj*. 2001; 323, no. 7319: 980-82.

Cao Jia, Shumei Meng, Evan Chang, Katherine Beckwith-Fickas, Lishou Xiong, Robert N Cole, Sally Radovick, Fredric E Wondisford, and Ling He. Low Concentrations of Metformin Suppress Glucose Production in Hepatocytes through Amp-Activated Protein Kinase (Ampk). *Journal of Biological Chemistry*. 2014; 289, no. 30: 20435-46.

Casini AF, M Ferrali, Alfonso Pompella, E Maellaro, M Comporti. Lipid Peroxidation and Cellular Damage in Extrahepatic Tissues of Bromobenzene-Intoxicated Mice. *The American journal of pathology*; 1986; 123, no. 3: 520.

Ceretta L. B., Réus G. Z., Abelaira H. M., Ribeiro K. F., Zappellini G., Felisbino F. F., Steckert A. V., Dal-Pizzol F, Quevedo, J. Increased oxidative stress and imbalance in antioxidant enzymes in the brains of alloxan-induced diabetic rats. *Experimental Diabetes Research*, 2012.

Chan Hing Man, Cherian M. George. Protective roles of metallothionein and glutathione in hepatotoxicity of cadmium. *Toxicology* 1992; 72.3: 281-290.

Chatzaki E., Lambropoulou M., Constantinidis T. C., Papadopoulos N., Taché, Y., Minopoulos, G., Grigoriadis, D. E. Corticotropin-releasing factor (CRF) receptor type 2 in the human stomach: Protective biological role by inhibition of apoptosis. *Journal of cellular physiology*, 2006; 209(3), 905-911.

Cho CH, Koo MWL, Garg GP, CW Ogle. Stress-Induced Gastric Ulceration: Its Aetiology and Clinical Implications. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 1992; 27, no. 4: 257-62.

Cooke CE. Disease Management: Prevention of Nsaid-Induced Gastropathy. *Drug Benefit Trends*. 1996; 8, no. 3: 14-22.

Correia Sónia, Carvalho Cristina, Santos Maria S, Teresa Proença, Elsa Nunes, Ana I Duarte, Pedro Monteiro, Raquel Seiça, Catarina R Oliveira, Paula I Moreira. Metformin Protects the Brain against the Oxidative Imbalance Promoted by Type 2 Diabetes. *Medicinal chemistry*. 2008; 4, no. 4: 358-64.

Costanzo Linda S. "Physiology." Elsevier, Inc. All rights reserved, 2018.

Daniels Ian R, William H Allum. "The Anatomy and Physiology of the Stomach." In *Upper Gastrointestinal Surgery*. 2005; 17-37.

Davenport, Horace W. Salicylate Damage to the Gastric Mucosal Barrier. *New England Journal of Medicine*. 1967; 276, no. 23: 1307-12.

Davies Neal M, Joseph Y Saleh, Neil M Skjodt. Detection and Prevention of Nsaid-Induced Enteropathy. *J Pharm Pharm Sci*. 2000; 3, no. 1: 137-55.

Davis Bradley J, Zhonglin Xie, Benoit Viollet, and Ming-Hui Zou. Activation of the Amp-Activated Kinase by Antidiabetes Drug Metformin Stimulates Nitric Oxide Synthesis in Vivo by Promoting the Association of Heat Shock Protein 90 and Endothelial Nitric Oxide Synthase. *Diabetes*. 2006; 55, no. 2: 496-505.

de Souza Silva, Francielli Maria, Mário Henrique Rocha Alves Da Silva, Adelar Bracht, Gabrielle Jacklin Eller, Rodrigo Polimeni Constantin, and Nair Seiko

Yamamoto. Effects of Metformin on Glucose Metabolism of Perfused Rat Livers. *Molecular and cellular biochemistry*. 2010; 340, no. 1-2: 283-89.

Desai N, Roman A, Rochelson B, Gupta M, Xue X, Chatterjee PK, Tam Tam H, Metz CN. Maternal metformin treatment decreases fetal inflammation in a rat model of obesity and metabolic syndrome. *Am J Obstet Gynecol*. 2013; 209:9–1.

Dekanski JB, A Macdonald, P Sacra, and DV Parke. Effects of Fasting, Stress and Drugs on Gastric Glycoprotein Synthesis in the Rat. *British journal of pharmacology*. 1975; 55, no. 3: 387-92.

Del Soldato P, D Foschi, G Benoni, C Scarpignato. Oxygen Free Radicals Interact with Indomethacin to Cause Gastrointestinal Injury. *Agents and actions*. 1986; 17, no. 5-6: 484-88.

Delaney Joseph A, Lucie Opatrny, James M Brophy, Samy Suissa. Drug–Drug Interactions between Antithrombotic Medications and the Risk of Gastrointestinal Bleeding. *Cmaj*. 2007; 177, no. 4: 347-51.

Delkhosh-Kasmaie F., Farshid A. A., Tamaddonfard E., Imani M. The effects of safranal, a constituent of saffron, and metformin on spatial learning and memory impairments in type-1 diabetic rats: behavioral and hippocampal histopathological and biochemical evaluations. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2018; 107, 203-211.

Demir Süleyman, Mustafa Yilmaz, Mehmet Köseoğlu, Nalan Akalin, Diler Aslan, and Ahmet Aydın. Role of Free Radicals in Peptic Ulcer and Gastritis. *Turkish Journal of Gastroenterology*. 2003; 14, no. 1: 39-43.

Ding Song-Ze, Shiu-Kum Lam, Siu-Tsan Yuen, Benjamin Chen-Yu Wong, Wei-Mo Hui, Joanna Ho, Xin Guo, and Chi-Hin Cho. Prostaglandin, Tumor Necrosis Factor A and Neutrophils: Causative Relationship in Indomethacin-Induced Stomach Injuries. *European journal of pharmacology*. 1998; 348, no. 2-3: 257-63.

Du K., Ramachandran A., Weemhoff J. L., Chavan H., Xie Y., Krishnamurthy, P., Jaeschke, H. Editor's highlight: metformin protects against acetaminophen hepatotoxicity by attenuation of mitochondrial oxidant stress and dysfunction. *Toxicological Sciences*. 2016; 154(2), 214-226.

Duan Quanlu, Ping Song, Ye Ding, Ming-Hui Zou. Activation of Amp-Activated Protein Kinase by Metformin Ablates Angiotensin Ii-Induced Endoplasmic Reticulum Stress and Hypertension in Mice in Vivo. *British journal of pharmacology*. 2017; 174, no. 13: 2140-51.

Ellis Harold. *Anatomy of the Stomach. Surgery (Oxford)*. 2011; 29, no. 11: 541-43.

Faure P., Wiernsperger N., Polge C., Favier A., Halimi S. (2008). Impairment of the antioxidant properties of serum albumin in patients with diabetes: protective effects of metformin. *Clinical Science*. 2008; 114(3), 251-256.

Feng Wen-Huan, Yan Bi, Ping Li, Ting-Ting Yin, Cai-Xia Gao, Shan-Mei Shen, Li-Jun Gao, Dong-Hui Yang, and Da-Long Zhu. Effects of Liraglutide, Metformin, Gliclazide on Body Composition in Patients with Both Type 2 Diabetes and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: A Randomized Trial. *Journal of diabetes investigation*. 2019; 10, no. 2: 399-407.

Filaretova L., Bagaeva T., Podvigina T., Makara, G. Various ulcerogenic stimuli are potentiated by glucocorticoid deficiency in rats. 2001; *Journal of Physiology-Paris*, 95(1-6), 59-65.

Filaretova L., Podvigina T., Bagaeva T., Bobryshev P., Takeuchi K. Gastroprotective role of glucocorticoid hormones. *Journal of pharmacological sciences*, 2007; 104(3), 195-201.

Forst T., Lübben G., Hohberg C., Kann P., Sachara C., Gottschall V., Friedrich C., Reiner S., Pfützner, A. (2005). Influence of glucose control and improvement of insulin resistance on microvascular blood flow and endothelial function in patients with diabetes mellitus type 2. *Microcirculation*. 2005; 12(7), 543-550.

Foretz Marc, Bruno Guigas, Luc Bertrand, Michael Pollak, and Benoit Viollet. Metformin: From Mechanisms of Action to Therapies. *Cell metabolism*. 2014; 20, no. 6: 953-66.

Fridovich, I. Superoxide dismutases: regularities and irregularities. *Harvey lectures*. 1983; 79: 51.

Foretz Marc, Sophie Hébrard, Jocelyne Leclerc, Elham Zarrinpashneh, Maud Soty, Gilles Mithieux, Kei Sakamoto, Fabrizio Andreelli, and Benoit Viollet. Metformin Inhibits Hepatic Gluconeogenesis in Mice Independently of the Lkb1/Ampk Pathway Via a Decrease in Hepatic Energy State. *The Journal of clinical investigation*. 2010; 120, no. 7: 2355-69.

Fornai Matteo, Rocchina Colucci, Luca Antonioli, Oriana Awwad, Clara Ugolini, Marco Tuccori, Federica Fulceri, et al. Effects of Esomeprazole on Healing of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug (Nsaid)-Induced Gastric Ulcers in the Presence of a Continued Nsaid Treatment: Characterization of Molecular Mechanisms. *Pharmacological research*. 2011; 63, no. 1: 59-67.

Fox Stuart Ira. *Human Physiology*. 12th Edition. 2010.

Fullerton Morgan D, Sandra Galic, Katarina Marcinko, Sarah Sikkema, Thomas Pulinilkunnil, Zhi-Ping Chen, Hayley M O'Neill, Rebecca J Ford, Rengasamy Palanivel, Matthew O'Brien, D Grahame Hardie, S Lance Macaulay, Jonathan D Schertzer, Jason R B Dyck, Bryce J van Denderen, Bruce E Kemp, Gregory R Steinberg. Single Phosphorylation Sites in Acc1 and Acc2 Regulate Lipid

Homeostasis and the Insulin-Sensitizing Effects of Metformin. *Nature medicine*. 2013; 19, no. 12: 1649.

Geerling Janine J, Mariëtte R Boon, Gerard C van der Zon, Sjoerd AA van den Berg, Anita M van den Hoek, Marc Lombès, Hans MG Princen, et al. Metformin Lowers Plasma Triglycerides by Promoting Vldl-Triglyceride Clearance by Brown Adipose Tissue in Mice. *Diabetes*. 2014; 63, no. 3: 880-91.

Geng Y., Villanueva A. H., Oun A., Buist-Homan M., Blokzijl H., Faber K. N., Amalia D., Moshage, H. (2020). Protective effect of metformin against palmitate-induced hepatic cell death. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 2020; 1866(3), 165621.

Glavin Gary B, Szabo Sandor. Experimental Gastric Mucosal Injury: Laboratory Models Reveal Mechanisms of Pathogenesis and New Therapeutic Strategies. *The FASEB journal*. 1992; 6, no. 3: 825-31.

Gomaa Asmaa MS, Nashwa A Abd El-Mottaleb, and Hazem A Aamer. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Alpha Lipoic Acid Protect against Indomethacin-Induced Gastric Ulcer in Rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2018; 101: 188-94.

Graham Garry G, Jeroen Punt, Manit Arora, Richard O Day, Matthew P Doogue, Janna K Duong, Timothy J Furlong, Jerry R Greenfield, Louise C Greenup, Carl M Kirkpatrick, John E Ray, Peter Timmins, Kenneth M Williams. Clinical Pharmacokinetics of Metformin. *Clinical pharmacokinetics*. 2011; 50, no. 2: 81-98.

Grant P. J. Beneficial effects of metformin on haemostasis and vascular function in man. *Diabetes & metabolism*. 2003; 29(4), 6S44-6S52.

Griffin Simon J, James K Leaver, and Greg J Irving. Impact of Metformin on Cardiovascular Disease: A Meta-Analysis of Randomised Trials among People with Type 2 Diabetes. *Diabetologia*. 2017; 60, no. 9: 1620-29.

Guigas Bruno, Dominique Detaille, Christiane Chauvin, Cécile Batandier, Frédéric De Oliveira, Eric Fontaine, and Xavier Leverve. Metformin Inhibits Mitochondrial Permeability Transition and Cell Death: A Pharmacological in Vitro Study. *Biochemical journal*. 2004; 382, no. 3: 877-84.

Guslandi M. Effects of Ethanol on the Gastric Mucosa. *Digestive diseases*. 1987; 5, no. 1: 21-32.

Guyton AC, Hall JE. *Textbook of Medical Physiology* Çeviri Editörü: Berrak Ç. Yeğen. Tıbbi Fizyoloji. 13. basım, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., İstanbul; 2017.

Gutierrez-Repiso Carolina, Rodriguez-Pacheco Francisca, Garcia-Arnes Juan, Valdes Sergio, Gonzalo Montserrat, Soriguer Federico, Francisco J Moreno-Ruiz, Alberto Rodriguez-Cañete, Jose L Gallego-Perales, Guillermo Alcain-Martinez, Luis Vazquez-Pedreño, Soledad Lopez-Enriquez, Sara Garcia-Serrano, Lourdes Garrido-Sanchez, Eduardo Garcia-Fuentes. The Expression of Genes Involved in Jejunal Lipogenesis and Lipoprotein Synthesis Is Altered in Morbidly Obese Subjects with Insulin Resistance. *Laboratory Investigation*. 2015; 95, no. 12: 1409-17.

Haklar Goncagül, Sayin-Özveri Emel, Yüksel Meral, Aktan A Özdemir, Yalçın A Süha. Different Kinds of Reactive Oxygen and Nitrogen Species Were Detected in Colon and Breast Tumors. *Cancer letters*. 2001; 165, no. 2: 219-24.

Halter F, AS Tarnawski, A Schmassmann, BM Peskar. Cyclooxygenase 2- Implications on Maintenance of Gastric Mucosal Integrity and Ulcer Healing: Controversial Issues and Perspectives. *Gut*. 2001; 49, no. 3: 443-53.

Handa Osamu, Yuji Naito, Tomohisa Takagi, Makoto Shimosawa, Satoshi Kokura, Norimasa Yoshida, Hirofumi Matsui, Gediminas Cepinskas, Peter R Kvietys, Toshikazu Yoshikawa. Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ -Induced Cytokine-Induced Neutrophil Chemoattractant-1 (Cinc-1) Production by Rat Gastric Epithelial Cells:

Role of Reactive Oxygen Species and Nuclear Factor- $\kappa$ B. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2004; 309, no. 2: 670-76.

Harbison S. P., Dempsey D. T. Peptic Ulcer Disease. [In eng]. *Curr Probl Surg*. 2005; 42, no. 6: 346-454.

Hattori Y., Suzuki K., Hattori S., Kasai K. Metformin inhibits cytokine-induced nuclear factor  $\kappa$ B activation via AMP-activated protein kinase activation in vascular endothelial cells. *Hypertension*. 2006; 47(6), 1183-1188.

Hawley Simon A., A. Fiona, Ross Cyrille Chevtzoff, Kevin A. Green, Ashleigh Evans, Sarah Fogarty, Mhairi C. Towler, Laura J. Brown, Oluseye A. Ogunbayo, A. Mark Evans, and D. Grahame Hardie. Use of Cells Expressing  $\gamma$  Subunit Variants to Identify Diverse Mechanisms of Ampk Activation. *Cell metabolism*. 2010; 11, no. 6: 554-65.

Holzer P. Gastroduodenal mucosal defense. *Current opinion in gastroenterology*. 2000; 16(6), 469-478.

Holzer P. Gastroduodenal mucosal defense: coordination by a network of messengers and mediators. *Current opinion in gastroenterology*. 2001; 17(6), 489-496.

Holzer P. Efferent-Like Roles of Afferent Neurons in the Gut: Blood Flow Regulation and Tissue Protection. *Autonomic Neuroscience*. 2006; 125, no. 1-2: 70-75.

Huang NL, Chiang SH, Hsueh CH, Liang YJ, Chen YJ, Lai LP. Metformin inhibits TNF- $\alpha$ -induced IkappaB kinase phosphorylation, IkappaB- $\alpha$  degradation and IL-6 production in endothelial cells through PI3K-dependent AMPK phosphorylation. *Int J Cardiol*. 2009; 134:169–75

Hultqvist Malin, Peter Olofsson, Kyra A Gelderman, Jens Holmberg, and Rikard Holmdahl. A New Arthritis Therapy with Oxidative Burst Inducers. *PLoS medicine*. 2006; 3, no. 9.

Hunt RH, Micheal Camilleri, SE Crowe, EM El-Omar, JG Fox, EJ Kuipers, Peter Malfertheiner, KEL McColl, DM Pritchard, M Rugge, A Sonnenberg,<sup>11</sup> K Sugano,<sup>12</sup> J Tack<sup>13</sup> The Stomach in Health and Disease. *Gut*. 2015; 64, no. 10: 1650-68.

Hyun, B.; Shin, S.; Lee, A.; Lee, S.; Song, Y.; Ha, N.-J.; Cho, K.-H.; Kim, K. Metformin down-regulates TNF- $\alpha$  secretion via suppression of scavenger receptors in macrophages. *Immune Netw.*, 2013; 13, 123-132.

Inzucchi Silvio E., Richard M. Bergenstal, John B. Buse, Michaela Diamant, Ele Ferrannini, Michael Nauck, Anne L. Peters, Apostolos Tsapas, Richard Wender, David R. Matthews. Management of Hyperglycaemia in Type 2 Diabetes, 2015: A Patient-Centred Approach. Update to a Position Statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetologia*. 2015; 58, no. 3: 429-42.

Ismail-Beigi Faramarz, Etie Moghissi, Mikhail Kosiborod, and Silvio E Inzucchi. Shifting Paradigms in the Medical Management of Type 2 Diabetes: Reflections on Recent Cardiovascular Outcome Trials. *Journal of general internal medicine*. 2017; 32, no. 9: 1044-51.

Jahovic Nermina, Gözde Erkanlı, Sevgin İşeri, Serap Arbak, and İnci Alican. Gastric Protection by A-Melanocyte-Stimulating Hormone against Ethanol in Rats: Involvement of Somatostatin. *Life sciences*. 2007; 80, no. 11: 1040-45.

Ishibashi Y., Matsui T., Takeuchi M., Yamagishi S. I. Beneficial effects of metformin and irbesartan on advanced glycation end products (AGEs)–RAGE-induced proximal tubular cell injury. *Pharmacological Research*. 2012; 65(3), 297-302.

Isoda K, Young JL, Zirlik A, MacFarlane LA, Tsuboi N, Gerdes N, Uwe S, Libby P. Metformin inhibits proinflammatory responses and nuclear factor-kappaB in human vascular wall cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26:611-617.

Jenkins Alicia J, Paul Welsh, and John R Petrie. Metformin, Lipids and Atherosclerosis Prevention. *Current opinion in lipidology*. 2018; 29, no. 4: 346-53.

Jiménez M. D., M. J. Martín, C. Alarcón de la Lastra, L. Bruseghini, A. Esteras, J. M. Herrerías, and V. Motilva. Role of L-Arginine in Ibuprofen-Induced Oxidative Stress and Neutrophil Infiltration in Gastric Mucosa. *Free Radic Res*. 2004; 38, no. 9: 903-11.

Jing Yuanyuan, Fan Wu, Dai Li, Lei Yang, Qi Li, and Rong Li. Metformin Improves Obesity-Associated Inflammation by Altering Macrophages Polarization. *Molecular and cellular endocrinology*. 2018; 461: 256-64.

Johnson Jeffrey A, Sumit R Majumdar, Scot H Simpson, and Ellen L Toth. Decreased Mortality Associated with the Use of Metformin Compared with Sulfonylurea Monotherapy in Type 2 Diabetes. *Diabetes care*. 2002; 25, no. 12: 2244-48.

Jones Dean P. Radical-Free Biology of Oxidative Stress. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 2008; 295, no. 4: C849-C68.

Karakoyun Berna, Unal Uslu, Feriha Ercan, Mehmet Serif Aydin, Meral Yuksel, Ayliz Velioglu Ogunc, Inci Alican. The Effect of Phosphodiesterase-5 Inhibition by Sildenafil Citrate on Inflammation and Apoptosis in Rat Experimental Colitis. *Life sciences*. 2011; 89, no. 11-12: 402-07.

Karasu Zeki. Stres Ülseri ve Proflaksisi. *Ege Tıp Dergisi*. 2001; 40, no. 2: 127-30.

Kauffman Gordon L, Morton I Grossman. Prostaglandin and Cimetidine Inhibit the Formation of Ulcers Produced by Parenteral Salicylates. *Gastroenterology*. 1978; 75, no. 6: 1099-102.

Kim Jeong-Hwan, Seok-Keun Choi, Sang-Yun Choi, Han-Kyeom KIM Hyo-Ihl Chang. Suppressive Effect of Astaxanthin Isolated from the *Xanthophyllomyces Dendrorhous* Mutant on Ethanol-Induced Gastric Mucosal Injury in Rats. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*. 2005; 69, no. 7: 1300-05.

Kirpichnikov Dmitri, I McFarlane Samy, R Sowers James. Metformin: An Update. *Ann Intern Med*. 2002; 137, no. 1: 25-33.

Koh Seong-Joon, Jung Mogg Kim, In-Kyoung Kim, Su Hyuk Ko, Joo Sung Kim. Anti-Inflammatory Mechanism of Metformin and Its Effects in Intestinal Inflammation and Colitis-Associated Colon Cancer. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2014; 29, no. 3: 502-10.

Konturek SJ, PC Konturek, T Brzozowski. Prostaglandins and Ulcer Healing. *Journal of physiology and pharmacology*. 2005; 56: 5.

Konturek SJ, PC Konturek, A Plonka, A Duda, E Sito, M Zuchowicz, EG Hahn. Implication of Gastrin in Cyclooxygenase-2 Expression in *Helicobacter Pylori* Infected Gastric Ulceration. *Prostaglandins & other lipid mediators*. 2001; 66, no. 1: 39-51.

Konturek Stanisław J Ireneusz Piastucki, Tomasz Brzozowski, Tadeusz Radecki, Aldona Dembińska-Kieć, Anna Żmuda, and Ryszard Gryglewski. Role of Prostaglandins in the Formation of Aspirin-Induced Gastric Ulcers. *Gastroenterology*. 1981; 80, no. 1: 4-9.

Krysiak R., Okopien B. The effect of metformin on monocyte secretory function in simvastatin-treated patients with impaired fasting glucose. *Metabolism*, 2013; 62, 39-43.

Krysiak, R., Okopien B. Lymphocyte-suppressing and systemic anti-inflammatory effects of high-dose metformin in simvastatin-treated patients with impaired fasting glucose. *Atherosclerosis*, 2012, 225, 403-407.

Kwon Da-Ae, Yong Sang Kim, Sin Hwa Baek, Seul-Ki Kim, Hyun Kyu Kim, Sung-Kee Jo, Uhee Jung, Hae-Ran Park, and Hak Sung Lee. Protective Effects of a Standardized Extract (Hemohim) Using Indomethacin-and Ethanol/Hcl-Induced Gastric Mucosal Injury Models. *Pharmaceutical biology*. 2019; 57, no. 1: 543-49.

Laakso M., Edelman S. V., Brechtel G., Baron, A. D. Impaired insulin-mediated skeletal muscle blood flow in patients with NIDDM. *Diabetes*.1992; 41(9), 1076-1083.

Lacy, E. R., Ito, S. Microscopic analysis of ethanol damage to rat gastric mucosa after treatment with a prostaglandin. *Gastroenterology*. 1982; 83(3), 619-625.

Landin K., Tengborn L., Smith U. Treating insulin resistance in hypertension with metformin reduces both blood pressure and metabolic risk factors. *Journal of internal medicine*. 1991; 229(2), 181-187.

Laine Loren, Koji Takeuchi, Andrzej Tarnawski. Gastric Mucosal Defense and Cytoprotection: Bench to Bedside. *Gastroenterology*. 2008; 135, no. 1: 41-60.

Lamarque D. Pathogenesis of Gastroduodenal Lesions Induced by Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Gastroenterologie clinique et biologique*. 2004; 28: C18-26.

Langer Sebastian, Reinhold Kreutz, Andreas Eisenreich. Metformin Modulates Apoptosis and Cell Signaling of Human Podocytes under High Glucose Conditions. *Journal of nephrology*. 2016; 29, no. 6: 765-73.

Lee Adrian. Animal Models of Gastroduodenal Ulcer Disease. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. 2000; 14, no. 1: 75-96.

Lee J. W., Kim W. H., Yeo J., Jung M. H. ER stress is implicated in mitochondrial dysfunction-induced apoptosis of pancreatic beta cells. *Molecules and cells*. 2010; 30(6), 545-549.

Lee Seon-Yeong, Seung Hoon Lee, Eun-Ji Yang, Eun-Kyung Kim, Jae-Kyung Kim, Dong-Yun Shin, and Mi-La Cho. Metformin Ameliorates Inflammatory Bowel Disease by Suppression of the Stat3 Signaling Pathway and Regulation of the between Th17/Treg Balance. *PloS one*. 2015; 10, no. 9.

Li Jun, McCullough Louise D. Effects of Amp-Activated Protein Kinase in Cerebral Ischemia. *Journal of cerebral blood flow & metabolism*. 2010; 30, no. 3: 480-92.

Li Rong, Lu-zhu Chen, Wang Zhao, Shui-ping Zhao, and Xian-sheng Huang. Metformin Ameliorates Obesity-Associated Hypertriglyceridemia in Mice Partly through the Apolipoprotein A5 Pathway. *Biochemical and biophysical research communications*. 2016; 478, no. 3: 1173-78.

Li Yu-Mei, Guo-Ming Lu, Xiao-Ping Zou, Zhao-Shen Li, Gui-Yong Peng, and Dian-Chun Fang. Dynamic Functional and Ultrastructural Changes of Gastric Parietal Cells Induced by Water Immersion-Restraint Stress in Rats. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. 2006; 12, no. 21: 3368.

Lichtenberger Lenard M. Gastroduodenal Mucosal Defense. *Current opinion in gastroenterology*. 1999; 15, no. 6: 463.

Lin Hui Zhi, Shi Qi Yang, Christine Chuckaree, Francis Kuhajda, Gabriele Ronnet, and Anna Mae Diehl. Metformin Reverses Fatty Liver Disease in Obese, Leptin-Deficient Mice. *Nature medicine*. 2000; 6, no. 9: 998-1003.

Lin Min-Jie, Wen Dai, Melanie J Scott, Rong Li, Yi-Qi Zhang, Yang Yang, Lu-Zhu Chen, and Xian-Sheng Huang. Metformin Improves Nonalcoholic Fatty Liver Disease

in Obese Mice Via Down-Regulation of Apolipoprotein A5 as Part of the Ampk/Lxr $\alpha$  Signaling Pathway. *Oncotarget*. 2017; 8, no. 65: 108802.

Lu Chieh-Hua, Yi-Jen Hung, and Po-Shiuan Hsieh. Additional Effect of Metformin and Celecoxib against Lipid Dysregulation and Adipose Tissue Inflammation in High-Fat Fed Rats with Insulin Resistance and Fatty Liver. *European journal of pharmacology*. 2016; 789: 60-67.

Lucassen Paul J, WC Chung, Jolanda P Vermeulen, M Van Lookeren Campagne, J Hein Van Dierendonck, and Dick F Swaab. Microwave-Enhanced in Situ End-Labeling of Fragmented DNA: Parametric Studies in Relation to Postmortem Delay and Fixation of Rat and Human Brain. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 1995; 43, no. 11: 1163-71.

Luo Zhijun, Mengwei Zang, and Wen Guo. Ampk as a Metabolic Tumor Suppressor: Control of Metabolism and Cell Growth. *Future oncology*. 2010; 6, no. 3: 457-70.

Lv Wen-shan, Jun-ping Wen, Li Li, Rui-xia Sun, Jing Wang, Yu-xin Xian, Cai-xia Cao, Yun-long Wang, and Yan-yan Gao. The Effect of Metformin on Food Intake and Its Potential Role in Hypothalamic Regulation in Obese Diabetic Rats. *Brain research*. 2012; 1444: 11-19.

Ma Li, Piero Del Soldato, John L Wallace. Divergent Effects of New Cyclooxygenase Inhibitors on Gastric Ulcer Healing: Shifting the Angiogenic Balance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2002; 99, no. 20: 13243-47.

Magalhães FO, Gouveia LM, Torquato MT, Paccola GM, Piccinato CE, Foss MC. Metformin increases blood flow and forearm glucose uptake in a group of non-obese type 2 diabetes patients. *Hormone and Metabolic Research*. 2006 Aug;38(08):513-7.

Maida A, BJ Lamont, X Cao, DJ Drucker. Metformin Regulates the Incretin Receptor Axis Via a Pathway Dependent on Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-A in Mice. *Diabetologia*. 2011; 54, no. 2: 339-49.

Marchesini Giulio, Giampaolo Bianchi, Sara Tomassetti, Marco Zoli, Nazario Melchionda. Metformin in Non-Alcoholic Steatohepatitis. *The Lancet*. 2001; 358, no. 9285: 893-94.

Marfella R., Acampora R., Verrazzo G., Ziccardi P., De Rosa N., Giunta R., Giugliano D. Metformin improves hemodynamic and rheological responses to L-arginine in NIDDM patients. *Diabetes Care*. 1996; 19(9), 934-939.

Marhuenda E, MJ Martin, C De La Alarcon Lastra. Antiulcerogenic Activity of Aescine in Different Experimental Models. *Phytotherapy Research*. 1993; 7, no. 1: 13-16.

Marshall Barry J, Warren J Robin. Unidentified Curved Bacilli in the Stomach of Patients with Gastritis and Peptic Ulceration. *The Lancet*. 1984; 323, no. 8390: 1311-15.

Massignani, Juliane Jose, Marivane Lemos, Edson Luis Maistro, Hamilton Pedro Schaphauser, Renata Fabiane Jorge, João Paulo Barreto Sousa, Jairo Kennup Bastos, Sérgio Faloni de Andrade. Antiulcerogenic Activity of the Essential Oil of *Baccharis Dracunculifolia* on Different Experimental Models in Rats. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*. 2009; 23, no. 10: 1355-60.

Mather K. J., Verma S., Anderson, T. J. Improved endothelial function with metformin in type 2 diabetes mellitus. *Journal of the American College of Cardiology*. 2001; 37(5), 1344-1350.

McCarthy DM. Mechanisms of Mucosal Injury and Healing: The Role of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 1995; 30, no. sup208: 24-29.

Miller Russell A, Qingwei Chu, Jianxin Xie, Marc Foretz, Benoit Viollet, Morris J Birnbaum. Biguanides Suppress Hepatic Glucagon Signalling by Decreasing Production of Cyclic Amp. *Nature*. 2013; 494, no. 7436: 256-60.

Morales Ana I, Detaille Dominique, Prieto Marta, Puente Angel, Elsa Briones, Miguel Arévalo, Xavier Leverve, José M López-Novoa, Mohamad-Yehia El-Mir. Metformin prevents experimental gentamicin-induced nephropathy by a mitochondria-dependent pathway. *Kidney Int* . 2010 May;77(10):861-9.

Morris S. J., Shore A. C., Tooke J. E. Responses of the skin microcirculation to acetylcholine and sodium nitroprusside in patients with NIDDM. *Diabetologia*, 1995; 38(11), 1337-1344.

Mulholland Michael W, Debas Haile T. Chronic Duodenal and Gastric Ulcer." *Surgical Clinics of North America*. 1987; 67, no. 3: 489-507.

Murphy E., Steenbergen C. Mechanisms underlying acute protection from cardiac ischemia-reperfusion injury. *Physiological reviews*. 2008; 88(2): 581-609.

Myroie Augusta A, Henry Collins, Constance Umbles, Joseph Kyle. Erythrocyte Superoxide Dismutase Activity and Other Parameters of Copper Status in Rats Ingesting Lead Acetate. *Toxicology and applied pharmacology*. 1986; 82, no. 3: 512-20.

Natali Andrea, Ferrannini Eleuterio. Effects of Metformin and Thiazolidinediones on Suppression of Hepatic Glucose Production and Stimulation of Glucose Uptake in Type 2 Diabetes: A Systematic Review. *Diabetologia*. 2006; 49, no. 3: 434-41.

Nesti, L., Natali A. Metformin effects on the heart and the cardiovascular system: a review of experimental and clinical data. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2017; 27(8), 657-669.

Neu Bruno, Andreas J Puschmann, Artur Mayerhofer, Peter Hutzler, Johannes Grossmann, Florian Lippl, Wolfgang Schepp, Christian Prinz. Tnf- $\alpha$  Induces Apoptosis of Parietal Cells. *Biochemical pharmacology*. 2003; 65, no. 10: 1755-60.

Oates Peter J, Hakkinen John P. Studies on the Mechanism of Ethanol-Induced Gastric Damage in Rats. *Gastroenterology*. 1988; 94, no. 1: 10-21.

Odabasoglu Fehmi, Cakir Ahmet, Suleyman Halis, Aslan Ali, Bayir Yasin, Halici Mesut, Kazaz Cavit. Gastroprotective and Antioxidant Effects of Usnic Acid on Indomethacin-Induced Gastric Ulcer in Rats. *Journal of ethnopharmacology*. 2006; 103, no. 1: 59-65.

Okabe Susumu, Amagase Kikuko. An Overview of Acetic Acid Ulcer Models -the History and State of the Art of Peptic Ulcer Research-. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2005; 28, no. 8: 1321-41.

Oliveira P. W. C., de Sousa G. J., Birocale A. M., Gouvêa S. A., de Figueiredo S. G., de Abreu G. R., Bissoli, N. S. Chronic metformin reduces systemic and local inflammatory proteins and improves hypertension-related cardiac autonomic dysfunction. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2019; 30(2), 274-281.

Pan Jin-Shui, Shao-Zhen He, Hong-Zhi Xu, Xiao-Juan Zhan, Xiao-Ning Yang, Hong-Min Xiao, Hua-Xiu Shi, Jian-Lin Ren. Oxidative Stress Disturbs Energy Metabolism of Mitochondria in Ethanol-Induced Gastric Mucosa Injury. *World journal of gastroenterology: WJG*. 2008; 14, no. 38: 5857.

Pandey Abhimanu, Sneh Verma, Vijay L Kumar. Metformin Maintains Mucosal Integrity in Experimental Model of Colitis by Inhibiting Oxidative Stress and Pro-Inflammatory Signaling. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017; 94: 1121-28.

Parks DA. Oxygen Radicals: Mediators of Gastrointestinal Pathophysiology. *Gut*. 1989; 30, no. 3: 293.

Pawlik Teresa, Peter C Konturek, Jan W Konturek, Stanislaw J Konturek, Tomasz Brzozowski, Marta Cześnikiewicz, Malgorzata Plonka, Władysław Bielanski, Hany Areny. Impact of Helicobacter Pylori and Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs on Gastric Ulcerogenesis in Experimental Animals and in Humans. *European journal of pharmacology*. 2002; 449, no. 1-2: 1-15.

Ramsay Philip T, Carr Aaron. Gastric Acid and Digestive Physiology. *Surgical Clinics*. 2011; 91, no. 5: 977-82.

Rektorschek Marina, Anita Buhmann, David Weeks, Dorothee Schwan, Klaus W Bensch, Sepehr Eskandari, David Scott, George Sachs, Klaus Melchers. Acid Resistance of Helicobacter Pylori Depends on the Urei Membrane Protein and an Inner Membrane Proton Barrier. *Molecular microbiology*. 2000; 36, no. 1: 141-52.

Repetto MG, Llesuy SF. Antioxidant Properties of Natural Compounds Used in Popular Medicine for Gastric Ulcers. *Brazilian journal of medical and biological research*. 2002; 35, no. 5: 523-34.

Nelson Fausto. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. Çeviri Editörü: Prof. Dr. Şükrü Oğuz Özdamar. Robbins Hastalığın Patolojik Temeli, 8. Baskı; 2018. Güneş Tıp Kitapevi.

Robert A, C Lancaster, JP Davis, SO Field, JE Nezamis. Distinction between Antiulcer Effect and Cytoprotection. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 1984; Supplement 101: 69-73.

Robert A, James E Nezamis, Cleo Lancaster, Alexander J Hanchar. Cytoprotection by Prostaglandins in Rats: Prevention of Gastric Necrosis Produced by Alcohol, Hcl, Naoh, Hypertonic Nacl, and Thermal Injury. *Gastroenterology*. 1979; 77, no. 3: 433-43.

Sabiu Saheed, Taofeeq Garuba, Taofik Sunmonu, Emmanuel Ajani, Abdulhakeem Sulyman, Ismaila Nurain, Abdulazeed Balogun. Indomethacin-Induced Gastric Ulceration in Rats: Protective Roles of Spondias Mombin and Ficus Exasperata. *Toxicology reports*. 2015; 2: 261-67.

Saisho Yoshifumi. Metformin and Inflammation: Its Potential Beyond Glucose-Lowering Effect. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)*. 2015; 15, no. 3: 196-205.

Samman Fatma S, Samah M Elaidy, Soha S Essawy, Mohammad S Hassan. New Insights on the Modulatory Roles of Metformin or Alpha-Lipoic Acid Versus Their Combination in Dextran Sulfate Sodium-Induced Chronic Colitis in Rats. *Pharmacological Reports*. 2018; 70, no. 3: 488-96.

Samuelson Linda C, Hinkle Karen L. Insights into the Regulation of Gastric Acid Secretion through Analysis of Genetically Engineered Mice. *Annual review of physiology*. 2003; 65, no. 1. 383-400.

Sánchez-Fidalgo Susana, Inés Martín-Lacave, Matilde Illanes, Virginia Motilva. Angiogenesis, Cell Proliferation and Apoptosis in Gastric Ulcer Healing. Effect of a Selective Cox-2 Inhibitor. *European journal of pharmacology*. 2004; 505, no. 1-3: 187-94.

Sanchez-Rangel, Elizabeth, Inzucchi Silvio E. Metformin: Clinical Use in Type 2 Diabetes. *Diabetologia*. 2017; 60, no. 9: 1586-93.

Sarnik S., Hofire, I., Sochor, O. Laser Doppler fluxmetry. Biomedical Papers of the Medical Faculty of Palacky University in Olomouc, 2007; 151(1).

Schade Cornelia, Gunnar Flemström, Lena Holm. Hydrogen Ion Concentration in the Mucus Layer on Top of Acid-Stimulated and-Inhibited Rat Gastric Mucosa. Gastroenterology. 1994; 107, no. 1: 180-88.

Shay Harry. A Simple Method for the Uniform Production of Gastric Ulceration in the Rat. Gastroenterology. 1945; 5: 43-45.

Shokunbi OS, Odetola AA. Gastroprotective and Antioxidant Activities of Phyllanthus Amarus Extracts on Absolute Ethanol-Induced Ulcer in Albino Rats. Journal of Medicinal Plants Research. 2008; 2, no. 10: 261-67.

Singh Laishram Pradeepkumar, Parag Kundu, Krishnendu Ganguly, Amartya Mishra, Snehasikta Swarnakar. Novel Role of Famotidine in Downregulation of Matrix Metalloproteinase-9 During Protection of Ethanol-Induced Acute Gastric Ulcer. Free Radical Biology and Medicine. 2007; 43, no. 2: 289-99.

Sirtori C. R., Franceschini G., Gianfranceschi G., Sirtori M., Montanari G., Bosisio E., Mantero E., Bondioli A. Metformin improves peripheral vascular flow in nonhyperlipidemic patients with arterial disease. Journal of cardiovascular pharmacology. 1984; 6(5), 914-923.

Sostres Carlos, Carla J Gargallo, Angel Lanas. Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs and Upper and Lower Gastrointestinal Mucosal Damage. Arthritis research & therapy. 2013; 15, no. 3: S3.

Soybel David I. Anatomy and Physiology of the Stomach. Surgical Clinics. 2005; 85, no. 5: 875-94.

Suleyman Halis, Abdulmecit Albayrak, Mehmet Bilici, Elif Cadirci, Zekai Halici. Different Mechanisms in Formation and Prevention of Indomethacin-Induced Gastric Ulcers. *Inflammation*. 2010; 33, no. 4: 224-34.

Sumbul Sabiha, Mohd Aftab Ahmad, Asif Mohd, Akhtar Mohd. Role of Phenolic Compounds in Peptic Ulcer: An Overview. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*. 2011; 3, no. 3: 361.

Takagi Keijiro, Susumu Okabe, Ryuichi Saziki. The Effects of Drugs on the Production and Recovery Processes of the Stress Ulcer. *The Japanese Journal of Pharmacology*. 1968; 18, no. 1: 9-18.

Takahashi Nobuo, Takashi Joh, Yoshifumi Yokoyama, Kyoji Seno, Tomoyuki Nomura, Hirotaka Ohara, Fusao Ueda, Makoto Itoh. Importance of Gap Junction in Gastric Mucosal Restitution from Acid-Induced Injury. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 2000; 136, no. 2: 93-99.

Takeuchi K, K Ueshima, Y Hironaka, Y Fujioka, J Matsumoto, S Okabe. Oxygen Free Radicals and Lipid Peroxidation in the Pathogenesis of Gastric Mucosal Lesions Induced by Indomethacin in Rats. *Digestion*. 1991; 49, no. 3: 175-84.

Takeuchi Koji, Susumu Okabe, Keijiro Takagi. A New Model of Stress Ulcer in the Rat with Pylorus Ligation and Its Pathogenesis. *The American journal of digestive diseases*. 1976; 21, no. 9: 782-88.

Tan Bee K, Raghu Adya, Jing Chen, Syed Farhatullah, Dennis Heutling, Dan Mitchell, Hendrik Lehnert, Harpal S Randeva. Metformin Decreases Angiogenesis Via Nf-Kb and Erk1/2/Erk5 Pathways by Increasing the Antiangiogenic Thrombospondin-1. *Cardiovascular research*. 2009; 83, no. 3: 566-74.

Tanaka Ken-ichiro, Shinji Tsutsumi, Yasuhiro Arai, Tatsuya Hoshino, Keitarou Suzuki, Eiichi Takaki, Takaaki Ito, Koji Takeuchi, Akira Nakai, Tohru Mizushima.

Genetic Evidence for a Protective Role of Heat Shock Factor 1 against Irritant-Induced Gastric Lesions. *Molecular pharmacology*. 2007; 71, no. 4: 985-93.

Tarnawski Andrzej, Amrita Ahluwalia, Michael K Jones. Gastric Cytoprotection Beyond Prostaglandins: Cellular and Molecular Mechanisms of Gastroprotective and Ulcer Healing Actions of Antacids. *Current pharmaceutical design*. 2013; 19, no. 1: 126-32.

Thorsen Kenneth, Jon Arne Søreide, Jan Terje Kvaløy, Tom Glomsaker, Kjetil Søreide. Epidemiology of Perforated Peptic Ulcer: Age-and Gender-Adjusted Analysis of Incidence and Mortality. *World Journal of Gastroenterology*. 2013; 19, no. 3: 347.

Tian Rong, Nicolas Musi, Jessica D'Agostino, Michael F Hirshman, Laurie J Goodyear. Increased Adenosine Monophosphate–Activated Protein Kinase Activity in Rat Hearts with Pressure-Overload Hypertrophy. *Circulation*. 2001; 104, no. 14: 1664-69.

Tokubuchi Ichiro, Yuji Tajiri, Shimpei Iwata, Kento Hara, Nobuhiko Wada, Toshihiko Hashinaga, Hitomi Nakayama, Hiroharu Mifune, Kentaro Yamada. Beneficial Effects of Metformin on Energy Metabolism and Visceral Fat Volume through a Possible Mechanism of Fatty Acid Oxidation in Human Subjects and Rats. *PloS one*. 2017; 12, no. 2.

Tripathi S. S., Singh S., Garg G., Kumar R., Verma A. K., Singh A. K., Bissoyi A, Rizvi S. I. Metformin ameliorates acetaminophen-induced sub-acute toxicity via antioxidant property. *Drug and Chemical Toxicology*. 2019; 1-9.

Tucker GT, C Casey, PJ Phillips, H Connor, JD Ward, HF Woods. Metformin Kinetics in Healthy Subjects and in Patients with Diabetes Mellitus. *British journal of clinical pharmacology*. 1981; 12, no. 2: 235-46.

Umemura Shinobu, Masanori Yasuda, R Yoshiyuki Osamura, Yoshihiko Kwarada, Toshihiro Sugiyama, Yutaka Tsutsumi. Enhancement of Tdt-Mediated Dntp-Biotin Nick End-Labeling (Tunel) Method Using Mung Bean Nuclease, a Single-Stranded DNA Digestion Enzyme. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 1996; 44, no. 2: 125-32.

Vaananen Paula M, Jonathan B Meddings, John L Wallace. Role of Oxygen-Derived Free Radicals in Indomethacin-Induced Gastric Injury. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 1991; 261, no. 3: G470-G75.

van Stee Mariël F, Albert A de Graaf, Albert K Groen. Actions of Metformin and Statins on Lipid and Glucose Metabolism and Possible Benefit of Combination Therapy. *Cardiovascular diabetology*. 2018; 17, no. 1: 94.

Vane John R. Inhibition of Prostaglandin Synthesis as a Mechanism of Action for Aspirin-Like Drugs. *Nature new biology*. 1971; 231, no. 25: 232-35.

Vane, John R. The mechanism of action of anti-inflammatory drugs." *Advances in eicosanoid research*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2000. 1-23.

Venna Venugopal R, Jun Li, Matthew D Hammond, Nickolas S Mancini, Louise D McCullough. Chronic Metformin Treatment Improves Post-Stroke Angiogenesis and Recovery after Experimental Stroke. *European Journal of Neuroscience*. 2014; 39, no. 12: 2129-38.

Viollet B., Guigas B., Garcia N. S., Leclerc J., Foretz M., Andreelli, F. Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview. *Clinical science*. 2012; 122(6), 253-270.

Wallace John L. Prostaglandins, Nsaids and Gastric Mucosal Protection: Why Doesn't the Stomach Digest Itself? *Physiological reviews*. 2008; 88, no. 4: 1547-65.

Wallace John L, Devchand Pallavi R. Emerging Roles for Cyclooxygenase-2 in Gastrointestinal Mucosal Defense. *British journal of pharmacology*. 2005; 145, no. 3: 275-82.

Wallace John L, Webb McKnight, Brian K Reuter, and Nathalie Vergnolle. Nsaid-Induced Gastric Damage in Rats: Requirement for Inhibition of Both Cyclooxygenase 1 and 2. *Gastroenterology*. 2000; 119, no. 3: 706-14.

Wallace John L, Miller Mark JS. Nitric Oxide in Mucosal Defense: A Little Goes a Long Way. *Gastroenterology*. 2000; 119, no. 2: 512-20.

Wang, X., Yang L., Kang L., Li J., Yang L., Zhang J., Liu J., Zhu M., Zhang Q., Shen Y., Metformin attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury via up-regulation of antioxidant enzymes. *PloS one*. 2017; 12(8), e0182777.

Wen H., Gris D., Lei Y., Jha S., Zhang L., Huang M. T. H., Brickey W. J., Ting, J. P. (2011). Fatty acid-induced NLRP3-ASC inflammasome activation interferes with insulin signaling. *Nature immunology*. 2011; 12(5), 408-415.

Whittle Brendan JR. Gastrointestinal Effects of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Fundamental & clinical pharmacology*. 2003; 17, no. 3: 301-13.

Williams S. B., Cusco J. A., Roddy M. A., Johnstone M. T., Creager M. A. Impaired nitric oxide-mediated vasodilation in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Journal of the American College of Cardiology*. 1996; 27(3), 567-574.

Woo Shih-Lung, Hang Xu, Honggui Li, Yan Zhao, Xiang Hu, Jiajia Zhao, Xin Guo, et al. Metformin Ameliorates Hepatic Steatosis and Inflammation without Altering Adipose Phenotype in Diet-Induced Obesity. 2014; *PloS one* 9, no. 3.

Wu Liya, Parhofer Klaus G. Diabetic Dyslipidemia. *Metabolism*. 2014; 63, no. 12: 1469-79.

Yanardag R, Ozsoy-Sacan O, Bolkent S, Orak H, Karabulut-Bulan O. Protective effects of metformin treatment on the liver injury of streptozotocin-diabetic rats. *Hum Exp Toxicol*. 2005 Mar;24(3):129-35.

Yang Sheng, Xiaohe Chen, Yuanyuan Xu, Yan Hao, and Xianfang Meng. Effects of Metformin on Lipopolysaccharide-Induced Depressive-Like Behavior in Mice and Its Mechanisms. *NeuroReport*. 2020; 31, no. 4: 305-10.

Yao Xuebiao, Forte John G. Cell Biology of Acid Secretion by the Parietal Cell. *Annual review of physiology*. 2003; 65, no. 1: 103-31.

Ye Y., Perez-Polo J. R., Aguilar D., Birnbaum Y. The potential effects of anti-diabetic medications on myocardial ischemia–reperfusion injury. *Basic research in cardiology*. 2011; 106(6), 925-952.

Yin H., Xu, L., Porter N.A. Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chemical Reviews*. 2011; 111(10), 5944–5972.

Yoshikawa Toshikazu, Yuji Naito, Shigenobu Ueda, Hirokazu Oyamada, Toshiki Takemura, Norimasa Yoshida, Shigeru Sugino, and Motoharu Kondo. Role of Oxygen-Derived Free Radicals in the Pathogenesis of Gastric Mucosal Lesions in Rats. *Journal of clinical gastroenterology*. 1990; 12: S65-71.

Yoshioka H., Aoyagi Y., Fukuishi N., Gui M. Y., Jin Y. R., Li X. W., Adachic Y., Ohnoc N., Takeyac K., Hitotsuyanagic Y., Miurad N., Nonogaki T. Suppressive effect of kamebakaurin on acetaminophen- induced hepatotoxicity by inhibiting lipid peroxidation and inflammatory response in mice. *Pharmacological Reports*. 2017; 69(5), 903–907.

Zang Mengwei, Adriana Zuccollo, Xiuyun Hou, Daisuke Nagata, Kenneth Walsh, Haya Herscovitz, Peter Brecher, Neil B Ruderman, and Richard A Cohen. Amp-Activated Protein Kinase Is Required for the Lipid-Lowering Effect of Metformin in

Insulin-Resistant Human Hepg2 Cells. *Journal of Biological Chemistry*. 2004; 279, no. 46: 47898-905.

Zhang J., Chen R., Yu Z., Xue, L. Superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activity assay protocols for *caenorhabditis elegans*. *Bio-protocol*, 2017; 7(16), e2505.

Zhou Gaochao, Robert Myers, Ying Li, Yuli Chen, Xiaolan Shen, Judy Fenyk-Melody, Margaret Wu, et al. Role of Amp-Activated Protein Kinase in Mechanism of Metformin Action. *The Journal of clinical investigation*. 2001; 108, no. 8: 1167-74.

Zhu Xiaopeng, Hongmei Yan, Mingfeng Xia, Xinxia Chang, Xi Xu, Liu Wang, Xiaoyang Sun, et al. Metformin Attenuates Triglyceride Accumulation in Hepg2 Cells through Decreasing Stearyl-Coenzyme a Desaturase 1 Expression. *Lipids in health and disease*. 2018; 17, no. 1: 114.

Zou Ming-Hui, Xiu-Yun Hou, Chao-Mei Shi, Daisuke Nagata, Kenneth Walsh, and Richard A Cohen. Modulation by Peroxynitrite of Akt-and Amp-Activated Kinase-Dependent Ser1179 Phosphorylation of Endothelial Nitric Oxide Synthase. *Journal of Biological Chemistry*. 2002; 277, no. 36: 32552-5.

## ÖZGEÇMİŞ

**ADI SOYADI:** BETÜL ESRA İPEK

### İLETİŞİM BİLGİLERİ:

**Adres:** Başıbüyük Mahallesi, Maden Sokak, No:7/1 Daire:7 Maltepe/İstanbul

**Telefon:** 05386009668

**E-posta:** betulesraipek@gmail.com

**Doğum Tarihi:** 10.05.1994

### ÖĞRENİM BİLGİLERİ:

| Derece        | Alan      | Üniversite                           | Yıl               |
|---------------|-----------|--------------------------------------|-------------------|
| Lisans        | Biyoloji  | İstanbul Üniversitesi                | 2013-2017         |
| Lisans        | Sosyoloji | İstanbul Üniversitesi (Açık Öğretim) | 2015-2019         |
| Yüksek Lisans | Fizyoloji | Marmara Üniversitesi                 | 2018-Devam ediyor |
| Doktora       |           |                                      |                   |

### İŞ DENEYİMİ:

| Unvan     | Bölüm     | Kurum                        | Yıl                |
|-----------|-----------|------------------------------|--------------------|
| Arş. Gör. | Fizyoloji | Bezmialem Vakıf Üniversitesi | 2020- Devam ediyor |

### YAYINLAR:

-Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanan makaleler:

-Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceeding) basılan bildiriler

- 1- **Betül Esra İpek**, Feriha Ercan, Meral Yüksel, İnci Alican. Oral Anti-Diyabetik Ajan Metformin ile Ön Tedavinin Farklı Deneysel Ülser Modelleri Üzerine Etkileri. 4. Uluslararası Hipokrat Tıp ve Sağlık Bilimleri Kongresi 25-26 Eylül 2020.

**-Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan posterler bildiriler:**

1- Türkan Koyuncuoğlu, **Betül Esra İpek**, Ekin Kuntsal Dertsiz, Dilek Akakın, Meral Yüksel, Berrak Ç. Yeğen. Serebral Palsi Modeli Oluşturulmuş Yenidoğan Sıçanlarda Nöropeptit W'nin Nöroprotektif Etkileri. 45. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 31 Ekim-3 Kasım 2019.

**BİLİMSEL KURULUŞLARA ÜYELİKLER**

- Türk Fizyolojik Bilimler Derneği, 2019

