



**FARKLI DOZ VE SÜRELERDE 2,4-DİNİTROFENOL UYGULAMASININ  
GASTROİNTESTİNAL SİSTEM ÜZERİNE ETKİSİ**

**Sevcan BAYAT**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**EKİM 2024**

## ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Sevcan BAYAT

17/10/2024

# FARKLI DOZ VE SÜRELERDE 2,4-DİNİTROFENOL UYGULAMASININ GASTROİNTESTİNAL SİSTEM ÜZERİNE ETKİSİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Sevcan BAYAT

GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ekim 2024

## ÖZET

Mitokondriyal bir ayrıştırıcı olan 2,4-DNP, uzun bir süre kilo verme ilacı olarak kullanılmasına karşın yan etkileri sebebiyle kullanımı yasaklanmıştır. Ancak, son yıllarda yapılan çalışmalarda şaşırtıcı derecede nöroprotektif etkilerinin de olduğu gözlemlenmiştir. 2,4-DNP ile yapılan çalışmalar göz önüne alındığında olumlu ve olumsuz etkilerinin farklı şekillerde ortaya çıktığı görülmektedir. Bu nedenle bu çalışmada ilk kez 2,4-DNP kullanımı sırasında ikinci beyin olarak adlandırılan gastrointestinal sistemdeki etkileri doz, zaman ve cinsiyete bağlı olarak özellikle de oksidatif stres bakımından ele alınmıştır. Bu amaçla 60 adet Wistar sıçanı (30 erkek, 30 dişi) kontrol grupları, kısa süreli/uzun süreli gruplar ve düşük doz/yüksek doz grupları olmak üzere 10 gruba ayrıldı. Kontrol grupları dışındaki deney gruplarına oral gavaj yoluyla 2,4-DNP uygulandı. Deney sonunda feda edilen deneklerin mide, duodenum ve ileum dokularında malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH), nitrik oksit (NOx), protein karbonilleri (PC) ve askorbik asit (AA) seviyeleri; serumda ise interleukin- 1 beta (IL-1 $\beta$ ) ve tümör nekroz faktör alfa (TNF-  $\alpha$ ) düzeyleri ölçülmüştür. 2,4-DNP'nin emilim ve metabolizması dokularda farklı hızlarda ve şekillerde gerçekleştiğinden, mide, duodenum ve ileumda DNP kullanımının oksidatif stres üzerindeki etkileri de değişiklik göstermiştir. Özellikle 2,4 DNP'nin uzun süreli ve yüksek doz kullanımının dişi ratlarda gastrointestinal sistem üzerinde oksidatif stres oluşturmadığı söylenebilir. Sonuç olarak, 2,4 DNP'nin özellikle dişi ratlarda gastrointestinal sistem üzerinde oksidatif strese neden olmadığı tespit edilmiştir.

Bilim Kodu : 20317

Anahtar Kelimeler : 2,4-Dinitrofenol, gastrointestinal sistem, oksidatif stres, mide, duodenum, ileum

Sayfa Adedi : 95

Danışman : Prof. Dr. Şule COŞKUN CEVHER

THE EFFECT OF 2,4-DINITROPHENOL ADMINISTRATION  
AT DIFFERENT DOSES AND TIMES IN THE GASTROINTESTINAL SYSTEM

(M. Sc. Thesis)

Sevcan BAYAT

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

October 2024

ABSTRACT

2,4-DNP, a mitochondrial uncoupler, was used as a weight loss drug for a long time but has been banned due to its side effects. However, recent studies have observed surprisingly neuroprotective effects as well. When considering the research on 2,4-DNP, it is evident that its positive and negative effects manifest in different ways. Therefore, this study focuses on the effects of 2,4-DNP on the gastrointestinal system, referred to as the "second brain," particularly in terms of oxidative stress, depending on dosage, time, and sex. For this purpose, 60 Wistar rats (30 males and 30 females) were divided into 10 groups: control groups, short-term/long-term groups, and low-dose/high-dose groups. 2,4-DNP was administered to the experimental groups via oral gavage, excluding the control groups. At the end of the experiment, levels of malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), nitric oxide (NOx), protein carbonyls (PC), and ascorbic acid (AA) were measured in the stomach, duodenum, and ileum tissues of the sacrificed subjects. In the serum, levels of interleukin-1 beta (IL-1 $\beta$ ) and tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) were also assessed. Since the absorption and metabolism of 2,4-DNP occur at different rates and forms in tissues, the effects of DNP usage on oxidative stress in the stomach, duodenum, and ileum have also varied. It can be said that the long-term and high-dose use of 2,4-DNP does not induce oxidative stress in the gastrointestinal system of female rats. As a result, it has been determined that 2,4-DNP does not cause oxidative stress in the gastrointestinal system, particularly in female rats.

Science Code : 20317

Key Words : 2,4-Dinitrophenol, gastrointestinal system, oxidative stress, stomach, duodenum, ileum

Page Number : 95

Supervisor : Prof. Dr. Şule COŞKUN CEVHER

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim boyunca bilgi, beceri ve tecrübeleriyle bana destek olan danışmanım Prof. Dr. Şule COŞKUN CEVHER'e; laboratuvar çalışmalarımın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen değerli Elif Naz GÜRSOY ve Kübra ŞENER' e en içten saygı ve sevgilerimle teşekkür ederim.

Yüksek Lisans sürecimde her daim manevi desteklerini esirgemeyen ve bu zorlu süreçte büyük fedakârlık gösteren annem Uğur UYAR' a ve eşim Kaan BAYAT' a sonsuz teşekkür ederim.

Ayrıca bu uzun soluklu ve meşakkatli süreçte kendimden mahrum bıraktığım her an için canım kızım Öykü BAYAT' tan ve oğullarım Alptuğ BAYAT ve Kuzey BAYAT' tan özür dilerim.

## İÇİNDEKİLER

|                                                                          | Sayfa |
|--------------------------------------------------------------------------|-------|
| ÖZET .....                                                               | iv    |
| ABSTRACT.....                                                            | v     |
| TEŞEKKÜR.....                                                            | vi    |
| İÇİNDEKİLER .....                                                        | vii   |
| ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....                                                | xi    |
| ŞEKİLLERİN LİSTESİ .....                                                 | xii   |
| SİMGELER VE KISALTMALAR.....                                             | xiv   |
| 1. GİRİŞ.....                                                            | 1     |
| 2. GENEL BİLGİLER.....                                                   | 5     |
| 2.1. 2,4-Dinitrofenol (DNP) .....                                        | 5     |
| 2.1.1. 2,4-Dinitrofenolün emilimi, dağılımı ve atılımı.....              | 5     |
| 2.1.2. 2,4-Dinitrofenolün metabolizması .....                            | 6     |
| 2.1.3. 2,4-Dinitrofenolün kullanım alanları .....                        | 7     |
| 2.1.4. 2,4-Dinitrofenolün tarihçesi .....                                | 7     |
| 2.1.5. 2,4-Dinitrofenole maruz kalma yolları ve terapötik etkileri ..... | 8     |
| 2.1.6. 2,4-Dinitrofenola bağlı ölümler .....                             | 10    |
| 2.2. Mitokondri.....                                                     | 10    |
| 2.2.1. Mitokondrinin yapısı.....                                         | 10    |
| 2.2.2. Oksidatif fosforilasyon ve enerji üretimi .....                   | 12    |
| 2.2.3. Apoptozis (Programlanmış hücre ölümü) .....                       | 14    |
| 2.2.4. Mitokondriyal ayrıştırıcılar ve DNP .....                         | 15    |
| 2.3. Oksidatif Stres .....                                               | 17    |
| 2.3.1. Serbest radikaller.....                                           | 18    |
| 2.3.2. Serbest radikal oluşturan başlıca mekanizmalar .....              | 21    |

|                                                                           | <b>Sayfa</b> |
|---------------------------------------------------------------------------|--------------|
| 2.3.3. Serbest radikallerin biyomoleküller üzerinde etkisi.....           | 24           |
| 2.4. Antioksidanlar .....                                                 | 25           |
| 2.4.1. Eksojen antioksidanlar .....                                       | 26           |
| 2.4.2. Endojen antioksidanlar .....                                       | 26           |
| 2.5. Sitokinler .....                                                     | 32           |
| 2.5.1. Sitokinlerin sınıflandırılması.....                                | 33           |
| 2.6. Gastrointestinal Sistem.....                                         | 37           |
| 2.6.1. Özofagus .....                                                     | 37           |
| 2.6.2. Mide .....                                                         | 37           |
| 2.6.3. İnce bağırsak .....                                                | 39           |
| 2.6.4. Kalın bağırsak .....                                               | 41           |
| 2.6.5. Gastrointestinal sistem ve oksidatif stres ilişkisi .....          | 42           |
| 3. MATERYAL METOD .....                                                   | 45           |
| 3.1. Deney Protokolü.....                                                 | 45           |
| 3.2. 2,4-Dinitrofenol Uygulamasına Yönelik Hayvan Modelinin Dizaynı ..... | 45           |
| 3.3. 2,4-Dinitrofenol Uygulaması .....                                    | 46           |
| 3.4. Deneyin Yöntemi .....                                                | 46           |
| 3.4.1. Dokuda malondialdehit (MDA) tayini .....                           | 46           |
| 3.4.2. Dokuda glutatyon (GSH) tayini .....                                | 47           |
| 3.4.3. Dokuda nitrik oksit (NOx) tayini .....                             | 47           |
| 3.4.4. Dokuda askorbik asit (AA) tayini .....                             | 48           |
| 3.4.5. Dokuda protein karbonil (PC) tayini.....                           | 48           |
| 3.4.6. Serumda Il-1 $\beta$ ve TNF $-\alpha$ tayini .....                 | 48           |
| 3.5. İstatistiksel Analizlerin Değerlendirilmesi.....                     | 49           |
| 4. BULGULAR .....                                                         | 51           |
| 4.1. Mide Dokusu MDA, GSH ve NOx Düzeyleri .....                          | 51           |

|                                                     | <b>Sayfa</b> |
|-----------------------------------------------------|--------------|
| 4.1.1. Mide dokusu doz farklılıkları.....           | 54           |
| 4.1.2. Mide dokusu gün farklılıkları.....           | 54           |
| 4.1.3. Mide dokusu cinsiyet farklılıkları .....     | 54           |
| 4.2. Duodenum Dokusu MDA, GSH ve NOx Düzeyleri..... | 55           |
| 4.2.1. Duodenum dokusu doz farklılıkları .....      | 58           |
| 4.2.2. Duodenum dokusu gün farklılıkları .....      | 58           |
| 4.2.3. Duodenum dokusu cinsiyet farklılıkları.....  | 58           |
| 4.3. İleum Dokusu MDA, GSH ve NOx Düzeyleri .....   | 59           |
| 4.3.1. İleum dokusu doz farklılıkları.....          | 62           |
| 4.3.2. İleum dokusu gün farklılıkları.....          | 62           |
| 4.3.3. İleum dokusu cinsiyet farklılıkları .....    | 62           |
| 4.4. Mide Dokusu PC Düzeyleri .....                 | 63           |
| 4.4.1. Mide dokusu doz farklılıkları.....           | 64           |
| 4.4.2. Mide dokusu gün farklılıkları.....           | 64           |
| 4.4.3. Mide dokusu cinsiyet farklılıkları .....     | 65           |
| 4.5. Duodenum Dokusu PC Düzeyleri.....              | 65           |
| 4.5.1. Duodenum dokusu doz farklılıkları .....      | 66           |
| 4.5.2. Duodenum dokusu gün farklılıkları .....      | 66           |
| 4.5.3. Duodenum dokusu cinsiyet farklılıkları.....  | 67           |
| 4.6. İleum Dokusu PC Düzeyleri .....                | 67           |
| 4.6.1. İleum dokusu doz farklılıkları.....          | 68           |
| 4.6.2. İleum dokusu gün farklılıkları.....          | 68           |
| 4.6.3. İleum dokusu cinsiyet farklılıkları .....    | 68           |
| 4.7. Mide Dokusu AA Düzeyleri .....                 | 69           |
| 4.7.1. Mide dokusu doz farklılıkları.....           | 70           |
| 4.7.2. Mide dokusu gün farklılıkları .....          | 70           |

|                                                            | <b>Sayfa</b> |
|------------------------------------------------------------|--------------|
| 4.7.3. Mide dokusu cinsiyet farklılıkları.....             | 71           |
| 4.8. Duodenum Dokusu AA Düzeyleri .....                    | 71           |
| 4.9. İleum Dokusu AA Düzeyleri .....                       | 73           |
| 4.10. Serumda IL-1 $\beta$ ve TNF- $\alpha$ Düzeyleri..... | 75           |
| 4.10.1. Serum IL-1b düzeyleri .....                        | 75           |
| 4.10.2. Serum TNF- $\alpha$ düzeyleri .....                | 76           |
| 5. TARTIŞMA.....                                           | 77           |
| KAYNAKLAR .....                                            | 83           |
| ÖZGEÇMİŞ .....                                             | 95           |

## ÇİZELGELERİN LİSTESİ

| Çizelge                                                                                                                                                                  | Sayfa |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Çizelge 3.1. Gruplara ilişkin bilgiler.....                                                                                                                              | 45    |
| Çizelge 4.1. 2,4-DNP uygulamasının mide dokusundaki MDA, GSH ve NOx düzeylerine etkisi .....                                                                             | 51    |
| Çizelge 4.2. 2,4-DNP uygulamasının duodenum dokusundaki MDA, GSH, NOx düzeylerine etkisi .....                                                                           | 55    |
| Çizelge 4.3. 2,4-DNP uygulamasının ileum dokusundaki MDA, GSH, NOx düzeylerine etkisi .....                                                                              | 59    |
| Çizelge 4.4. 2,4-DNP uygulamasının mide dokusundaki PC düzeyine etkisi .....                                                                                             | 63    |
| Çizelge 4.5. 2,4-DNP uygulamasının duodenum dokusundaki PC düzeyine etkisi .....                                                                                         | 65    |
| Çizelge 4.6. 2,4-DNP uygulamasının ileum dokusundaki PC düzeyine etkisi.....                                                                                             | 67    |
| Çizelge 4.7. 2,4-DNP uygulamasının mide dokusundaki AA düzeyine etkisi .....                                                                                             | 69    |
| Çizelge 4.8. 2,4-DNP uygulamasının duodenum dokusundaki AA düzeyine etkisi .....                                                                                         | 71    |
| Çizelge 4.9. 2,4-DNP uygulamasının ileum dokusundaki AA düzeyine etkisi .....                                                                                            | 73    |
| Çizelge 4.10. 7 ve 21 günlük periyotlarda 3 mg/kg ve 6 mg/kg 2,4-dinitrofenol uygulanan dişi ve erkek ratların serumlarında IL-1 $\beta$ ve TNF $-\alpha$ düzeyleri..... | 75    |

## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

| Şekil                                                                                    | Sayfa |
|------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Şekil 2.1. 2,4-DNP' nin kimyasal yapısı.....                                             | 5     |
| Şekil 2.2. 2,4-DNP' nin metabolik yolları .....                                          | 7     |
| Şekil 2.3. Oksijenli solunum ile ATP' nin oluşum aşamaları.....                          | 12    |
| Şekil 2.4. Elektron taşıma zinciri kompleksi (kompleks I-IV) .....                       | 13    |
| Şekil 2.5. ATP sentaz kompleksi .....                                                    | 14    |
| Şekil 2.6. Oksidatif fosforilasyon ve mitokondriyal uncoupling' in şematik temsili ..... | 16    |
| Şekil 2.7. Uncoupling protein (UCP) çeşitlerinin farklı dokulardaki dağılımı.....        | 16    |
| Şekil 2.8. Reaktif oksijen türleri .....                                                 | 19    |
| Şekil 2.9. Reaktif nitrojen türleri .....                                                | 19    |
| Şekil 2.10. Glutasyon (GSH) redoks döngüsü .....                                         | 30    |
| Şekil 2.11. Midenin bölümleri .....                                                      | 38    |
| Şekil 2.12. Mide duvarının tabakaları.....                                               | 39    |
| Şekil 2.13. İnce bağırsağın bölümleri .....                                              | 40    |
| Şekil 2.14. Kalın bağırsağın bölümleri .....                                             | 41    |
| Şekil 4.1. Mide dokusu MDA düzeyleri .....                                               | 52    |
| Şekil 4.2. Mide dokusu GSH düzeyleri .....                                               | 53    |
| Şekil 4.3. Mide dokusu NOx düzeyleri.....                                                | 53    |
| Şekil 4.4. Duodenum dokusu MDA düzeyleri.....                                            | 56    |
| Şekil 4.5. Duodenum dokusu GSH düzeyleri .....                                           | 57    |
| Şekil 4.6. Duodenum dokusu NOx düzeyleri .....                                           | 57    |
| Şekil 4.7. İleum dokusu MDA düzeyleri .....                                              | 60    |
| Şekil 4.8. İleum dokusu GSH düzeyleri.....                                               | 61    |
| Şekil 4.9. İleum dokusu NOx düzeyleri.....                                               | 61    |
| Şekil 4.10. Mide dokusu PC düzeyleri.....                                                | 64    |
| Şekil 4.11. Duodenum dokusu PC düzeyleri .....                                           | 66    |

| <b>Şekil</b>                                   | <b>Sayfa</b> |
|------------------------------------------------|--------------|
| Şekil 4.12. İleum dokusu PC düzeyleri.....     | 68           |
| Şekil 4.13. Mide dokusu AA düzeyleri.....      | 70           |
| Şekil 4.14. Duodenum dokusu AA düzeyleri ..... | 72           |
| Şekil 4.15. İleum dokusu AA düzeyleri.....     | 74           |

## SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

| <b>Simgeler</b>                                             | <b>Açıklamalar</b> |
|-------------------------------------------------------------|--------------------|
| %                                                           | Yüzde              |
| <                                                           | Küçüktür           |
| >                                                           | Büyüktür           |
| ±                                                           | Artı Eksi          |
| ≤                                                           | Küçük eşit         |
| ≥                                                           | Büyük eşit         |
| μmol                                                        | Mikro Mol          |
| °C                                                          | Santigrat derece   |
| B                                                           | Beta               |
| C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> | 2,4 Dinitrofenol   |
| Ca                                                          | Kalsiyum           |
| Cm                                                          | santimetre         |
| CBrCl <sub>3</sub>                                          | Bromotriklorometan |
| CCl <sub>4</sub>                                            | Karbontetraklorür  |
| CO <sub>2</sub>                                             | Karbondioksit      |
| Cu <sup>+</sup>                                             | Bakır              |
| e <sup>-</sup>                                              | Elektron           |
| Fe <sup>+2</sup>                                            | Demir (II)         |
| Gr                                                          | Gram               |
| H                                                           | Hidrojen           |
| HCl                                                         | Hidroklorik asit   |
| H <sub>2</sub> O                                            | Su                 |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>                               | Hidrojen peroksit  |
| HO <sub>2</sub>                                             | Hidroperoksil      |
| HOBr                                                        | Hipobromöz asit    |
| HOCl                                                        | Hipokloröz asit    |
| HNO <sub>2</sub>                                            | Nitrik asit        |

| <b>Simgeler</b>                      | <b>Açıklamalar</b>       |
|--------------------------------------|--------------------------|
| <b>KCl</b>                           | Potasyum klorür          |
| <b>Kg</b>                            | Kilogram                 |
| <b>L</b>                             | Litre                    |
| <b>LOO</b>                           | Lipit peroksil           |
| <b>M</b>                             | Molarite                 |
| <b>mg</b>                            | Miligram                 |
| <b>mL</b>                            | Mililitre                |
| <b>nm</b>                            | Nanometre                |
| <b>nmol</b>                          | Nanomol                  |
| <b>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b>    | Dinitrojen trioksit      |
| <b>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub></b>    | Dinitrojen tetroksit     |
| <b>Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub></b> | Disodyum hidrojen fosfat |
| <b>NO</b>                            | Nitrik oksit             |
| <b>NO<sup>+</sup></b>                | Nitroksil katyonu        |
| <b>NO<sup>-</sup></b>                | Nitroksil anyonu         |
| <b>NO<sub>2</sub></b>                | Nitrojen dioksit         |
| <b>NO<sub>2</sub><sup>+</sup></b>    | Nitronyum katyonu        |
| <b>NO<sub>2</sub>Cl</b>              | Nitril klorid            |
| <b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>     | Süperoksit               |
| <b><sup>1</sup>O<sub>2</sub></b>     | Singlet oksijen          |
| <b>O<sub>3</sub></b>                 | Ozon                     |
| <b>OH<sup>·</sup></b>                | Hidroksil                |
| <b>ONOO</b>                          | Peroksinitrit            |
| <b>ONOOH</b>                         | Peroksinitrik asit       |
| <b>RH</b>                            | Yağ asiti                |
| <b>RO</b>                            | Alkolsi                  |
| <b>ROO</b>                           | Peroksil                 |
| <b>ROONO</b>                         | Alkil peroksinitrit      |
| <b>rpm</b>                           | Devir per dakida         |

**Kısaltmalar****Açıklamalar**

|                         |                                               |
|-------------------------|-----------------------------------------------|
| <b>AA</b>               | Askorbik asit                                 |
| <b>ABD</b>              | Amerika Birleşik Devleti                      |
| <b>ADP</b>              | Adenozin difosfat                             |
| <b>AIF</b>              | Apoptozu indükleyen faktör                    |
| <b>Apaf-1</b>           | Apoptozis proteaz aktive edici faktör-1       |
| <b>ATP</b>              | Adenozin trifosfat                            |
| <b>AOPP</b>             | İleri düzey okside protein ürünleri           |
| <b>BHT</b>              | Bütil hidroksi toluen                         |
| <b>Bcl-2</b>            | B hücreli lösemi/lenfoma-2                    |
| <b>CAT</b>              | Katalaz                                       |
| <b>CuZn-SOD</b>         | Bakır-çinko süperoksit dismutaz               |
| <b>dk</b>               | Dakika                                        |
| <b>DNA</b>              | Deoksiribonükleik asit                        |
| <b>DNP</b>              | 2,4-dinitrofenol                              |
| <b>DNPH</b>             | 2,4-dinitrofenilhidrazin                      |
| <b>DTNB</b>             | Dithiobisnitrobenzoate                        |
| <b>DUOX</b>             | Dual oksidaz                                  |
| <b>EC-SOD</b>           | Ekstraselüler süperoksit dismutaz             |
| <b>ELISA</b>            | Enzim bağlı immün sorbent testi               |
| <b>eNOS</b>             | Endotelial nitrik oksit sentaz                |
| <b>ESS</b>              | Enterik sinir sistemi                         |
| <b>ETZ</b>              | Elektron taşıma zincirini                     |
| <b>Fas</b>              | Yağ asiti sentazı                             |
| <b>FDA</b>              | Amerika Birleşik Devleti gıda ve ilaç dairesi |
| <b>FADH<sub>2</sub></b> | Flavin-adenin dinükleotid                     |
| <b>GABA</b>             | Gamma-aminobütirik asit                       |
| <b>GI</b>               | Gastrointestinal                              |
| <b>GIS</b>              | Gastrointestinal sistem                       |
| <b>GRx</b>              | Glutasyon redüktaz                            |
| <b>GSH</b>              | Glutasyon                                     |
| <b>GSHPx</b>            | Glutasyon peroksidaz                          |
| <b>GSSG</b>             | Okside glutasyon                              |

**Kısaltmalar****Açıklamalar**

|                                |                                               |
|--------------------------------|-----------------------------------------------|
| <b>GST</b>                     | Glutatyon-s-transferazlar                     |
| <b>IAP</b>                     | Apoptozis protein inhibitörleri               |
| <b>IFN-<math>\gamma</math></b> | İnterferon gamma                              |
| <b>IFNT</b>                    | İnterferon tau                                |
| <b>IL-1</b>                    | İnterlökin-1                                  |
| <b>IL-1<math>\alpha</math></b> | İnterlökin-1 alfa                             |
| <b>IL-1<math>\beta</math></b>  | İnterlökin-1 beta                             |
| <b>IL-6</b>                    | İnterlökin-6                                  |
| <b>IL-10</b>                   | İnterlökin-10                                 |
| <b>IL-13</b>                   | İnterlökin-13                                 |
| <b>İBH</b>                     | İnflamatuvar bağırsak hastalıkları            |
| <b>LOX</b>                     | Lipoksijenaz                                  |
| <b>MCP-1</b>                   | Monosit kemotaktik protein 1                  |
| <b>MDA</b>                     | Malondialdehit                                |
| <b>Mn-SOD</b>                  | Manganez-süperoksit dismutaz                  |
| <b>MP</b>                      | Myenterik pleksus                             |
| <b>MP101</b>                   | DNP' nin prodrugu                             |
| <b>MP201</b>                   | DNP' nin prodrugu                             |
| <b>MSS</b>                     | Merkezi sinir sistemi                         |
| <b>mtDNA</b>                   | Mitokondriyal deoksiribo nükleik asit         |
| <b>NADH</b>                    | Nikotinamid adenin dinükleotid                |
| <b>NADPH</b>                   | Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat         |
| <b>NF-<math>\kappa</math>B</b> | Nükleer faktör-kappa B                        |
| <b>NK</b>                      | Naturel killer                                |
| <b>nNOS</b>                    | Nöronal nitrik oksit sentaz                   |
| <b>NOS</b>                     | Nitrik oksit sentaz                           |
| <b>NO<sub>x</sub></b>          | Nitrik oksit                                  |
| <b>NOX</b>                     | Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz |
| <b>NOXO1</b>                   | NADPH oksidaz organizatörü 1                  |
| <b>P<sub>i</sub></b>           | İnorganik fosfat                              |
| <b>PC</b>                      | Protein karbonilleri                          |
| <b>PCC</b>                     | Protein karbonil bileşikleri                  |

**Kısaltmalar****Açıklamalar****pH**

Potansiyel hidrojen

**PLGSH-PX**

Fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz

**PLOOH**

Fosfolipid hidroperoksit

**RNA**

Ribonükleik asit

**RNT**

Reaktif nitrojen türleri

**ROT**

Reaktif oksijen türlerini

**SOD**

Süperoksit dismutaz

**SP**

Submukoza pleksusu

**TBA**

Tiyobarbitürik asit

**TBI**

Travmatik beyin yaralanması

**TCA**

Trikloroasetik asit

**TGF- $\beta$** 

Dönüşüm büyüme faktörü-beta

**TNF- $\alpha$** 

Tümör nekroz faktör alfa

**TRAIL**TNF-  $\alpha$  ile ilişkili apoptozisi başlatıcı ligand**UCP**

Uncoupling (miyokondriyal ayrıştırıcı) protein

**UV**

Ultraviyole

**XOD**

Ksantin oksidaz

## 1. GİRİŞ

2,4-Dinitrofenol (DNP) kimyasal, tatlı, küf kokulu, suda çözünen sarı kristal tozudur [1]. 1930' larda zayıflama ilacı olarak kullanılan DNP, zararlı etkileri nedeniyle daha sonra yasaklanmıştır [2].

Uncoupler bir madde olan DNP oksidatif fosforilasyon ayrılmasına neden olur [1]. DNP, mitokondriyal membranda proton taşınmasını kolaylaştırarak mitokondriyal oksidatif fosforilasyon ayrılması yoluyla adenozin trifosfat (ATP) üretmeden hızlı enerji tüketimine ve yağ yakımına neden olur [3].

Mitokondrilerde elektron taşıma zinciri reaksiyonları sonucunda oksijen suya dönüştürülmektedir. Bu metabolik süreçte, mitokondrilerdeki oksijenin %2-3'ü suya dönüştürülmez, ancak oksijen kökenli radikallerin bir kaynağı haline gelmektedir [4]. Serbest radikaller, hücrelerde deoksiribonükleik asit (DNA), protein ve lipit gibi biyolojik bileşenlere zarar vererek hücrel hasara neden olur [5].

Hücreler, serbest radikallerin oksijen türevi olan reaktif oksijen türlerini (ROT) parçalamak için çeşitli antioksidan sistemler kullanır [6]. Antioksidan sistemlerin çeşitli sebeplerle yetersiz kalması veya ROT' ların aşırı oluşumu 'oksidatif stres' olarak bilinen bir duruma neden olur [7].

Oksidatif stres, birçok hastalığın oluşumu ve ilerlemesinde önemli bir faktördür. İnflamatuvar hastalıklar, kanser, diyabet, Alzheimer, Parkinson, ateroskleroz, kalp yetmezliği, yağlı karaciğer hastalığı, kronik yorgunluk sendromu, obezite ve depresyon gibi çeşitli hastalıklarda doğrudan veya dolaylı bir rol oynamaktadır [8].

Oksidatif stresin birçok hastalıkla ilişkilendirilmesi nedeniyle, ROT çeşitli transkripsiyon faktörlerini aktive edebilir, bunlar da inflamasyonu teşvik eder ve sitokinler ile kemokinler üretir [9]. İnflamatuvar yanıtlar da metabolik stresi tetikleyebilir ve bu da inflamasyonu devam ettiren bir pozitif geri besleme döngüsü oluşturabilir. Örneğin, crohn hastalığında önemli bir aracı olan tümör nekroz faktör alfa (TNF- $\alpha$ ) ve interferon gamma (IFN- $\gamma$ ), kolon epitel hücrelerinde süperoksit ( $O_2^-$ ) up-regülasyonuna yol açan nikotinamid adenin

dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz organizatörü 1 (NOXO1) aktivasyonunu tetikleyebilir [10].

Yüksek konsantrasyonlarda toksik etkili olan DNP' nin düşük dozlarda kullanımı ROT üretimini azaltarak oksidatif stres oluşumunu düşürmektedir [11].

Pillai ve Gupta tarafından 2015 yılında yayınlanan bir makalede dinitrofenol türevlerinin son yıllarda Alzheimer semptomlarını azaltmak için kullanıldığı belirtilmiştir [12].

Liu ve arkadaşları tarafından 2015 yılında yayınlanan bir makalede DNP' nin travmatik sinir yaralanmasında nöronları koruyucu etkisi belirtilmiştir [13].

Ost ve arkadaşları tarafından 2017 yılında yayınlanan bir makalede düşük doz DNP ile uzun süre tedavinin obeziteye karşı koruyucu olduğu, insüline duyarlılığı arttırdığı ve farelerde yaşam süresini uzattığı belirtilmiştir [14].

2023 yılında Hubbard ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada; nörolojik bozukluklara yol açan patlayıcı kaynaklı travmatik beyin yaralanması (TBI)' nda DNP' nin prodrugu olan MP201 uygulamasının hem mitokondriyal fonksiyon hem de oksidatif denge üzerinde önemli iyileştirmelerinin olduğu ve düşük dozlarda nörokoruyucu olabileceği belirtilmiştir [15].

Düşük doz DNP ile tedavi edilen farelerin beyin, kalp ve karaciğerinde oksidan üretiminde azalma; plazma glikoz, insülin ve trigliserit seviyelerinde azalma ve yaşam sürelerinde artış görülmüştür [16].

Ayrıca, hafif mitokondriyal ayrılmanın travmatik beyin yaralanması ve siyatik sinir ezilme modelinde faydalı olduğu rapor edilmiştir. Her iki çalışmada da DNP, yaralanmadan sonra uygulanmış ve DNP' nin hem merkezi hem de periferik sinir sistemi hastalıklarında nörojenaratif potansiyelini göstermiştir [17,18].

Bağırsak, yabancı maddelere ve mikrobiyal patojenlere maruz kalmanın kaçınılmaz olduğu bir ortam olarak ROT' un ana kaynaklarından biridir. Uzun süreli ROT maruziyeti, inflamatuvar bağırsak hastalıkları (İBH), enterik enfeksiyonlar, iskemik bağırsak yaralanması ve kolorektal kanserler gibi çeşitli bağırsak hastalıklarına yol açabilir [19].

Bir önceki çalışmamızda [20] DNP' nin doz, süre ve cinsiyet bazındaki farklılıklarının beyindeki etkisine bakılmıştır. Bu çalışmamızda ikinci beyin olarak düşünülen gastrointestinal sistemdeki (GİS' teki) etkilerinin neler olabileceğini aydınlatmak istedik. Bu anlamda hem beynin hem de GİS' in DNP' nin doz, süre ve cinsiyet bazındaki farklı uygulama şekillerinden ne yönde etkilendiğini araştırmak birinci önceliğimiz olmuştur.

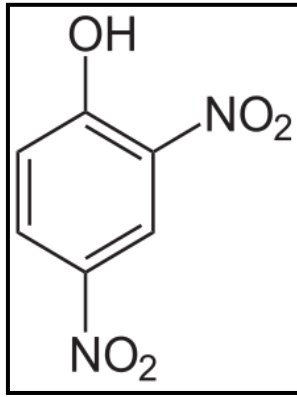
Deneyisel çalışmamızda, kontrol grupları dışındaki bütün gruplara oral gavaj yolla DNP verilmiştir. Deneyin sonunda, feda edilen hayvanların mide, duodenum ve ileum dokularındaki malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH), protein karbonilleri (PC), nitrik oksit (NOx) ve askorbik asit (AA) seviyeleri ile serum interlökin 1- beta (IL-1 $\beta$ ) ve tümör nekroz faktör alfa (TNF  $-\alpha$ ) seviyeleri spektrofotometrik olarak incelenmiştir.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. 2,4-Dinitrofenol (DNP)

2,4- dinitrofenol (DNP) 2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4- ve 3,5-DNP şeklinde altı farklı izomeri olan dinitrofenoller sınıfının üyesi [2] olan benzen bazlı bir kimyasaldır [21]. Bu bileşikler genellikle yüksek derecede toksik olduklarından büyük çevresel kirleticilerdir. Vücutta birikirler veya daha büyük toksisiteye sahip diğer bileşiklere dönüşürler [12, 22]. 2,4-DNP 'nin kimyasal formülü  $C_6H_4N_2O_5$  'tir [23].



Şekil 2.1. 2,4-DNP' nin kimyasal yapısı [24, 25].

DNP, sarı renkli küflü bir kokuya sahip, tatlı bir kimyasaldır [1]. 2,4-Dinitrofenol, suda hafif çözünen ve etanol ve eter gibi organik çözücülerde daha fazla çözünen kristal bir katıdır [26].

#### 2.1.1. 2,4-Dinitrofenolün emilimi, dağılımı ve atılımı

2,4-DNP' nin deri, solunum ve gastrointestinal sistem yolları ile emildiğini gösteren çeşitli kanıtlar mevcuttur [27]. 2,4-DNP, 4.09 pKa değeri ile nispeten yağda çözünür (lipofilik) bir bileşiktir. Bu özellik, iyonize olmayan formunun mide gibi asidik ortamlardan pasif difüzyon yoluyla hızla emilmesine olanak tanır. Ayrıca, 2,4-DNP' nin moleküler ağırlığı 184.1 g/mol ile düşük bir değere sahiptir. Genel olarak, moleküler ağırlığı 600 daltonun altında olan bileşikler, iyonlaşma durumlarına bakılmaksızın hücre zarlarına kolayca geçebilir. Bu da 2,4-DNP' nin hızlı emiliminde önemli bir faktördür.

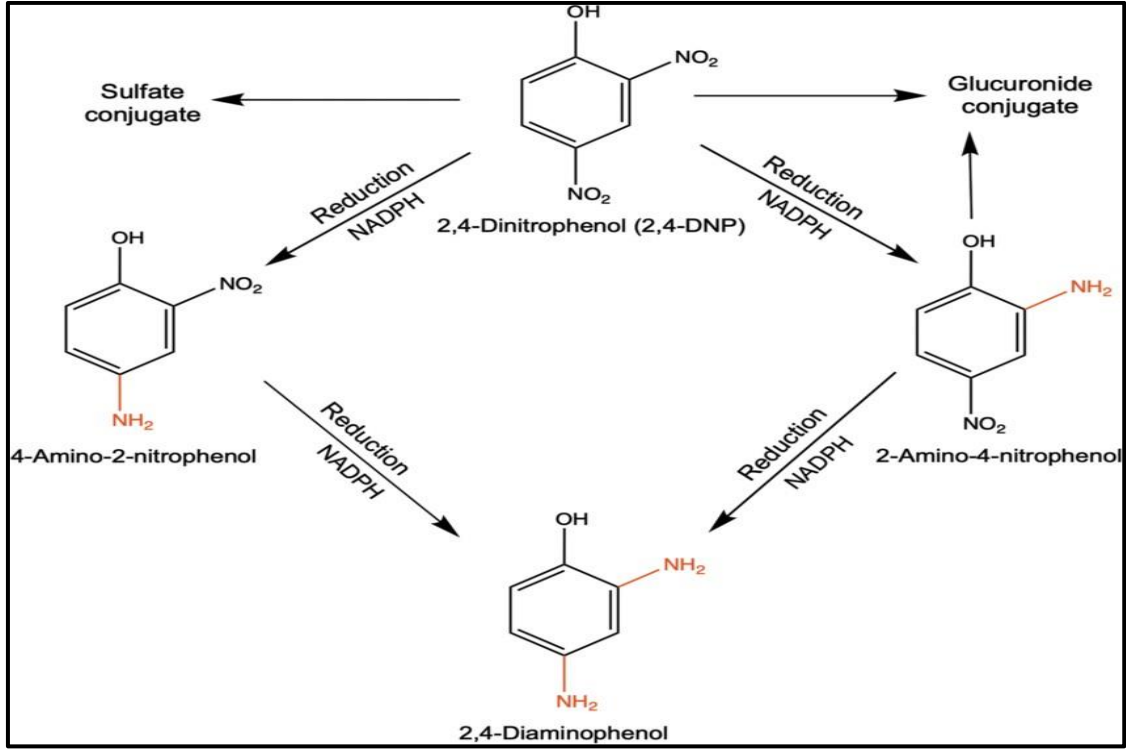
2,4-DNP, solunum ve gastrointestinal yollarla hızla emilerek dokularda depolanmadan veya dokular tarafından bağlanmadan hızla karaciğere, akciğerlere ve böbreklere dağılırken en yüksek 2,4-DNP konsantrasyonuna plazmada rastlanır [28]. Ayrıca oral alımı takiben 4-9 saat içerisinde toksisite semptomları görülmeye başlar.

2,4-DNP, idrarda hem değişmemiş formu hem de metabolitleri olarak atılır. Metabolitler genellikle daha az toksik olan aminonitrofenoller şeklindedir. Atılım süreci, pasif difüzyon yoluyla gerçekleşirken, bazı çalışmalarda böbreklerde aktif sekresyon mekanizmalarının da rol oynadığı gözlemlenmiştir. Bu durum, 2,4-DNP' nin vücuttan uzaklaştırılmasında etkili bir mekanizma oluşturur. Ayrıca, 2,4-DNP' nin atılım hızı ve biçimi, bireylerin metabolizmasına ve maruz kalma koşullarına bağlı olarak değişiklik gösterebilir.

#### **2.1.2. 2,4-Dinitrofenolün metabolizması**

2,4-DNP esas olarak, kofaktör olarak nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) kullanılarak bağırsak mikrobiyotası tarafından mikrozomal ve sitozolik nitroredüktazlar yoluyla nitro gruplarının indirgenmesiyle metabolize edilir (Şekil 2.2.) [27]. Elde edilen metabolitler; 2-amino-4-nitrofenol, 4-amino-2-nitrofenol ve 2,4-diaminofenol ana ilaçtan daha düşük toksisiteye sahiptir ve 2-amino-4-nitrofenol en bol bulunan hepatik metabolittir. Sınırlı bilgi, 2,4-DNP'nin karaciğerde glukuronik asit veya sülfata da konjuge olabileceğini ve daha sonra idrarla atılabileceğini göstermektedir [29].

Sıçan karaciğeri homojenatları kullanılarak yapılan kapsamlı bir araştırmada, optimal pH ve kofaktör seviyeleri altında 2,4-DNP' nin %81' inin metabolize olduğu tespit edilmiştir. Bu metabolitlerin %75' i 2-amino-4-nitrofenol, %23' ü 4-amino-2-nitrofenol ve yaklaşık %1' i 2,4-diaminofenol olarak belirlenmiştir [30].



Şekil 2.2. 2,4-DNP' nin metabolik yolları [29].

### 2.1.3. 2,4-Dinitrofenolün kullanım alanları

2,4-DNP 1930' lardan beri patlayıcılarda, boyalarda, herbisitlerde, fungusitlerde, insektisitlerde ve yün koruyucularda kullanılmıştır. 1930' ların sonuna kadar obezite tedavisinde kullanılmış ve daha sonra ciddi toksisitesi nedeniyle yasaklanmıştır [3, 12, 26, 31, 32].

### 2.1.4. 2,4-Dinitrofenolün tarihçesi

Fransa' da I. Dünya Savaşı sırasında, patlayıcı madde üretiminde çalışan işçilerin DNP' ye maruz kalmaları sebebiyle hastalık ve ölüm vakaları bildirilmiştir [1, 21]; bu işçiler dinitrofenolü akciğerler veya ciltleri aracılığıyla büyük miktarlarda emmişlerdir [33].

Akut dinitrofenol zehirlenmesi, yüksek ateş, aşırı terleme, bulantı, kusma ve ishal ile karakterizedir. Subakut zehirlenme genellikle kilo kaybı ile ilişkilidir [34]. 1930' larda Stanford Üniversitesi' nden klinik farmakolog Maurice Tainter öncülüğünde bir grup doktor, dinitrofenolün bir anti-obezite ajanı olarak potansiyelini keşfetmek için araştırmalara başlamış [34] ve 1933' te kilo kaybı ajanı olarak popüler hale gelmiştir [1].

1935 yazında Tainter, ortalama 3 ay boyunca yaklaşık 170 obez hastanın dinitrofenol ile tedavisini rapor etti [34]. Günlük doz ortalama 300 mg' dı ve kalori kısıtlaması olmaksızın hastaların haftada yaklaşık 15 kg kaybettiğini belirtmiştir.

1935 yılında Batı Pennsylvania Hastanesi' nden doktorlar Strang ve Evans, terapötik dozlarda dinitrofenolün, diyet kısıtlaması ile karşılaştırıldığında kilo kaybı hızına çok az katkı sağladığını belirtmiştir [34].

1938 yılında DNP' yi kullananların, DNP' nin olumsuz etkileri hakkında çok sayıda durum bildirmesi nedeniyle ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından kullanımı yasaklanmıştır [1, 2, 21, 32, 35].

1938'de yasaklanmasının ardından ilk kez II. Dünya Savaşı'nda Rus askerlerinin sıcak tutulabilmesi amacıyla reçete edilmiştir [1].

1980' lerin başında Teksas' ta bir doktor DNP' yi 'Mitcal' adıyla tekrar hastalara uygulamış [2] ancak 1984' te DNP' ye bağlı ölümün gerçekleşmesi sebebiyle 1986' da doktor mahkûm edilmiştir [32].

2000' den beri DNP' den kaynaklanan ölümlere dair raporlar artmaktadır, bu da kullanımın yeniden arttığını göstermektedir [35]. İngiltere' de 2015' te, DNP' ye maruz kalmanın neden olduğu toksisiteye bağlı yüksek mortalite ile ilişkili klinik vakaların önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir [14].

#### **2.1.5. 2,4-Dinitrofenole maruz kalma yolları ve terapötik etkileri**

DNP' ler, sıklıkla üretimleri ve kullanımları sırasında, ayrıca atık bertaraf sitelerinden çevreye salınır. Kimyasal reaksiyonlar yoluyla atmosferde oluşabilir, kuru veya ıslak çökme yoluyla havadan toprağa geçebilir ve yeraltı suyuna sızabilir. Tehlikeli atık siteleri yakınlarında maruz kalma olasılığı olan en yaygın yollar, kirli havayı solumak, kirli suyu içmek, kirli yiyecekleri yemek veya kirli toprakla cilt temasıdır. Başka bir muhtemel maruziyet kaynağı, çocukların kirli toprağı yutmasıdır [1, 2, 36]. DNP içeren naylon torbaları geri dönüştüren bireylerle ilgili iki ölüm gerçekleşmiştir [1, 36].

DNP' ye soluma, oral ve dermal yolla maruziyet mümkündür [1, 2, 36].

Oral yol řu anda terapötik ve ölümle sonuçlanan maruziyetinin en yaygın yoludur [1]. 1930’lu yıllarda diyet hapi olarak kullanılmaya başlanması ile beraber 1933–1935 yılları arasında 100 000 hastaya verildiğı tahmin ediliyor [1].

Solumaya maruz kalma, DNP içeren atık sahalarında veya yakma dumanlarından kirli havanın solunmasıyla gerçekleşebilir. DNP’ ye solunum yolu ile maruz kalındığını gösteren sadece iki çalışma tespit edilmiştir [2]. Bunlardan birincisi Fransa’da cephan e üreten işçilerin 2,4-DNP buharı ve tozu ile etkileşime girmeleri; ikincisi ise Birleşik Devletler’ de pikrik asit üretimi sırasında meydana gelen ölümdür.

DNP’nin terapötik kullanımı ile bildirilen en yaygın yan etki döküntüdür [1, 33, 34, 37]. Bu döküntü makülopapüler [26], ürtikeryal, anjiyoödemli veya ciddi bir eksofoliyatif dermatit olabilir [1].

Yaygın bir şikâyet cilt [38], sklera ve idrarın sarı renk almasıdır. Aynı sarı renk değışikliğı otopside sıklıkla görülür [26] ve karaciğer hasarı raporları nedeniyle sarılıkla karıştırılmıştır [1].

Yüksek dozlarda gastroenterit ve anoreksiya bildirilmiştir [1, 33]. 2,4-DNP alan kişilerde mide bulantısı, kusma, ishal ve hazımsızlık gibi gastrointestinal etkiler bildirilmiştir [26, 2].

Konfüzyon, ajitasyon, konvülsiyon ve koma bildirilen en yaygın nörolojik etkilerdir [1].

Agranülositoz ve nötropeni, DNP’nin terapötik kullanımı ile ilişkilendirilmiştir [1, 33].

Kataraktlar, DNP kullanımından sonra hızla gelişebilir [1, 31, 39].

Terapötik olduğu düşünölen dozlarda kalıcı sağırılık bildirilmiştir [1].

2023 yılında yayınlanan bir çalışmada online öz raporlama kullanarak DNP’nin subletal toksisitesi araştırılmıştır. En çok bahsedilen günlük dozun 300 mg olduğu ve en çok bahsedilen olumsuz etkilerin yorgunluk, artmış vücut sıcaklığı ve parestezilerle ilgili olduğu tespit edilmiştir [35].

### 2.1.6. 2,4-Dinitrofenola bağılı ölümler

1930’larda, DNP ile ilgili ölümler kilo vermek için onu alan kişilerdi. DNP’ nin 1938 yılında Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi’ nce ‘son derece tehlikeli ve insan tüketimine uygun değil’ olarak etiketlenmesi DNP’ den kaynaklı ölümlerde azalmanın sebebi olabileceği belirtilmiştir [1].

Amerika Birleşik Devletleri Zehir Kontrol Merkezlerine yapılan 25 ölüm raporundan 12’ si 2000’ den sonra meydana gelmiştir. Bu 12 rapordan 7’ si, kas kütlesi kaybetmeden vücut yağını azaltmak için DNP alan 25 yaşın altındaki kişileri içermektedir [1]. DNP’ nin yayınlanan en düşük ölümcül insan oral dozu 4,3 mg/kg’dır [40, 41].

Web forumlarında en sık bahsedilen dozlar günde iki kez 150 mg (105 gönderiden 40’ ı, %38) ve günde üç kez 300 mg (105 gönderiden 25’ i, %23,8) idi, sırasıyla toplam günlük dozlar 300 mg ve 600 mg’dir [35].

2000’ den beri DNP’ den kaynaklanan ölümlere dair raporlar artmaktadır, bu da kullanımın arttığını göstermektedir [26, 35, 37, 42, 43]. 2017 yılında bir tez çalışmasında 1916 ile 2016 yılları arasında 2,4-DNP zehirlenmesine bağlı 30 ölüm vakası özetlenmiştir [44].

Krem, toz, tablet veya kapsül formunda pazarlanmaktadır. Kapsül formundaki ürünler genellikle 100–200 mg arasında değişen miktarlarda veya tiroid hormonu (tiroid) veya anabolik steroidlerle karıştırılmış olarak bulunabilir [44]. Özellikle vücut geliştirmecilere yönelik olarak pazarlanan DNP, internet üzerinden farklı isimlerle pazarlanmaktadır [45].

## 2.2. Mitokondri

Mitokondri, hücresel solunum ve enerji üretiminden sorumludur [46]. Enerji üretmek için serbest yağ asitlerini ve glikozu oksitler [46]. Kendi genomuna yani DNA’ sına sahip eşsiz bir organeldir [47]. Mitokondriyal DNA (mtDNA) kendini eşleyebilir ve çoğalabilir [6].

### 2.2.1. Mitokondrinin yapısı

Mitokondri çift zarlıdır [48]. Mitokondriyi sitozolden ayıran dış zar ve krista denen kıvrımlı yapıları oluşturan iç zar vardır [7]. İki zar arasında kalan kısma zarlar arası boşluk, iç zarın

iç boşluğuna matriks denir. İç zarın yüzey alanı, sahip olduğu kıvrımlar sayesinde dış zara göre daha fazladır ve iç zar çok sayıda protein içerir [49].

#### Mitokondriyal dış zar

Dış zar, özelleşmiş transport proteinlere sahiptir. Bu proteinler sitozolden zarlar arası boşluğa madde taşınması, mitokondri içerisinde protein taşınımı, mitokondrinin metabolit alışverişi gibi işlevlerde görev almaktadır [49].

#### Mitokondriyal iç zar

Mitokondriyal iç zar mitokondriye özgü bir lipid yapısı olan kardiyolipin içermektedir. Kardiyolipinin molekül geçirgenliği yoktur, bu nedenle matriksin sitozol ya da diğer mitokondriyal bölgeler ile olan madde ve protein alışverişi, iç zar üzerinde bulunan spesifik taşıyıcı proteinler ve iyon kanalları sayesinde gerçekleşmektedir [49].

Mitokondriyal iç zarın kendi içerisinde yaptığı kıvrımlar sonucu oluşan krista bölgeleri adenosin trifosfat (ATP) üretim merkezi olarak işlev görmektedir. Krista üzerinde bulunan proteinler elektron taşıma zinciri kompleksleri ve araçları, ayrıca ATP üretimini sağlayan ATP sentaz enzim kompleksinden oluşmaktadır [49].

#### Mitokondriyal matriks

Bu jel benzeri matriks içerisinde çok sayıda çözünmüş enzim barındırmaktadır. Bunlar, iç zarda bulunan oksidatif enzimlerle birlikte çalışarak besin maddelerini karbondioksit ( $\text{CO}_2$ ) ve su ( $\text{H}_2\text{O}$ )'ya dönüştürmekte, yüksek enerji içeren bir madde olan ATP' nin oluşmasına neden olmaktadır [50].

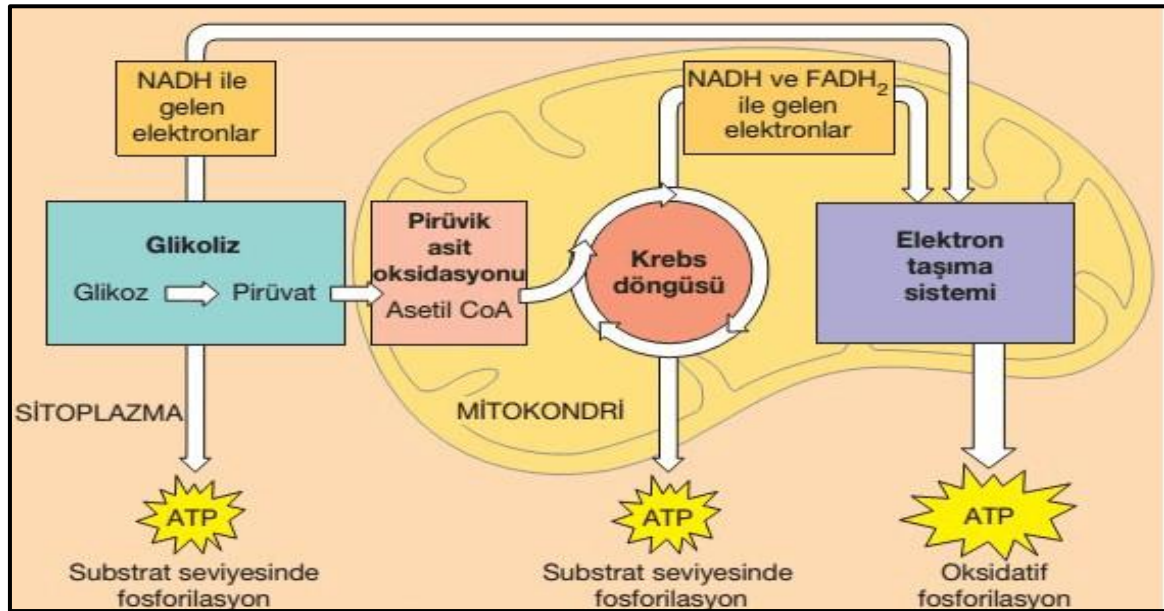
#### Zarlar arası boşluk

Zarlar arası boşlukta solunum zincirinde görev alan sitokrom c proteini bulunmaktadır. Sitokrom c' nin elektron taşıma işlevinin yanında hücrede apoptotik kararın alınmasında da anahtar rol oynadığı bilinmektedir [49]. Sitokrom c' ye ek olarak apoptoz başlatıcı faktörlerin ve çeşitli enzimlerin (adenilat kinaz, kreatin kinaz gibi) de bu bölgede yer aldığı bilinmektedir [49].

### 2.2.2. Oksidatif fosforilasyon ve enerji üretimi

Tüm hücrelerin ortak enerji paketi olan ATP, üç metabolik yoldan sentezlenmektedir. Bunlar; Krebs döngüsü (başka bir adla sitrik asit döngüsü), Glikoliz ve elektron taşıma zinciridir [47].

Glikoliz (glikozun parçalanması) sitoplazmada gerçekleşir ve pirüvat ve nikotinamid adenin dinükleotid (NADH) oluşur. Glikolizden sonraki evre olan Krebs döngüsü mitokondriyal matrikste meydana gelir ve NADH ve flavin-adenin dinükleotid ( $\text{FADH}_2$ ) oluşur ve elektron taşıma zincirine aktarılır [51] (Şekil 2.3.).



Şekil 2.3. Oksijenli solunum ile ATP' nin oluşum aşamaları [52]

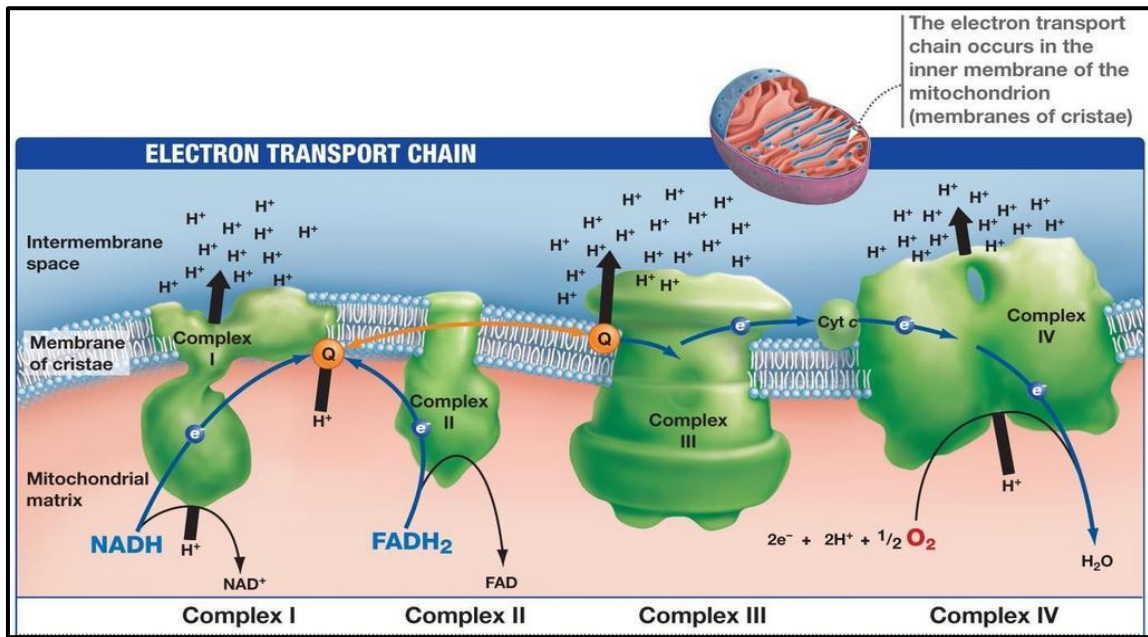
Oksidatif fosforilasyon, dört büyük çok alt birimli enzim kompleksinin bulunduğu mitokondri iç zarında gerçekleşir [46, 53].

Bu kompleksler, elektron taşıma zincirini (ETZ) oluşturur, elektronlar indirgenmiş nükleotitler olan NADH ve  $\text{FADH}_2$ ' den son elektron alıcı olan oksijene kadar zincir boyunca bir üyeden diğerine bir dizi redoks reaksiyonuyla taşınır [7].

Kompleks I, NADH'den ubikinona elektron transferinden sorumludur. Kompleks II,  $\text{FADH}_2$ ' den ubikinona elektron transferinden sorumludur. Kompleks III, elektronların ubikinondan sitokrom c' ye transferinden sorumludur. Kompleks IV, elektronları sitokrom

c' den son elektron alıcısı olan oksijene aktarmaktan sorumludur [6, 50, 54] (Şekil 2.4.). Kompleks IV elektronları oksijene aktardığı için terminal oksidaz olarak da isimlendirilir [55].

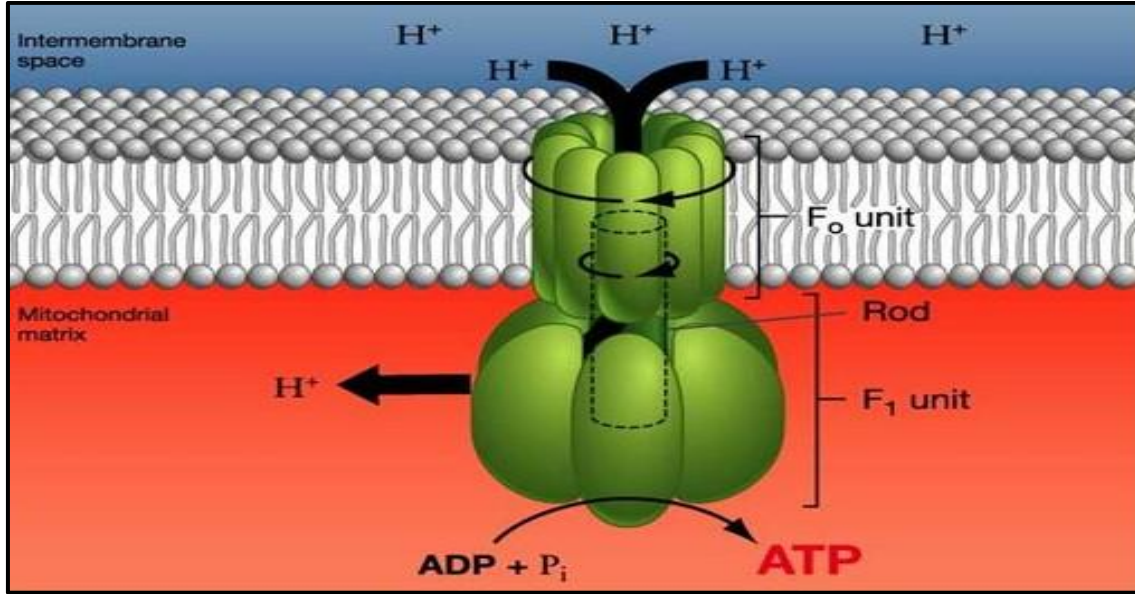
NADH ve  $\text{FADH}_2$  elektronları verme eğilimindedir ve oksijen de elektronları alma eğilimindedir. Elektron veren bileşikler olan NADH ve  $\text{FADH}_2$ , sırasıyla  $\text{NAD}^+$  ve FAD'e, oksijen ise elektronları alarak su molekülüne dönüşür.



Şekil 2.4. Elektron taşıma zinciri kompleksi (kompleks I-IV) [56].

Bu tepkimelerde açığa çıkan enerji, adenosin difosfat ( $\text{ADP}$ 'nin)' ın fosforilasyonu ile ATP sentezi için ATP sentaz' ın (kompleks V' in) kullandığı bir proton gradyan şeklinde yakalanır [7].

ATP sentaz (Kompleks V), iki birimli bir yapıdan oluşmaktadır. Bu birimler,  $\text{F}_0$  ve  $\text{F}_1$ 'dir. Mitokondri içindeki boşlukta yüksek miktarda bulunan protonlar, yalnızca  $\text{F}_0$  ünite kanalları aracılığıyla matrikse geçebilmektedir. Proton geçişleri sırasında,  $\text{F}_0$  birimi döner ve bu hareket,  $\text{F}_0$ 'a bağlı  $\text{F}_1$  birimini de harekete geçirir. Böylece,  $\text{F}_1$  birimi dönerek ATP moleküllerinin sentezini sağlar (Şekil 2.5.) [47, 57].



Şekil 2.5. ATP sentaz kompleksi [58].

Elektronların ETZ’ de taşınırken açığa çıkarttığı enerji vasıtasıyla, ADP ile inorganik fosfor ( $P_i$ )’ un birleşerek ATP oluşturmaya oksidatif fosforilasyon adı verilir [50].

### 2.2.3. Apoptozis (Programlanmış hücre ölümü)

Mitokondri enerji dönüşümünün yanı sıra, apoptozis, hücre proliferasyonu, heme/steroid sentezi [59], kalsiyum homeostazisi [50] gibi önemli metabolik görevlerde de rol oynar ve hücre redoks durumunun düzenlenmesine katkıda bulunur.

Apoptozis, normal embriyonik gelişim, homeostazis, immün sistem fonksiyonlarında ve yaşlanma sürecinde organ gerilemesi gibi pek çok işlevde önemli rol oynayan programlanmış hücre ölümüdür [60].

Apoptozis intrinsik ve ekstrinsik adı verilen iki ana yol ile başlatılabilir. İntrinsik yolda mitokondri önemli rol oynarken; ekstrinsik yol yağ asidi sentazı (Fas), tümör nekroz faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) reseptörü, TNF- $\alpha$  ile ilişkili apoptozisi başlatıcı ligand (TRAIL) gibi ölüm reseptörleri ile uyarılır. p53 ve B hücreli lösemi/lenfoma-2 (Bcl-2) protein ailesi intrinsik yol bölümünde önemli iken, kaspazlar her iki apoptotik sinyal yolunda bulunur [60].

Mitokondri kalsiyum ( $Ca^{+2}$ ) depolayarak sitozolik  $Ca^{+2}$  seviyesini düşük tutmaktadır [61, 62].  $Ca^{+2}$  seviyesi mitokondriyal matriksin depolama kapasitesini aştığında, toksik

mitokondriyal matriks molekülleri olan sitokrom c ve apoptozu indükleyen faktör (AIF) gibi proteinler sitozole sızarak programlanmış hücre ölümünü başlatmaktadır [50, 63-65].

Sağlıklı hücrelerde, sitokrom c, mitokondrinin iç zarı ile dış zarı arasındaki alanda yer almaktadır. Mitokondrilerdeki sitokrom c' nin sitozole salınması, Bcl-2 familyası üyeleri tarafından düzenlenmektedir [63].

Bcl-2 ailesi, apoptoz üzerinde zıt etkilere sahip iki gruba ayrılır. Anti-apoptotik proteinler sitokrom c salınımını önlerken, pro-apoptotik proteinler sitokrom c' nin sitoplazmaya salınmasına neden olur [63].

Bcl-2 proteinleri, mitokondri membranında bulunan çeşitli porlardan sitokrom c' nin atılımına neden olur. Sitokrom c ise apoptozis proteaz aktive edici faktör 1 (Apaf-1)' e bağlanarak onu aktifleştirir. Aktif Apaf-1, ATP varlığında apoptozom kompleksini oluşturur. Apoptozom, pasif prokaspaz 9'u aktif kaspaz 9'a dönüştürür. Kaspaz 9, dönüşümsüz hücre ölümüne yol açan kaspaz kaskadını başlatmaktadır [62].

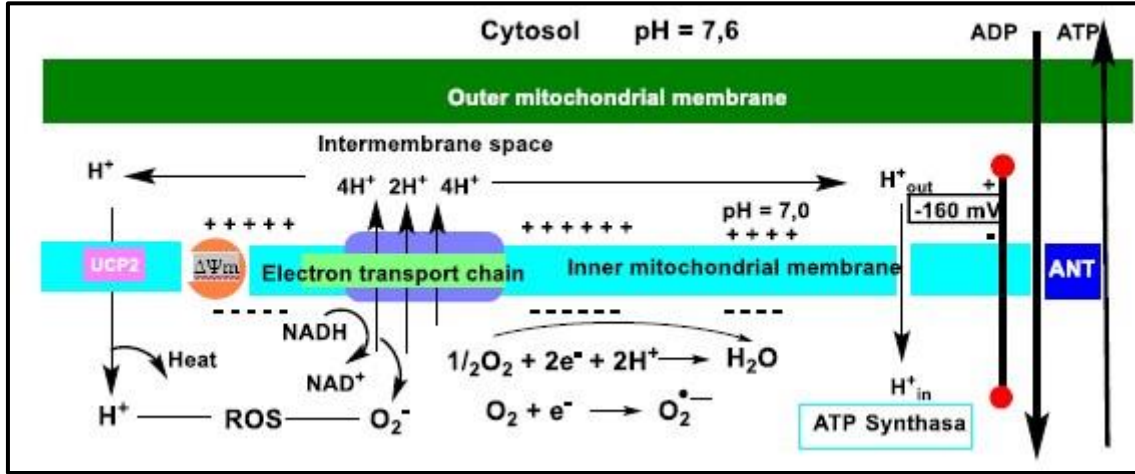
Apoptozis protein inhibitörleri (IAP)' leri, aktif kaspazları inhibe etmektedir. Mitokondriyal apoptoz sırasında kaspaz inhibe edilmiştirğinde tip I interferon yanıtının aktive olduğu bulunmuştur. Bununla tutarlı olarak hücreler, DNA ve ribonükleik asit (RNA) virüsleri tarafından enfeksiyona karşı oldukça dirençlidir [66].

Tümör baskılayıcı proteinlerin en çok araştırılanlarından biri olan p53, hücre çekirdeğinde bulunan bir transkripsiyon faktörüdür. Ciddi DNA hasarı veya hücre hasarı durumunda, bazı genlerin üretimini artırarak (Bax, Apaf-1, Fas) ve bazı genlerin üretimini baskılayarak (Bcl-2, Bcl-X) apoptozu tetiklemektedir [60].

#### **2.2.4. Mitokondriyal ayrıştırıcılar ve DNP**

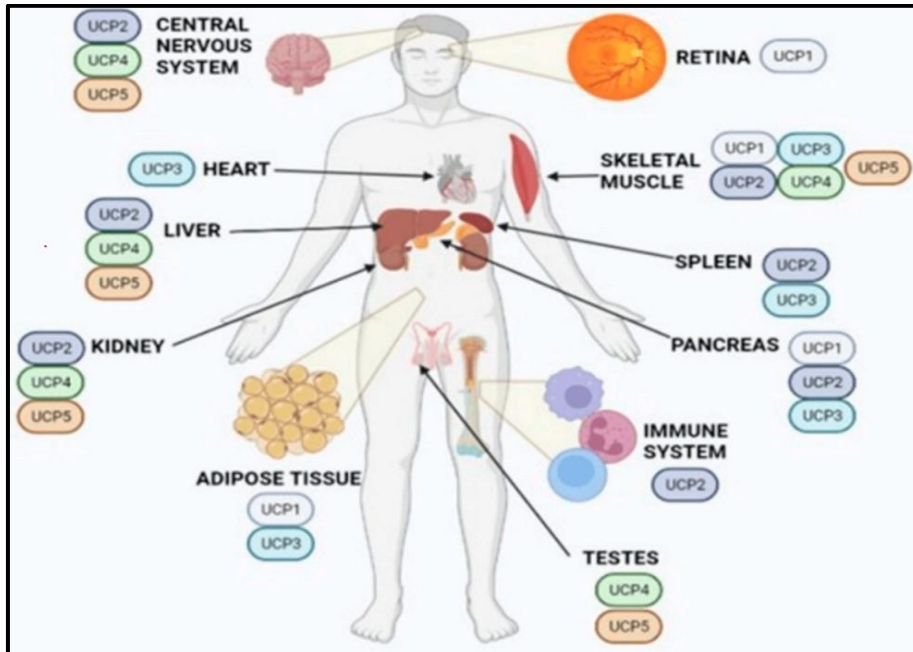
Mitokondriyal ayrıştırıcılar (Uncoupling protein (UCP) 'ler), iç mitokondriyal zarda bulunan [14, 67] ve SLC25 genleri tarafından kodlanan bir mitokondriyal anyon taşıyıcı protein ailesidir [68]. Glikoz ve lipid metabolizmasını düzenledikleri bilinmektedir [6]. UCP' ler protonları ( $H^+$ ) mitokondriyal matrikse taşır, böylece proton hareket kuvvetini dağıtır ve ATP sentezini substrat oksidasyonundan ayırır (Şekil 2.6.) [6, 59, 69]. Oksidatif fosforilasyonda üretilen protonlar, ATP sentezi yerine UCP' ler tarafından ısı olarak

termojenezde kullanılır [67]. Ayrıca mitokondrilerin serbest radikallerin üretimini kontrol etmesini etkiler ve sonuç olarak enerji dönüşüm verimliliğini etkiler [59].



Şekil 2.6. Oksidatif fosforilasyon ve mitokondriyal uncoupling' in şematik temsili [70]

Şu ana kadar farklı dokularda beş farklı UCP tanımlanmıştır: UCP1, UCP2, UCP3, UCP4, UCP5 (Şekil 2.7.) [6].



Şekil 2.7. Uncoupling protein (UCP) çeşitlerinin farklı dokulardaki dağılımı [6]

UCP1 esas olarak kahverengi yağ dokusunun mitokondrisinde bulunur [14], aynı zamanda kas, retina hücreleri ve pankreasta da bulunur. Buna karşılık, beyaz adipositler genellikle düşük mitokondri içeriğine sahiptir ve UCP1' i neredeyse hiç eksprese etmez [71].

UCP1 iç mitokondrial zarda bulunan bir proteindir. Oksidatif fosforilasyonun eşleşmesini bozarak ATP sentezini engeller. Ayrıca ısı oluşumu nedenlerindendir [2, 24, 72]. Yenidoğan memeli hayvanlar ve uyuklayan hayvanlar, vücut sıcaklıklarını korumak için yeterli kürk ve tüye sahip olmadıklarından, bu durum özellikle önemlidir [72].

Genel olarak, UCP1 membran potansiyelini düşürür, ROT oluşumunu azaltır ve enerji harcamasını ve titreme olmadan termojenezi artırır [7]. Bu nedenle, UCP1 aynı zamanda ‘termojenin’ olarak da bilinir [68].

UCP1’ in aktivitesi endojen yağ asitleri ve 2,4-dinitrofenol (DNP) gibi sentetik küçük moleküller tarafından aktive edilir [73] ve ATP gibi pürin nükleotidler tarafından inhibe edilir [68].

UCP2 kas, dalak, pankreas, böbrekler, merkezi sinir sistemi ve bağışıklık sisteminde bulunur. Ekspresyonu ROT tarafından uyarılır ve oksidatif stres ile önemli ölçüde artar ve önemli bir antioksidan rol oynar [6, 74].

UCP2 ve UCP3, yağ asidi metabolizmasını ve beta hücreleri tarafından insülin salgılanmasını düzenler ve insülin duyarlılığını modüle eder [6].

UCP4 ve UCP5 beyin metabolizması ve merkezi sinir sistemi hastalıklarının gelişiminde önemli bir rol oynar [6].

Mitokondriyal bir ayrıştırıcı olan DNP inorganik fosfat moleküllerinin mitokondriye alınmasını önleyerek nihai enerji üretim yolunu engeller [1, 12]. Böylece ATP eksikliğini telafi etmek için glikoliz artar [75]. Anaerobik glikolizdeki artış, piruvat ve laktat aşırı üretimine ve hiperlaktasidemiye yol açar [1, 32, 46].

Yapılan bir çalışmada DNP uygulamasının kreatin fosfatta bir düşüşe ve beyin-korteks dilimlerindeki inorganik fosfatta bir artışa neden olduğu gösterilmiştir [76].

### 2.3. Oksidatif Stres

Hücrede küçük miktarlarda üretilen reaktif oksijen türleri (ROT) sinyal yollarının işlevselliği için etkili olsa da kontrol edilemeyen artışları oksidatif hasara neden olmaktadır

[48]. Oksidatif stres, oluşan reaktif oksijen ve nitrojen türleri ile onları ortadan kaldıran antioksidanlar arasındaki dengesizlikten meydana gelir [4, 77]. Bu dengesizlik, fizyolojik yaşlanma sürecinde gözlemlenmekte ve makromoleküllerde (protein, karbonhidrat, lipid, DNA, RNA) oksidatif hasarların birikmesine yol açmaktadır. Bu kusur/hasar birikimi, hücrenin hayati işlevlerinde ilerleyici kayıplara neden olabilmektedir. Oksidatif stres, yaşlanma sürecinde olduğu kadar, nörodejenerasyon, kronik hastalıklar ve hatta kanser gibi birçok hastalığın patogenezinde de önemli bir rol oynamaktadır [78].

### 2.3.1. Serbest radikaller

Canlı organizmalardaki serbest radikaller, SOD enzimini keşfetmelerinin ardından önem kazanmıştır. Bunun neticesinde serbest radikallerin biyolojideki önemi anlaşılmıştır [5]. Serbest olan radikal, dışsal olan atomik yörüngelerinde eşleşmemiş daha çok elektron barındıran fazla enerjiye sahip, kararsız bileşiklerdir [79, 80]. Bu parçacıklar, çok kısa ömürlü ve kararsız bir yapıya sahiptir [81] ve çevrelerindeki moleküllerle etkileşerek mümkün olan en kısa sürede kararlı bir duruma ulaşmak istemektedirler [4].

Serbest radikaller, oksijen ve azottan kaynaklanabilmektedir. Oksijen kaynaklılara reaktif oksijen türleri (ROT), azot kaynaklılara ise reaktif nitrojen türleri (RNT) denmektedir [82].

Oksidan olarak adlandırılan nonradikal türler, canlı organizmada serbest radikal reaksiyonlarına kolayca neden olabilmektedir [83]. Reaktif oksijen türleri (ROS), hem serbest radikal hem de serbest radikal olmayan oksijen içeren moleküllerden oluşmaktadır [84].

Özetle, “reaktif oksijen türleri” ve “reaktif nitrojen türleri” kavramları çok çeşitli molekülleri kapsamakta olup, pek çok ROT (Şekil 2.8) ve RNT (Şekil 2.9) serbest radikaller (radikaller) ve serbest olmayan radikaller (nonradikaller) olarak tanımlanmıştır.

| Reaktif oksijen türleri (ROT)    |                                |
|----------------------------------|--------------------------------|
| <b>Radikaller</b>                | <b>Nonradikaller</b>           |
| Süperoksit ( $O_2^{\cdot-}$ )    | Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) |
| Hidroksil ( $OH^{\cdot}$ )       | Hipokloröz asit ( $HOCl$ )     |
| Peroksil ( $ROO^{\cdot}$ )       | Hipobromöz asit ( $HOBr$ )     |
| Alkoksil ( $RO^{\cdot}$ )        | Singlet oksijen ( $^1O_2$ )    |
| Hidroperoksil ( $HO_2^{\cdot}$ ) | Ozon ( $O_3$ )                 |
| Lipid peroksil ( $LOO^{\cdot}$ ) |                                |

Şekil 2.8. Reaktif oksijen türleri

| Reaktif nitrojen türleri (RNT)      |                                   |
|-------------------------------------|-----------------------------------|
| <b>Radikaller</b>                   | <b>Nonradikaller</b>              |
| Nitrik oksit ( $NO^{\cdot}$ )       | Nitrik asit ( $HNO_2$ )           |
| Nitrojen dioksit ( $NO_2^{\cdot}$ ) | Nitroksil katyonu ( $NO^+$ )      |
|                                     | Nitroksil anyonu ( $NO^-$ )       |
|                                     | Dinitrojen tetroksid ( $N_2O_4$ ) |
|                                     | Dinitrojen trioksit ( $N_2O_3$ )  |
|                                     | Peroksinitrit ( $ONOO^-$ )        |
|                                     | Peroksinitrik asit ( $ONOOH$ )    |
|                                     | Nitronyum katyonu ( $NO_2^+$ )    |
|                                     | Nitril klorid ( $NO_2Cl$ )        |
|                                     | Alkil peroksinitrit ( $ROONO$ )   |

Şekil 2.9. Reaktif nitrojen türleri

Mitokondrilerde, elektron taşıma zinciri reaksiyonları sonucunda oksijen suya dönüştürülmektedir. Metabolik bu süreçte, mitokondrilerdeki %2-3 oksijen suya dönüştürülmez, ancak oksijen kaynaklı radikallerin kaynağı haline gelir [4].

#### Süperoksit radikali ( $O_2^{\cdot-}$ )

Hücrel oksijenin %90' nından fazlası mitokondride kullanılır ve kompleks IV' te suya dönüştürülür. Tüketilen oksijenin yaklaşık %1-2' si kompleks I ve III' ten süperoksite dönüştürülür [60].

Oksijen molekülünün bir elektron ( $e^-$ ) almasıyla süperoksit radikal oluşmaktadır [48]. Bu radikal, özellikle elektron bakımından zengin olan iç mitokondriyal zarda ve ksantin oksidaz

gibi flavoenzimler aracılığıyla vücutta doğal olarak meydana gelmektedir [81]. Süperoksit radikali çok reaktif değildir ve doğrudan zararı yoktur [80].

#### Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )

$H_2O_2$ , oksijenin iki tane olacak şekilde elektron almasıyla oluşmaktadır [48]. Hidrojen peroksit, nonradikaldır ve serbest radikal meydana getirilmesinde rol oynar [85]. Demir ve bakır varlığında Fenton reaksiyonu ile süperoksit radikalleri varlığında Haber-Weiss reaksiyonu ile hidroksil radikali ( $OH^\bullet$ ) oluşturmaktadır [80].

#### Hidroksil radikali ( $OH^\bullet$ )

Oksijene üçüncü elektronun eklenmesiyle hidroksil radikali oluşmaktadır [48]. Bunlar son derece reaktif radikallerdir, 9-10 saniye gibi çok kısa bir yarı ömürleri vardır. ROT'un en güçlüleridirler. Yeni radikaller oluşturur ve neticesinde hücrede hasara neden olmaktadır [81].

#### Nitrik oksit (NO)

Büyük öneme sahip reaktif nitrojen türleri (RNT) içerisinde, biyolojik sistemlerde oluşan nitrik oksit (NO) yer almaktadır. Endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) ve nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS) enzimleri aracılığıyla bir amino asit olan L-arjininden sentezlenir [86].

Nitrik oksit (NO), güçlü bir vazodilatör maddedir [87]. Vücuttaki reaktif oksijen türleri (ROT) ile tepkimeye girerek peroksinitrit ( $ONOO^-$ ) adı verilen güçlü bir oksidanı oluşturduğu bildirilmiştir. Peroksinitrit, daha ileri tepkimelerle hidroksil ( $OH^\bullet$ ) radikalini meydana getirmektedir [4, 80]. Önceki çalışmalar, Parkinson hastalarında yüksek MDA ve nitrit seviyelerini rapor etmiş ve bu nörodejeneratif bozukluğun artmış oksidatif stresle ilişkili olduğunu desteklemiştir [88].

Aktive olmuş makrofajlar tarafından salgılanan NO üretimi çeşitli faktörlerden etkilenmektedir. Nitrik oksit üretimi endotoksin, g-interferon, interlökin (IL)-1, IL-2 ve tümör nekroz edici faktör-alfa ( $TNF-\alpha$ ) ile uyarılırken; glukokortikoidler, transforming büyüme faktör-b ( $TGF-b$ ), makrofaj farklılaştırıcı faktör (MDF), IL-4 ve IL-10 ile inhibe edilir [89].

Sonuç olarak, nitrik oksit, inflamasyon sürecinin önemli bir parçasıdır ve hem koruyucu hem de zararlı etkileri olabilir. Bu denge, vücut için hayati önem taşır ve inflamatuvar hastalıkların tedavisinde hedef alınan bir mekanizma olabilir.

### 2.3.2. Serbest radikal oluşturan başlıca mekanizmalar

Ne kadar dikkatli olursak olalım, normal metabolizma ve çevresel oksidanlara maruz kalma nedeniyle endojen ve egzogen serbest radikal oluşumunu önleyemeyiz. Hücrelerimiz yiyecek ve oksijenden enerji ürettiğinde ve mikrobiyal enfeksiyonlara, yoğun egzersize veya sigara dumanı, alkol, iyonlaştırıcı ve UV ışınları, pestisitler ve ozon gibi kirleticilere / toksinlere maruz kaldığında serbest radikaller üretilir. Yaşlanmaya katkıda bulunan oksidan ajanların en önemli endojen kaynakları, mitokondriyal: elektron taşıma zinciri ve nitrik oksit sentaz reaksiyonudur. Serbest radikallerin nonmitokondriyal kaynakları arasında peroksizomal beta-oksidasyon ve fagositoz hücrelerinin solunum patlaması bulunur [84].

Mitokondrilerde UCP' ler vasıtasıyla mitokondri matriksine protonların geri girmesi de mitokondrilerdeki serbest radikal oluşumunu etkilemektedir [4].

#### Otooksidasyon

Yağların yapısındaki doymamış yağ asitlerinin oksijen ile tepkimeye girmesi sonucunda çeşitli bileşiklerin oluşması süreci olarak tanımlanan otooksidasyonda [77], ilk oluşanların ROOH yani hidroperoksit ürünlerinin olduğu düşünülmektedir [79].

Yağların oksidasyonu üç aşamadan oluşmaktadır. Bu aşamalar; başlangıç (başlatma), yayılma ve parçalanmadır (sonuç) [79, 90, 91].

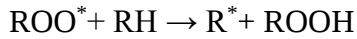
#### *Başlangıç aşaması*

Yağ asidinden (RH), hidrojen ayrılması ve serbest radikal oluşumu ( $R^*$ ) ile sonuçlanır [79, 90].



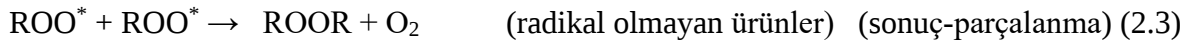
### *Yayılma aşaması*

Oksijen, aktif radikallere bağlanmaya devam eder ve aktif peroksi radikallerin (ROO\*) oluşmasına neden olur. Bu aktif peroksi radikaller, tarafsız hale gelmek için hidrojenlerden birini bağlar. Böylece hidroperoksitler ve ilk oksidasyon ürünlerinden yeni lipid radikalleri oluşur [90].



### *Sonuç*

Son aşamada, oluşan radikaller birbirleriyle tepkimeye girer ve radikalden uzak ürünlere dönüşür. [79].

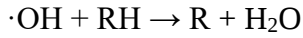


Kararsız bileşikler olan hidroperoksitlerin, aldehitler, ketonlar, asitler, hidrokarbonlar ve epoksi asitler gibi oksidasyon ürünlerine dönüşmesi, reaksiyondaki en son aşamada gerçekleşmektedir [90].

### Geçiş metal iyonlarının etkisi

Canlı sistemde serbest radikallerin oluşumunu tetikleyen güçlü oksidatif katalizörler olarak demir ve bakır vb. geçiş metal iyonları da işlev görmektedir [79].

$Fe^{+2}$  katalizörlüğünde süperoksit anyonu ( $\cdot O_2^-$ )  $H_2O$  ile tepkimeye girdiğinde, zararlı hidroksi ( $\cdot OH$ ) radikallerinin oluşmasına yol açan “Haber-Weiss reaksiyonu” gerçekleşmektedir [79].



Hidroksil radikali, hızlı bir şekilde lipid radikallerini oluşturan ve lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonlarını başlatan son derece reaktif bir türdür [79].



### Fotooksidasyon

Fotosensitizerler, aldıkları ışık enerjisiyle uyarılır. Uyarılmış sensitizer, enerjisini moleküler oksijene aktarır ve singlet oksijen oluşturmaktadır. Doymamış yağ asitleri, singlet oksijen ile tepkimeye girer ve hidroperoksit oluşumlarına neden olur [92].

### Enzimatik oksidasyon

Enzimatik oksidasyon, linoleik, linolenik ve araşidonik yağ asitlerinin lipoksigenaz (LOX) enzimi tarafından katalizlenen oksidasyonudur. Bu enzim, bu doymamış yağ asitlerine özgüdür [90].

LOX aktivasyonu, lipid peroksidasyonunun davetçisi olarak adlandırılır. Çünkü lipoksijen enzimi tarafından katalize edilen reaksiyon sırasında peroksil radikali oluşmaktadır [82].

Canlı sistemde ROT oluşturan enzimlerden diğer ikisi olan ksantin oksidaz (XOD) ve NADPH oksidaz, dokuda belli stres koşulları altında süperoksit anyonunu oluşturmaktadır [79].

### Halojenlenmiş hidrokarbonlar

Kontamine içme suyunda bulunan azot oksitler, serbest radikal oluşumuna neden olan başka bir olaydır.  $\text{CCl}_4$  ve  $\text{CBrCl}_3$  gibi hidrokarbonlar, biyolojik sistemlerde oksidatif hasarın başlatılmasında etkili olduğu bildirilmektedir.  $\text{CCl}_4$ 'ün metabolizması sırasında, triklorometil ve triklorometil peroksil radikalleri gibi son derece reaktif türler üretmektedir. Bu durum, protein denatürasyonu ve lipid peroksidasyonuna yol açmaktadır [79].

### 2.3.3. Serbest radikallerin biyomoleküller üzerinde etkisi

Antioksidan sistemleri yetmediğinde serbest radikaller, DNA, protein ve lipid makromoleküllerin oksidasyonuna neden olmaktadır [5].

#### Lipit peroksidasyonu

Serbest oksijen radikalleri, hücre zarlarındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin yapısını bozarak, onları parçalara ayırır. Bu parçalanma sonucunda çeşitli oksidatif stres ürünleri ortaya çıkar. Peroksitler, hücre zarlarının oksidasyonu ile oluşan organik bileşiklerdir. Alkoller ve aldehytler, lipidlerin oksidasyonu sırasında meydana gelen ara ürünlerdir. Bu süreç, lipid peroksidasyonu olarak adlandırılmaktadır. Malondialdehit, lipid peroksidasyon sürecinin sonucunda oluşan en önemli bozunma ürünüdür. Bu madde, hücredeki çeşitli bileşiklerin fonksiyonel gruplarıyla tepkimeye girerek hücreye zarar vermektedir [4].

Malonaldehit (MDA), yağ oksidasyonu sonucunda oluşan ikincil bir aldehittir [93] ve en yaygın kullanılan oksidasyon belirtecidir [8].

Yaşlanma, ateroskleroz ve diyabet gibi hastalıkların yanı sıra nörodejeneratif bozuklukların da temel nedeni, genellikle kabul edilen bir mekanizma olan lipid peroksidasyonudur. Bu süreç, hücre hasarına ve hatta hücre ölümüne neden olabilmektedir [94].

#### Protein Oksidasyonu

Protein yapısındaki bozulma, reaktif oksijen türevleri ( $\text{OH}^\cdot$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  vb.) tarafından doğrudan veya oksidatif stresin ikincil ürünleriyle reaksiyona girerek proteinlerde meydana gelen kovalent modifikasyonlar olarak tanımlanmaktadır [95]. Yaşlanmayla birlikte oksidatif hasara uğramış proteinlerin miktarının arttığı gözlemlenmiştir [5].

Proteinlerin oksidasyonu sonucu oluşan aldehit veya keton gruplarına protein karbonil bileşikleri (PCC) denmektedir [94]. PCC, glikasyon/glikooksidasyondan ve lipooksidasyondan da oluşabildiği için plazma ve doku örneklerinde “özel bir marker” olarak kullanılamaz ve çoklu radikallerden kaynaklanan protein oksidasyonunun “genel bir marker” olarak kabul edilmektedir [94].

Serbest radikaller proteinlere saldırınca, peroksitler ve karboniller oluşmaktadır. Aminoadipik semialdehit ve glutamik semialdehit adlı karbonil içeren bu iki bileşik, metal aracılı protein oksidasyonunun ana karbonil ürünleridir.

Fizyolojik olarak, yaşam boyunca küçük miktarlarda oluşan ileri düzey okside protein ürünleri (AOPP), yaşla birlikte artış gösterir ve karaciğer ve dalak yoluyla vücuttan atılmaktadır. Öte yandan, oksidatif stresle ilişkili olarak kardiyovasküler hastalık ve diyabet gibi birçok patolojik durumda önemli ölçüde artan AOPP seviyeleri, oksidatif stres ve enflamasyon derecesini yansıtan stabil bir marker olarak kabul edilmektedir [94].

#### DNA oksidasyonu

Çeşitli oksijen radikalleri formundaki oksidatif stres, DNA'yı değiştirir. Hasar, tek ve çift iplikli kırılmalara ve baz değişikliklerine yol açarak hücrel işlev bozukluğuna, mutajeneze ve hatta karsinogeneze neden olur. Hidroksil radikal, pirimidin ve pürin bazlarının doğrudan oksidasyonu ile DNA'ya direkt zarar verir [70] Özellikle, hidroksil radikallerinin guanin bazlarına saldırdığı bilinmektedir [96].

Mitokondriyal ROT üretimi sitoplazmadakinden çok istatistiki bakımdan anlam ifade eden ve yüksek gerçekleştiğinden, ROT'un mtDNA'da neden olduğu hasar, nükleer DNA'ya verilen hasardan çok daha önemlidir. MtDNA'nın mutasyon oranı, nükleer DNA'ninkinden yirmi kat daha yüksektir ve nokta mutasyon oranı, nükleer genlerinkinden iki kat daha yüksektir [6].

#### Karbonhidrat oksidasyonu

Monosakkaritlerde gerçekleşen otooksidasyonun sonucunda peroksitler ve okzoaldehitler oluşmaktadır [97]. Bunun yanında, süperoksit ve hidrojen peroksit, in vitro ortamda hiyalüronik asidin bozulmasına neden olduğu gösterilmiştir [98].

### **2.4. Antioksidanlar**

Serbest radikallerin sebep olduğu oksidasyonu engelleyen ve serbest radikalleri yakalayıp stabil hale getirme yeteneğine sahip maddeler “antioksidanlar” olarak adlandırılmaktadır [79]. Bu mekanizmalar “antioksidan savunma sistemleri” olarak bilinmektedir [80].

Tüm antioksidanlar etkilerini temel olarak dört farklı yolla göstermektedir [80]. Serbest oksijen radikallerini etkisizleştirme etkisi; onların tutulmasını etkileyerek veya oksidanları daha zayıf bir moleküle dönüştürerek gerçekleşmektedir. Antioksidan enzimler ve mikromoleküller bu şekilde çalışmaktadır. Oksidanları etkisiz hale getirerek veya tepkime hızlarını azaltarak onlara hidrojen aktararak etki göstermektedirler. Vitaminler ve flavonoidler bu şekilde etkilerini göstermektedirler. Serbest radikallerin biyolojik yapılara, örneğin yağlara, proteinlere ve DNA'ya verdiği hasarın onarılması. Bu onarım süreci, serbest radikallerin neden olduğu biyolojik hasarın giderilmesini sağlamaktadır.

Antioksidanlar, eylem mekanizmalarına, edinim yollarına veya enzimatik özelliklerine göre çeşitli şekillerde sınıflandırılmaktadır [78].

Birincil antioksidanlar, oksidasyon sürecini başlangıç veya gelişme aşamasında önleyebilen maddelerdir. Mevcut radikalleri etkiler ve onların daha zararlı formlara dönüşmesini ve yeni serbest radikallerin oluşumunu önlemeye çalışır, yani oksidasyon süreci başlamadan önce engellenebilmektedir. Oksidatif reaksiyonlar başladıysa, antioksidanlar bu süreci durdurabilir veya yavaşlatabilmektedir. Organizmalardaki koruyucu özellikleri sayesinde, antioksidanların anti-mutajen, anti-karsinojen ve anti-yaşlanma gibi birçok diğer rolü de bulunmaktadır [78]. İkicil antioksidanlar oksijen radikallerini yakalayıp radikal zincir reaksiyonlarını kırarak koruyucu bir rol oynamaktadır [78, 79].

Antioksidanlar temel olarak iki gruba ayrılır. Bunlar; doğal ve doğal olmayan antioksidanlardır [67]. Hem endojen hem de eksojen antioksidanlar enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak sınıflandırılmaktadır [99].

#### **2.4.1. Eksojen antioksidanlar**

Trolox-c, Folik asit, Anestezikler, Mannitol, Barbitüratlar, Demir şelatörleri, Bütillenmiş Hidroksi Toluen [97].

#### **2.4.2. Endojen antioksidanlar**

Enzimler; Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSHPx), glutatyon-s-transferazlar (GST), mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi, hidroperoksidaz [97].

Enzim olmayanlar; melatonin, seruloplazmin, transferrin, miyoglobin, hemoglobin, ferritin, bilirubin, glutatyon, sistein, metiyonin, ürat, laktoferrin albümin [97].

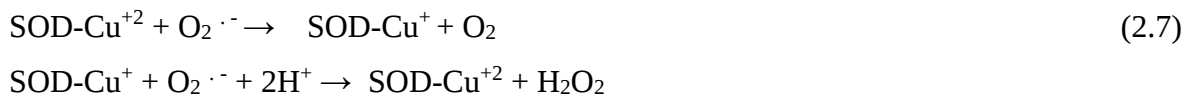
### Enzimatik antioksidanlar

#### *Süperoksit Dismutaz (SOD)*

Süperoksit dismutaz (SOD), hücrelerde oksidatif stresin önemli bir savunma mekanizmasıdır. Bu enzim, süperoksit radikallerini ( $O_2^{\cdot -}$ ) hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve oksijen ( $O_2$ )' e dönüştürür. Süperoksit radikalleri, mitokondrilerde gerçekleşen oksidatif fosforilasyon sırasında veya diğer hücresel süreçlerde ortaya çıkabilir ve hücresel hasara neden olabilir. SOD, süperoksit radikallerini daha az reaktif ve daha kararlı olan hidrojen peroksit ve oksijene dönüştürerek, hücreyi oksidatif hasara karşı korur [100].



Bilinen üç SOD izoformu vardır. SOD 1 (bakır-çinko SOD; CuZn-SOD) mitokondriyal zarlar arası boşlukta, sitozolde ve çekirdekte bulunur. SOD 2 (manganez SOD; Mn-SOD) sadece mitokondriyal matriste bulunurken, SOD 3 (ekstraselüler CuZn-SOD; EC-SOD) hücre dışı boşlukta bulunur [6, 80, 101]. Nörodejeneratif hastalıklarda, SOD-1 ve SOD-2 genlerinin bozulduğu ve/veya mutasyona uğradığı görülmektedir [99].



Serbest radikal oluşumu, süperoksit dismutaz (SOD) seviyesindeki azalmayla artmaktadır. Yaşlanmayla birlikte SOD düzeyi düşmektedir. Günlük SOD takviyesi, bağışıklık sistemini korur ve hastalık gelişme riskini azaltır, ayrıca yaşlanma sürecini yavaşlatır [80].

#### *Katalaz (CAT)*

Katalaz enzimi, vücudumuzda bulunan organellerde yer alan önemli bir enzimdir. Bu enzim, hidrojen peroksitin parçalanmasını hızlandırarak, zararlı olan hidrojen peroksit moleküllerinin su ve oksijen moleküllerine ayrılmasını sağlar [101].

CAT



Katalaz, alt biriminin her birinde bir ferriprotoporfirin grubu bulunan bir homotetramerik enzimdir [101]. Katalaz (CAT) enzimi ağırlıklı olarak peroksizomların içinde bulunmaktadır. Memeli hücrelerinin mitokondrilerinde bulunmamaktadır. Tek istisna, sıçan kalbinin mitokondrisidir.

Mitokondrilerde oluşan süperoksit radikalleri yok edilir. Hücre, Mn-SOD ve glutatyon peroksidaz enzimlerinin üretimini artırarak, oksidatif strese karşı kendini koruyabilmektedir. Bununla birlikte, önemli miktarda  $\text{H}_2\text{O}_2$  mitokondrileri terk ederek sitoplazma içine geçmektedir. Hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), mitokondri'den sitozole geçerken, peroksizomlar tarafından üretilen CAT enzimi sayesinde detoksifiye edilmektedir [80]. CAT eksikliği veya işlev bozukluğunun, birçok yaşa bağlı dejeneratif hastalığın patogenezi ile ilişkili olabileceği öne sürülmektedir [99].

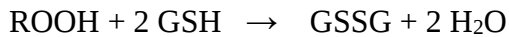
#### *Glutatyon peroksidaz (GSHPx)*

Glutatyon peroksidaz, mitokondrilerde ve bazen de sitoplazma içinde hidrojen peroksidin suya parçalanmasını sağlayarak önemli bir antioksidan görevi görmektedir [80]. Bu enzim, redükte glutatyon (GSH) kullanarak hidroperoksitleri parçalayarak hücreleri oksidatif hasardan korumaktadır [98, 101]. Çoğu zaman aktivitesi selenyum (Se)'a bağlıdır [79].

GSHPx

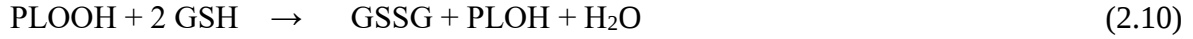


GSHPX



Fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidazı (PLGSH-PX), memelilerde bulunan ve aynı görevi yapan ikinci bir selenoenzimdir. Bu enzim, hücre zarı yapısındaki fosfolipid hidroperoksitleri (PLOOH) alkoller haline dönüştürmektedir. Vitamin E, en önemli zar bağlı antioksidan olmadığında, membran fosfolipitlerini peroksidasyona karşı koruyan en önemli savunma mekanizması PLGSH-Px'tir [102].

PLGSH-PX

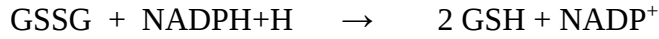


GSHPx, substratı olan hidrojen peroksiti alkole indirgerken glutatyon reaksiyona katılarak okside hale dönüşür. Okside hale dönen glutatyon (GSSG), NADPH ile tekrar eaksiyona girerek kullanılabilir GSH' a dönüşür [102].

GSHPx



Glutatyon Redüktaz



Yapılan araştırmalara göre, GSHPx seviyelerinin düşük olması antioksidan sistemin zayıflamasına neden olmaktadır. Sonuç olarak, nörodejenerasyonun gelişmesi, antioksidan savunma sisteminin bozulduğunu göstermektedir [80].

### *Glutatyon Redüktaz (GRx)*

Glutatyon redüktaz, oksidatif stres ile mücadelede önemli bir role sahip bir enzimdir. Bu enzim, hücrelerdeki glutatyon (GSH) moleküllerinin oksitlenmiş formunun (GSSG) tekrar indirgenmesini sağlayarak, antioksidan savunma sisteminin korunmasına yardımcı olur [102]. Bu enzim, ortamda yeterli miktarda NADPH bulunduğunda aktif hale gelmektedir. Görevleri arasında, NADPH'tan bir elektron alarak GSSG'nin disülfid bağlarına aktarmak yer almaktadır [101]. NADPH oluşumu, sitozoldeki pentoz metabolik yolunun ilk adımı olan glukoz-6P dehidrojenaz enzimi tarafından gerçekleştirilmektedir [4, 102].

### *Mitokondriyal sitokrom oksidaz*

Elektron taşıma zincirindeki görevine ek olarak süperoksit radikalının suya dönüşümünü de sağlar [98].

Sitokrom Oksidaz



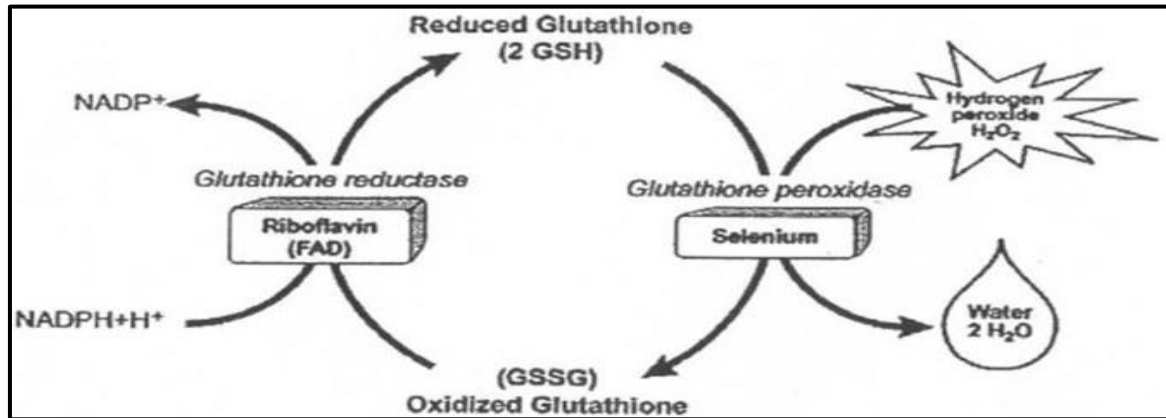
## Nonenzimatik antioksidanlar

### *Glutatyon (GSH)*

Glutatyon, hücreleri oksidatif hasardan koruyan önemli bir bileşendir. Redükte formu olan GSH, hücre içinde yüksek konsantrasyonda bulunur ve oksido-redüksiyon dengesini sağlayarak hücreyi zararlı reaktif oksijen türlerine karşı korumaktadır. Bu sayede hücre içindeki dengeyi korur ve hücreyi endojen veya eksojen ROT'lar karşısında savunmaktadır [37].

Selenyum içeren bir enzim olan glutatyon peroksidaz (GPx), oksitlenmiş glutatyonu (GSSG) indirgeyerek tekrar redükte forma (GSH) dönüştürmektedir. Bu işlem, bir başka enzim olan glutatyon redüktaz (GRx) tarafından gerçekleştirilmektedir (Şekil 2.10).

Glutatyon, hücre içindeki enzim katalizörlüğü olmadan, tekli oksijen ( $^1\text{O}_2$ ), süperoksit anyonu ( $\cdot \text{O}_2^-$ ), hidroksi ( $\cdot \text{OH}$ ) radikalleri benzeri zararlı oksidanlara tepki vermektedir [79].



Şekil 2.10. Glutatyon (GSH) redoks döngüsü [103]

Glutatyon (GSH), hücre içi birçok enzimin yapısında bulunur ve pek çok hücrel işlev için gereklidir [92].

### *E vitamini (α-Tokoferol)*

E vitamini, plazma ve tüm hücre membranlarda bulunan bir lipit-faz antioksidandır [98]. E vitamini, lipit peroksil radikallerini temizlemekte, zincir reaksiyonlarını sonlandırmakta ve biyolojik membranları oksidatif hasardan korumaktadır [100, 102].

### *C vitamini (Askorbik asit)*

Askorbik asit, suda çözünür ve ince bağırsaktan kolayca emilmektedir [98]. Vücutta sentezlenemediği için, dışarıdan besinlerle alınmalıdır [79]. Serbest radikalleri temizlemenin yanı sıra, oksitlenmiş E vitamini de azaltabilen bir vitamindir. Askorbik asit, ozon (O<sub>3</sub>) ve azot dioksit (NO<sub>2</sub>) gibi oksidatif etkilere karşı koruyucudur [101]. Arteroskleroz, iskemik kalp hastalığına ve kanser gibi hastalıklara karşı da koruyucu etkisi olduğu bildirilmiştir [98].

Askorbik asit, aslında bazı durumlarda oksidatif etkiler gösterebilmektedir. Özellikle katalitik metal iyonlarının varlığında, askorbik asitin antioksidan özelliklerinin yanı sıra prooksidan etkileri de ortaya çıkabilmektedir [96, 98, 101].

Askorbik asit, serbest radikallerle etkileşime girdiğinde oksitlenir ve dehidroaskorbik asit (DHA) haline gelir. Bu dönüşüm, askorbik asidin antioksidan özelliklerini kaybetmesine neden olur. Dehidroaskorbik asit, hücre içine girdiğinde glutatyon ve diğer antioksidanlar tarafından yeniden askorbik aside dönüştürülebilir [104, 105]. Bu süreç, hücrel koruma sağlar.

### *Karotenoidler*

Karotenoidler, önemli beslenme karotenoidleri arasında, sarı, turuncu sebze ve meyvelerde bulunan  $\beta$ -karoten, domateslerde bulunan likopen ve brokoli ile lifli yeşil sebzelerde bulunan lutein yer almaktadır [79]. Bu madde kanser ve kalp-damar hastalıklarına karşı koruyucu etkiye sahiptir [98].

### *Ürik asit*

Ürik asit, insan vücudunda oluşan doğal bir moleküldür. Pürin metabolizmasının son ürünü olarak sentezlenir ve vücut sıvılarında yaklaşık 0.5 mmol/L konsantrasyonda bulunur. Ürik asit, güçlü antioksidan özelliklere sahiptir ve vücutta oluşan çeşitli serbest radikalleri temizleyebilme yeteneğine sahiptir [101]. Ozon (O<sub>3</sub>), singlet oksijen (1O<sub>2</sub>), peroksil radikali (ROO $\cdot$ ) ve hidroksil (OH $\cdot$ ) gibi reaktif oksijen türlerini etkisiz hale getirerek oksidatif stresi azaltır [106].

## 2.5. Sitokinler

Sitokinler, bağışıklık ve inflammatuar olayları, örneğin enflamasyonu, hücre büyümesini, iyileşmeyi ve sistemik hasar tepkisini düzenler. Sitokinler, hücrelerin birbirleriyle olan iletişimde ve koordinasyonunda önemli bir rol oynar. İmmün sistem hücrelerinden kaynaklanan sitokinler, enfeksiyon, doku hasarı veya diğer inflammatuar durumlar karşısında bağışıklık yanıtının tetiklenmesini ve düzenlenmesini sağlar. Ayrıca, büyüme, farklılaşma ve apoptoz gibi hücresel süreçleri de kontrol eder. Sitokinler hormonlara benzer olsa da, tam birer hormon değildirler [107].

Çok düşük konsantrasyonlarda bile, hedef hücreye özgü reseptörlerine bağlanarak etkilerini gösterebilmektedirler [108]. Otorin, pararin ve endokrin etkilere sahiptirler [107]. Bir sitokininin etkisi, o sitokini üreten hücre üzerindeyse ‘otokrin’, ‘parakrin’, ‘endokrin’ olacak şekilde sınıflandırılmaktadır.

Pro-inflamatuar sitokinler, çeşitli inflammatuar hastalıklarda iltihabın artmasına ve kronik inflamasyonun sürdürülmesine yardımcı olurken [109] anti-inflamatuar sitokinler iltihabı azaltır ve iyileşmeyi teşvik eder. Pro-inflamatuar sitokinlere örnek olarak IL-1 ve TNF- $\alpha$  verilebilirken, IL-10 önemli bir anti-inflamatuar sitokindir [110].

Genellikle kısa mesafelerde ve kısa zaman aralıklarında ve çok düşük yoğunlukta hareket ederler. Davranışlarını değiştirmek için (gen ekspresyonu) ikinci habercilerle, çoğunlukla tirozin kinazlarla hücrelere işaret eden spesifik membran reseptörlerine bağlanarak hareket ederler [107].

Makrofajlar, yağ dokusundaki pro-inflamatuar sitokinlerin başlıca kaynağıdır [111]. 2017 yılında yapılan bir çalışma, ATP’ nin sitokin ekspresyonunu düzenleyebileceğini önermektedir. Hücre içi ATP seviyesinin artması ile pro-inflamatuar sitokinlerden olan tümör nekroz faktörü alfa (TNF $\alpha$ ), monosit kemotaktik protein 1 (MCP-1), interlökin 1 beta (IL-1 $\beta$ )’ da artış tespit edilmiştir. Anti-inflamatuar sitokinler (IL-10 ve IL-13) de, pro-inflamatuar sitokinlere benzer bir artış göstermiştir [111].

Oksidatif stresin birçok hastalıkla ilişkilendirilmesi nedeniyle, ROT çeşitli transkripsiyon faktörlerini aktive edebilir, bunlar da inflamasyonu teşvik eder ve sitokinler ile kemokinler

üretir [9]. Nükleer faktör- kappa B (NF- $\kappa$ B) olarak adlandırılan bir transkripsiyon faktörü artan oksidatif stresin etkisiyle inflamasyonu başlatan TNF-alfa ve interlökin 6 (IL-6) gibi sitokinlerin salınmasına neden olur [112].

2016 yılında Green M.P. ve arkadaşları tarafından sığır emriyo gelişimi sırasında uygulanan DNP' nin interferon tau (IFNT) üretimini önemli ölçüde azalttığını ve cinsiyet oluşumunu erkek bireyler lehine arttırdığını göstermiştir [113].

### 2.5.1. Sitokinlerin sınıflandırılması

Sitokinler geniş bir yelpazeye sahiptir ve çeşitli şekillerde sınıflandırılabilirler. Sitokinler immün sisteme göre; interferonlar (virüslere karşı savunmada rol oynarlar), interlökinler (lenfositlerin etkileşimlerini düzenler) ve tümör nekroz faktörü (TNF) (apoptoz ve inflamasyon süreçlerinde rol alır) şeklinde sınıflandırılır.

Sitokinler fonksiyonel olarak; proinflamatuvar sitokinler, (inflamasyonu arttıran TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  gibi), antiinflamatuvar sitokinler (inflamasyonu baskılayan IL-10 gibi) ve immünoregülatör sitokinler (bağışıklık yanıtlarını düzenleyen IL-2 gibi) şeklinde sınıflandırılır.

Sitokinler yapısal olarak; interlökin (IL) ailesi (lenfositlerin fonksiyonları üzerinde etki eder), kemokinler (hücrelerin göçünü ve yerleşimini düzenler) ve dönüşüm büyüme faktörü-beta ailesi (hücre büyümesi ve gelişimini düzenler) şeklinde sınıflandırılır.

Sitokinlerin etkileşimleri ve dengesi, bağışıklık sisteminin normal fonksiyonları ile hastalıkların gelişiminde kritik bir rol oynar. Bu nedenle, sitokinler ve sınıflandırmaları, immünoloji ve tıbbi araştırmalar açısından büyük önem taşır.

#### Tümör nekroz faktör- alfa (TNF- $\alpha$ )

TNF- $\alpha$ ; prostoglandin E2, kemokinler ve sitokinler, hücre adezyon molekülleri ve kemik rezorbsiyonuyla ilişkili etkenlerin üretimini uyaran güçlü bir pro-enflamatuvar sitokindir. TNF- $\alpha$ , lenfoid hücreler, kardiyak miyositler, aktive edilmiş makrofajlar, endotel hücreleri, mast hücreleri, fibroblastlar, nöronlar ve yağ dokusu gibi çeşitli hücre türleri tarafından üretilir. TNF- $\alpha$ ; özellikle bakteriyel lipopolisakkaritlere cevap olarak makrofajlardan salınır.

TNF- $\alpha$  endotel hücrelerini uyarak lökosit birikimini hızlandırır ve makrofajlardan IL-1 $\beta$  salınımını artırır [110].

Tümörün üzerindeki ana rolü, tümör endotelindeki hemorajik nekrozu tetiklemektir. Bunu, tümörü besleyen kan damarlarında tromboz oluşturarak yapmaktadır. TNF aynı zamanda makrofajlarda sitotoksik faktörlerin, örneğin nitrik oksidin (NO) oluşumu ve salınımını uyarak tümör hücrelerine de etki etmektedir. Tümörler üzerindeki TNF'nin bir diğer etkisi, naturel killer (NK) hücrelerle bağlantılı olmasıdır. NK hücreleri, makrofaj ihtiyacı olmadan salgıladıkları sitotoksik maddelerle tümör hücrelerini doğrudan etkiler ve yok etmektedir [108].

Bununla birlikte, TNF'nin aşırı salgılanması insanlarda çeşitli hastalıklara neden olabilmektedir. Bunlar; Romatoid artrit, ülseratif kolit, multiple sklerozis, sistemik lupus eritematozus, vaskülit, sjögren sendromu ve çeşitli kanserler gibi çok sayıda otoimmün ve enflamatuar sistemik hastalıklardır [110]. Uzmanlar, TNF'nin kanser hücrelerinde veya tümörü yutan makrofajlarda aşırı miktarda NO ve serbest oksijen radikallerinin üretimini artırarak DNA hasarına neden olduğu ve DNA onarım mekanizmalarını engellediği hipotezini öne sürmüştür. Ayrıca, hücrelerde NF $\kappa$ B aktivasyonu tarafından apoptoz önlendiğinde hücre sağkalımını sağlayarak tümör gelişimine katkıda bulunduğu düşünülmektedir [108]. Bu, TNF'nin anti-tümör aktivitesine rağmen tümör-teşvik edici etkileri olduğunu göstermektedir.

Vücuttaki en büyük TNF- $\alpha$  kaynağı alt deri yağ dokusudur. Kilolu insanlarda kilo kaybıyla birlikte TNF- $\alpha$  miktarı azalmaktadır. Hücre kültürlerinde TNF- $\alpha$ , insülinin etkisini engellediği görülmektedir. TNF- $\alpha$ , tümör hücrelerinde apoptoza neden olur ve insülin reseptörlerinin sayısını azaltarak insülin direncine yol açmaktadır. İnsülin direncine yol açan obezlerde ve diyabetik hastalarda adinopektin seviyelerinin düşük olduğu bilinmektedir. Adinopektin, eksikliği insülin direncini artırır ve diyabet gelişimi açısından risk faktörü oluşturur [108].

1995 yılında Jose' A. ve arkadaşları tarafından yayınlanan bir çalışmada; mitokondriyal solunum zinciri blokajının, TNF $\alpha$ 'nın fare L929 hücrelerindeki tip 1 TNF $\alpha$  reseptörüne bağlanmasını azaltarak (muhtemelen TNF $\alpha$  reseptörlerinin bu sitokin için affinitesini

azaltarak) hücrelerin  $\text{TNF}\alpha$ 'nın sitotoksitesine karşı direncini artırabileceğini göstermiştir [114].

Mitokondriyal solunum zincirinin blokajı ile  $\text{TNF}\alpha$ 'nın hücrelere bağlanma kapasitesinin azalması,  $\text{TNF}\alpha$ 'nın biyolojik etkilerini azaltabilir ve dolayısıyla oksidatif stresi, hidroksil radikal oluşumunu ve hücre ölümünü azaltabilir [114]. Bilimsel kanıtlar, oksidatif stres ve inflamasyonun obezite/diyabet başlangıcı ile ilişkilerinin araştırılmasının önemini vurgulamakta ve bu faktörlerin mitokondriyal etkileşimlerinin, obezite ve insulin direncinin nedeni veya sonucu olarak farklı dokulardaki araştırılmasının gerekliliğini ortaya koymaktadır [59].

$\text{TNF}$ 'nin etkisi altında endotel aktivasyonunda adezyon molekülü ekspresyonunun ana düzenleyicisi transkripsiyon faktörü nükleer faktör kappa B ( $\text{NF}\kappa\text{B}$ )'dir. 2015 yılında V. P. Romaschenko ve arkadaşları tarafından yayınlanan bir çalışma oksidatif fosforilasyonun uzun süreli "hafif" ayrılmasının endotel hücrelerinin  $\text{NF}\kappa\text{B}$  bağımlı sinyal yolu aktivasyonunu engelleyerek  $\text{TNF}$ 'nin pro-inflamatuar etkisine karşı direncini indüklediğini göstermiştir [115].

### İnterlökin-1 beta ( $\text{IL-1}\beta$ )

İnterlökin-1 ( $\text{IL-1}$ ), önemli bir pro-inflamatuar sitokindir. Bu sitokin, çok çeşitli fizyolojik işlevleri olan, oldukça güçlü bir moleküldür. İlk olarak ateş oluşturan bir protein olarak keşfedilmiş ve 'insan lökosit pirojeni' olarak adlandırılmıştır.  $\text{IL-1}$ , enfeksiyon, travma veya doku hasarı gibi çeşitli tetikleyiciler sonrasında vücutta üretilir. Üretilen  $\text{IL-1}$ , vücudun savunma mekanizmalarını aktive ederek inflammatuar yanıtı başlatır. Bu sitokin, ateş, akut faz yanıtı, lökosit aktivasyonu ve proliferasyonu, endotel hücre aktivasyonu, hipotalamus-hipofiz-adrenal eksen aktivasyonu gibi birçok kritik fizyolojik süreci kontrol eder.  $\text{TNF-}\alpha$ 'nın etkilerine benzer şekilde,  $\text{IL-1}$ , enfeksiyonlara ve diğer uyaranlara karşı konakçının enflamatuar yanıtını düzenlemek için işlev görmektedir.

Orijinal  $\text{IL-1}$  ailesi,  $\text{IL-1}\alpha$  ve  $\text{IL-1}\beta$ 'dan oluşurken, şimdi 11 üyeye kadar genişlemiştir.

*İşlevleri ve etkileri*

Pro-inflamatuar etki; IL-1 $\beta$ , inflammatuar yanıtın başlatılmasında kilit bir rol oynar. Enfeksiyon, yaralanma veya doku hasarı gibi uyaranlar, immün hücreler tarafından algılandığında IL-1 $\beta$  üretimi artar. Bu durum, inflammatuar hücrelerin (nötrofiller, makrofajlar vb.) hasar bölgesine göç etmesini, doku tamiri süreçlerinin başlamasını ve enfeksiyonun kontrol altına alınmasını sağlar.

Hücreyel Yanıtın Düzenlenmesi; IL-1 $\beta$ , bağışıklık hücrelerinin (örneğin T hücreleri, B hücreleri) aktivasyonunu ve fonksiyonlarını düzenleyerek bağışıklık sisteminin etkinliğini artırır.

Pirojenik etki; IL-1 $\beta$ , ateşin (febril yanıtın) oluşmasında rol oynayabilir. Bu nedenle, yüksek seviyelerde IL-1 $\beta$ , ateşin artışına neden olabilir.

Kronik inflamasyon ve hastalıklar; IL-1 $\beta$ 'nin aşırı ve sürekli aktivasyonu, kronik inflamasyon ve bazı inflammatuar hastalıkların patogeneğinde önemli olabilir. Örneğin, romatoid artrit, osteoartrit, inflammatuar barsak hastalıkları gibi durumlar IL-1 $\beta$  ile ilişkilendirilmiştir.

Tedavi hedefi; IL-1 $\beta$  inhibisyonu, inflammatuar hastalıkların tedavisinde kullanılan bir stratejidir. Bu amaçla geliştirilen ilaçlar arasında IL-1 reseptör antagonistleri (örneğin anakinra) ve IL-1 $\beta$  antikorları (örneğin canakinumab) bulunmaktadır.

Ancak, IL-1 $\beta$ 'nin aşırı üretimi veya sürekli aktif olması durumunda, kronik inflamasyon ve bazı inflammatuar hastalıkların patogeneğinde rol oynayabilir. Bu nedenle, IL-1 $\beta$ 'nin dengeli bir şekilde düzenlenmesi bağışıklık sistemi sağlığı için önemlidir.

DNP (2,4-dinitrophenol), mitokondriyal uncoupler olarak işlev görür ve bu, mitokondrilerin elektron taşıma zincirindeki ATP sentezini bozar. Bu durumda, DNP' nin sitokin üretimini azalttığına dair bir etki gösterdiği Lee, J. ve arkadaşları tarafından 2017 yılında yayınlanan bir çalışmada [111] belirtilmiştir. İfade edilen bu çalışmada, hücre içi ATP (iATP)' nin inhibisyonu ile birlikte DNP'nin sitokin üretimini bastırdığı ve bu şekilde inflamasyon süreçlerinde etkili olduğu görülmektedir.

## 2.6. Gastrointestinal Sistem

Gastrointestinal sistem (GİS); ağız boşluğu, farenks, özofagus, mide, ince bağırsak ve kalın bağırsaktan oluşur. Ağızdan alınan besin maddeleri, sindirim sisteminin hareketliliği sayesinde ilerleme kaydeder, salgılarla karıştırılır, hidroliz enzimleri tarafından parçalanır ve absorpsiyon için hazır hale gelir. Gastrointestinal sistem (GIS), sindirimi, besin emilimini ve atık maddelerin atılımını sağlayan önemli bir organdır [116].

Besinlerin sindirilmesi, emilimi ve atılımı, vücudun ihtiyaç duyduğu besin maddeleri, vitaminler ve minerallerin alımına katkıda bulunur. Sindirim sistemi, vücudun beslenmesi için hayati bir rol oynar. Besinlerin çeşitli aşamalardan geçerek kullanılabilir hale gelmesi, vücudun gerekli olan öğeleri etkili bir şekilde elde etmesini sağlar. Aynı zamanda bağışıklık sistemi için gerekli olan mikroorganizmaların barınmasına yardımcı olarak hastalanmamızı önler [10].

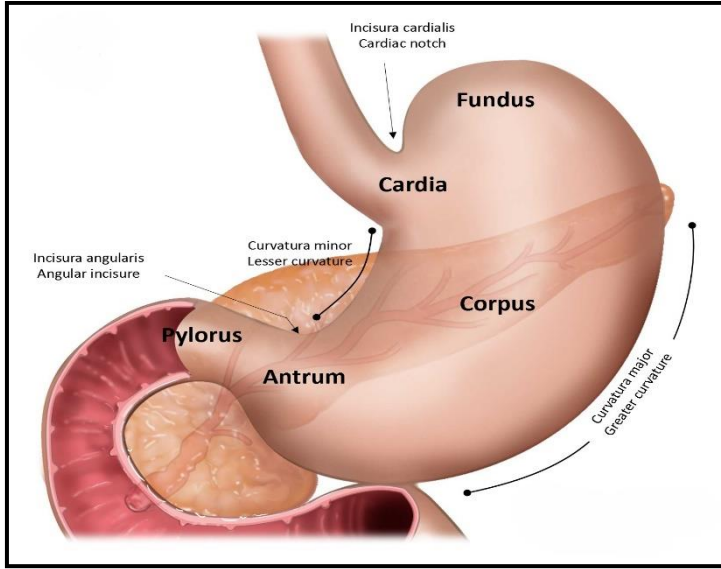
### 2.6.1. Özofagus

Özofagus, farinks ve mide arasında boru şeklinde muskuler bir organdır. Erkeklerde uzunluğunun normal aralığı 19 ile 25 santimetre arasında değişirken, kadınlarda bu aralık biraz daha düşük olup 18 ile 22 santimetre arasında yer almaktadır. [117]. Özofagus peristaltik hareketle gıdaların farinksten mideye geçişini sağlarken aynı zamanda mideden istemsiz geri kaçıışı da önler [118].

### 2.6.2. Mide

Mide gıdaların geçici olarak depolanmasında, asitler ve enzimlerin etkisi ile de mekanik ve kimyasal sindirimde rol alır.

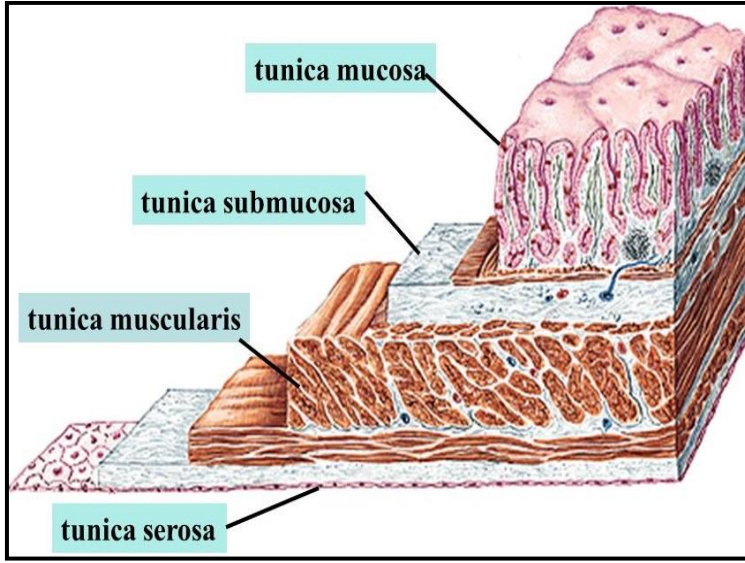
Mide beş parçadan oluşur (Şekil 2.11.). Kardiya, midenin ilk kısmıdır ve gastroözofageal bileşkenin 1-3 cm yakınındadır. Fundus, hareketli ve genişlemeye müsait, midenin en üst kısmıdır ve diafragma ile komşudur. Midenin en büyük bölümü korpustur. Fundus ile korpus arasında belirgin bir sınır yoktur. Huni şeklindeki pilor, mide ile duoedenum arasında bağlantı bölgesidir. Duodenuma bağlandığı bölgede düz kaslardan oluşan pilor sfinkteri bulunur.



Şekil 2.11. Midenin bölümleri [119]

Midede gıdanın kimyasal sindiriminde, büyük ölçüde paryetal hücreler, şef hücreler, G hücreleri, foveolar hücreler ve mukus boyun hücreleri tarafından üretilen salgılar görev alır. Parietal hücrelerden intrinsik faktör ve hidroklorik asit salgılanır. İntrinsik faktör, ileumdan B<sub>12</sub> vitaminin emilimini sağlar. Hidroklorik asit (HCl), midenin potansiyel hidrojenini (pH'ını) 1,5 ila 2,0 arasında tutar. Şef hücrelerinden üretilen pasif pepsinojen enzimi, uygun pH'da HCl tarafından aktif pepsin enzime dönüştürülür. Pepsin protein sindiriminde görev alan temel enzimdir. Foveolar hücreler ve mukus boyun hücreleri, mide epitelini asidik etkisinden koruyan mukus üretir. G hücreleri, midenin pilorik bölümünde bol miktarda bulunur. Parietal ve şef hücrelerden salgıları uyaran gastrin üretirler. Midenin pilor bölümündeki D hücreleri, gastrin salınımını engelleyen somatostatin üretir [117].

Mide duvarı, içten dışa doğru dört ana tabakadan oluşur. En iç tabaka tunica mukoza, mukozal membran olarak da bilinen tabakadır. Bu tabaka, sindirim ve emilim işlevlerini gerçekleştiren epitel hücrelerinden ve altındaki bağ dokudan oluşur. Mukozal tabakayı takip eden tabaka tunica submukoza, yoğun bağ dokusu ve kan damarlarından oluşur (Şekil 2.12.). Tunika mukoza mukus salgılar ve hücreleri asidin etkisinden korur. Tunika submukoza mide duvarındaki en sağlam olan bölümdür. Bu tabakada zengin damar ve lenfatik ağı, ayrıca Meisner (submukoza) plexusunu (SP) oluşturan nöronlar yer alır. Tunika muskularis tabakasında dışta longitudinal, ortada sirküler, içte oblik düz kas lifleri bulunur. Orta tabaka pilor bölgesinde kalınlaşıp pilor sfinkterini meydana getirir. Tunika seroza en dış tabakadır, dışta mezotelyum ile örtülüdür, ince gevşek bağ dokusundan meydana gelir [118].

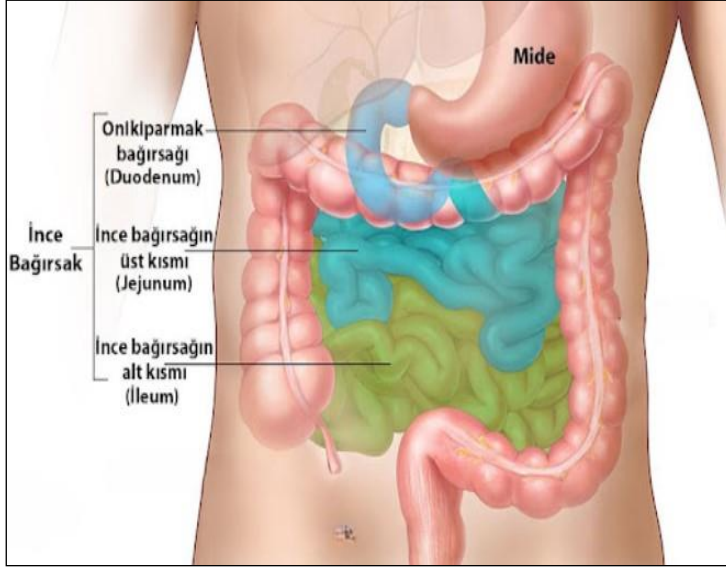


Şekil 2.12. Mide duvarının tabakaları [120]

### 2.6.3. İnce bağırsak

İnce bağırsak, sindirimin gerçekleştiği bir sonraki yerdir. Mide çıkışındaki pilordan başlar, kalın bağırsağın ilk bölümü olan çekuma kadar devam eder. Mideden farklı olarak gıda emiliminin %90'ı ince bağırsakta gerçekleşir. Emilmeyen ve sindirilmeyen gıda maddeleri kalın bağırsağa iletilir [117].

İnce bağırsak üç bölümden oluşmaktadır. Bunlar; duodenum, jejunum ve ileumdur (Şekil 2.13). Duodenum, mide sonrası ince bağırsağın ilk, en kısa ve en geniş kısmıdır. Submukoza tabakasındaki Brunner bezleri, duodenumu ince bağırsağın diğer kısımlarından ayırt etmektedir. İnce bağırsağın duodenumdan sonraki kısmı jejunumdur. Jejunumun submukoza tabakasında bez bulunmamaktadır. İleum, ince bağırsağın son kısmıdır. İleumun en belirgin özelliği Peyer plakları (lenfatik nodülleri) içermesidir [121].



Şekil 2.13. İnce bağırsakın bölümleri [122]

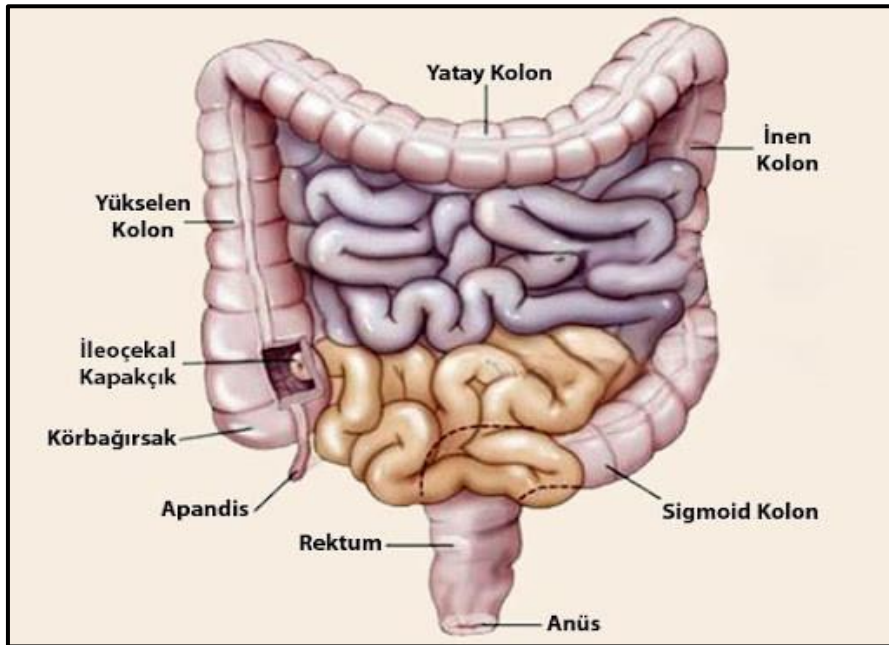
Duodenum, mide ile ince bağırsak (jejunum) arasında bulunan, yaklaşık 25 cm uzunluğundaki ilk ince bağırsak segmentidir. Duodenum duvarı, içten dışa doğru dört temel tabakadan oluşur. En içteki tabaka tunika mukoza, epitel hücreleri, lamina propria ve lamina müskülaris katmanlarından meydana gelir. Epitel tabakası, besin emilimi, sekresyon ve koruma işlevlerini yerine getirir. Lamina propria, bağ doku, damar ve sinir yapılarını içerir. Lamina müskülaris ise duodenal kasılmaları sağlayan düz kas liflerinden oluşur. Bağırsak duvarında, epitel tabakası ve bağ dokusu tabakası tarafından oluşturulan, lümene doğru uzanan parmak benzeri çıkıntılar bulunmaktadır. İnce bağırsak lümenini döşeyen epitel hücrelerin apikalinde ise çok sayıda mikrovilluslar mevcuttur. Bu yapılar, ince bağırsakın yüzey alanını önemli ölçüde genişletmektedir. Bu, yoğun bir emilim sürecinin gerçekleştiği bir organda önemli bir özelliktir. Tunika submukoza, mukozanın altındaki gevşek bağ dokusu yapısına sahip katmandır. Bağırsakların ilk kısmı olan onikiparmak bağırsığında, diğer bölümlere kıyasla Brunner bezleri bulunmaktadır. Brunner bezlerinin temel görevi, mide asidini nötralize eden ve pankreas enzimlerinin çalışmasına uygun bir pH ortamı sağlayan şeffaf, yapışkan, alkali mukus ve bikarbonat iyonları salgılamaktır. Tunika muskularis, besinlerin ileriye doğru taşınmasından sorumlu olan kas tabakasıdır. Genellikle iki kat halindedir ve bu iki kas tabakaları arasında myenterik (auerbach) pleksus (MP) bulunur. Tunika seroza bağ dokudan oluşur [123].

Jejunum ve ileum arasında kesin bir sınırdan söz edilememekle birlikte ince bağırsakların yaklaşık beşte ikilik kısmını jejunum, beşte üçlük kısmını ileum oluşturmaktadır. Karın

içinin sol üst köşesini jejunum, sağ alt köşesini ise ileum doldurmaktadır [124]. Jejunum ileumdan daha geniş ve kalındır [125].

#### 2.6.4. Kalın bağırsak

Kalın bağırsak, vücudumuzun en son kısmını oluşturan ve ileumun (ince bağırsağın son kısmı) sonundan anüse (dışkı çıkış deliği) kadar uzanan lümenal (boşluklu) bir organdır. Ortalama 150 cm uzunluğundadır ve vücudumuzun atık maddelerinin depolandığı ve dışarı atıldığı son evre olarak görev yapar. Kalın bağırsak; çekum (kör bağırsak), kolon ve rektum olarak adlandırılan bölümlerden oluşmaktadır (Şekil 2.14.).



Şekil 2.14. Kalın bağırsağın bölümleri [126]

Kalın bağırsağın ilk bölümü olan çekum ile ileum arasında bir kapak bulunmaktadır. Bu kapak, ileumdan gelen içeriğin çekuma hızlı bir şekilde geçmesini önler ve çekuma geçen içeriğin geri ileuma dönmesini engellemektedir. Kalın bağırsağın arka iç duvarından, ileoçekal kapaktan yaklaşık 2-3 cm aşağıda, ortalama 9 cm (2-25 cm) uzunluğunda ince uzun bir tüp veya solucan şeklindeki yapı ‘apendiks vermiformis’ olarak adlandırılmaktadır [127].

Kolon, yukarı yönlü, enine, aşağı yönlü ve S-şekilli olmak üzere dört ana bölümden oluşmaktadır [125].

Rektum, sigmoid kolonun devamı olarak yaklaşık 12–15 cm uzunluğunda bir bağırsak segmentidir. Rektum aşağı ve arkaya doğru seyrettikten sonra pelvik diyaframı delerek anal kanala dönüşür. [128]. Eksternal sfinkter ise çizgili kaslardan oluştuğu için istemli çalışır [125]. Dışkının rektuma geçişi defakasyon (dışkılama) isteğini oluşturur [127].

#### **2.6.5. Gastrointestinal sistem ve oksidatif stres ilişkisi**

GİS doğal olarak bulunan mikrobiyal organizmalardan oluşmaktadır. İnsan vücudunda mikrobiyal organizmalar en çok kalın ve ince bağırsakta bulunmaktadır. Bu mikrobiyal organizmaların tümüne ise ‘bağırsak mikrobiyotası’ denmektedir. Bağırsak mikrobiyotası jejunum ve duodenumda besinlerin emiliminin gerçekleşmesine yardımcı olmaktadır. Bağırsak mikrobiyotası, çok fazla sayıda bakteri ve sinir hücresi içermektedir. Bu sebeple “ikinci beyin” olarak tanımlanmakta ve kronik hastalıklarla ilişkisi olduğu bilinmektedir [129].

Gastrointestinal mikrobiyomun, mikrobiyata-bağırsak-beyin eksenini aracılığıyla konakçı davranışını ve nöro gelişimini etkilediği yönündeki kanıtlar giderek artmaktadır. Günümüzde yapılan çalışmalar doğrultusunda nöral, hormonal ve immünolojik yollarla çalışan bağırsak-beyin ekseninin çift yönlü ilişkisine olan ilgi giderek artmaktadır. Çift yönlü bu ağ sistemi içinde, beyinden gelen sinyaller gastrointestinal sistemin motor, duyu ve salgı fonksiyonlarını etkileyebiliyorken, aynı şekilde bağırsağın da beyin fonksiyonlarını, özellikle de hipotalamus gibi stres düzenleme alanlarını etkileyebileceği düşünülmektedir. Ayrıca merkezi sinir sistemi ile bağırsak arasındaki bağlantı kesildikten sonra bile bağırsağın kendisi, bağımsız olarak çalışabilen yoğun bir sinir ağına sahiptir [130] ki buna enterik sinir sistemi denir. Gastrointestinal sistemin içindeki bağırsak yönetiminden sorumlu nöronlardan oluşmaktadır. Bu sinir sisteminde, iki ana plexus (MP) olan myenterik (Auerbach) plexus ve submukozal (Meissner) plexus tarafından oluşturulan sinir dalları ile ilişkili sinir hücre gövdeleri bulunmaktadır. Bağırsak duvarındaki sinir hücreleri, sindirim sisteminin hareketlerini, mukoza salgı hücrelerinin faaliyetlerini, sindirim sistemindeki endokrin hücrelerin işlevlerini, mukoza kanlanması ve bağırsak mukozasındaki bağışıklık, alerjik ve enflamatuvar yanıtları düzenler [131].

Bağırsak epitel hücreleri, kök hücrelerden (stem hücreler) ve diferansiye olmuş bağışıklık hücrelerinden (B hücreleri, T hücreleri, makrofajlar) oluşur ve emici hücreler (enterositler)

ile salgılayıcı hücreleri (Paneth hücreleri, mukoza hücreleri ve enteroendokrin hücreler) içerir. Bu hücreler, bağırsak bariyerinin kritik bileşenleridir [19]. Bağırsak bariyer bütünlüğü, anti- ve pro-inflamatuar sitokinler arasındaki dengesizlikten etkilenebilir [132]. Bağırsak epitel hücrelerinin sürekli çoğalması ve diferansiyasyonu, yeni diferansiye olan hücreler villusların üstüne göç eder ve nihayetinde bağırsak yolunun normal yenilenmesini sağlar. Oksidatif stres koşullarında, glutatyon ve glutatyon disülfid redoks durumu bağırsak epitel hücrelerinin büyüme döngüsünü etkiler. Anormal proliferasyon, büyüme duraklaması, diferansiyasyon ve apoptoz, bağırsak hücrelerine zarar verebilir ve bağırsak bariyerinin hasar görmesine yol açabilir, bu da ciddi inflamatuvar bağırsak hastalıkları (İBH) ve kolon kanseri ile ilişkilidir [19]. İnflamatuar bağırsak hastalığı (İBH)'nın ortak bir özelliği, azalmış epitelyal bariyer fonksiyonudur [10]. İBH' ler, hem crohn hastalığı hem de ülseratif koliti içeren bağırsakların kronik inflamasyonudur [133]. İBH olanlarda artmış ROT ve azalmış antioksidan düzeyleri görülmüştür [134]. İBH olan kişilerin bazılarında bozulmuş mitokondriyal yapı, mitokondriyal protein kaybı, düşük ATP seviyeleri ve oksidatif fosforilasyonun UCP' lerine karşı artmış duyarlılık görülmüştür [10].

Bağırsak mikrobiyotasının rolü, zaman içerisinde özellikle bazı inflamatuvar hastalıklar üzerindeki etkisi açısından incelenmiştir. Bilinen birçok metabolik yolağın bağırsak mikrobiyotası tarafından düzenlendiği görülmüştür. Bir araştırmada, bağırsak mikrobiyotasının epilepside antikonvülzan etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Mikrobiyotadaki değişimin, kan plazmasındaki gama-glutamil amino asit seviyesini azalttığı ve beyindeki gama-aminobütirik asit (GABA)/glutamat seviyesini artırdığı sonucuna varılmıştır [135].

Gastrointestinal sistem, normal fizyolojinin bir parçası olarak mukozanın içinde birçok hücre tipi tarafından reaktif oksijen türleri (ROT) üretir [19] ancak bağırsak mukozası aynı zamanda patolojik koşullara yol açabilen çeşitli oksidanların da hedefidir [35]. Gastrointestinal sistemdeki ROT' un başlıca kaynakları arasında NADPH oksidaz (NOX) ve dual oksidaz (DUOX) kompleksleri bulunmaktadır [42]. Bu enzimler, bağırsakta farklı bölgelerde bulunur ve özellikle NOX1 ile DUOX kompleksleri epitelyumda bulunurken; NOX2 profesyonel fagositler tarafından ifade edilir. NOX4 ise epitelyum, fibroblastlar ve düz kas hücrelerinde bulunur ve transformer büyüme faktörü  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) ve hipoksi gibi uyarıcılarla indüklenir. Bağırsakta diğer ROT kaynakları arasında mitokondriler bulunur; özellikle elektron taşıma zinciri ve nitrik oksit sentaz (NOS) lar. Mitokondrilerin, bağırsak

bariyerinin korunması, mukozal bağışıklık yanıtı ve öbiyotik bağırsak mikrobiyotasının sürdürülmesi gibi bağırsak fonksiyonlarının modülasyonunda önemli bir rolü vardır [134].

Mide, sindirim sisteminin hassas bir organıdır ve diyetten gelen dış patojenlere duyarlıdır. Bu patojenlere karşı mide, oksidatif stresi indükler; bu durum, gastrit, mide ülseri ve mide kanseri gibi organik bozuklukların yanı sıra fonksiyonel dispepsi gibi fonksiyonel bozuklukların gelişiminde rol oynayabilir. Özellikle, *Helicobacter pylori* (H. Pylori) bakterisi, midede oksidatif stresin ortaya çıkmasında önemli bir rol oynar ve nötrofiller ve makrofajlar aracılığıyla bir dizi ROT (reaktif oksijen türü) ve RNT (reaktif nitrojen türü) oluşturur [136]. H. pylori enfekte bireylerde lipit peroksidasyonu artar, hücrel GSH düzeyleri azalır ve gastrik epitelde GSH metabolizmasını bozar [133]. Ayrıca enfekte mide tarafından üretilen ROS, apoptozun intrinsik yolunu aktive ederek; pro-apoptotik faktörler Bax ve Bid'in indüklenmiş ekspresyonu ile anti-apoptotik faktör bcl-2' nin azalmış ekspresyonuna sebep olur [133].

İnsanlarda ve hayvan modellerinde akut ve kronik gastrointestinal bozukluklar, artmış ROS üretimi veya azalmış antioksidan mekanizmaları ile karakterizedir, her ikisi de redoks homeostazını bozar [137]. Sonuç olarak oksidatif stres; çeşitli gastrointestinal (GI) bozukluklarının patofizyolojisinde yer almaktadır. Bu durumlar arasında kronik enfeksiyonlar, inflamatuvar hastalıklar, maligniteler, diyabetes mellitus, iskemi-reperfüzyon yaralanması, kronik alkol tüketiminden kaynaklanan GI toksisiteler, radyoterapi ve steroid olmayan anti-inflamatuvar ve kemoterapötik ajanlar bulunmaktadır [138].

### 3. MATERYAL METOD

#### 3.1. Deney Protokolü

Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan çalışma için izin alındı ve doku örneklerini toplamak olmak üzere bütünü Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde (GÜDAM) gerçekleştirilmiştir. Deneyde, GÜDAM tarafından sağlanan 250-300 gram aralığındaki, 60 (30 erkek, 30 dişi) yetişkin Wistar albino rat kullanılmıştır. Deneyden öncesinde sonrasında hayvanlara sınırsız yem verildi ve hayvanlar  $20\pm2^{\circ}\text{C}$  sıcaklıkta, gün ışığı döngüsüne paralel aydınlatılan bir ortamda tutulmuştur. 2,4 dinitrofenol, erkek ve dişi ratların mide, onikiparmak bağırsağı ve ileum dokularındaki oksidatif stres ve antioksidan durumunu karşılaştırmak için düşük doz şeklinde bildirilen grup ve yüksek doz şeklinde bildirilen dozlarda 7 ve 21 günlük sürelerde oral gavaj aracılığıyla uygulanmıştır. Ratlar 10 gruba ayrıldı. Hayvan deneyleri GÜDAM'da, diğer deneyler ise Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Fizyoloji-Biyokimya araştırma laboratuvarında gerçekleştirildi.

#### 3.2. 2,4-Dinitrofenol Uygulamasına Yönelik Hayvan Modelinin Dizaynı

Çalışmada kullanılan 60 adet Wistar albino (30 erkek, 30 dişi) rat (250–300 gr) 10 farklı grup olmak üzere ayrıldı. Bahsi geçen 10 grup aşağıdaAki Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Gruplara ilişkin bilgiler

| Grup                                                  | n |
|-------------------------------------------------------|---|
| 1-Kontrol grubu dişi                                  | 6 |
| 2-Kontrol grubu erkek                                 | 6 |
| 3-Günlük 3 mg/kg doz DNP verilen dişi grup (7 gün)    | 6 |
| 4-Günlük 3 mg/kg doz DNP verilen dişi grup (21 gün)   | 6 |
| 5-Günlük 3 mg/kg doz DNP verilen erkek grup (7 gün)   | 6 |
| 6-Günlük 3 mg/kg doz DNP verilen erkek grup (21 gün)  | 6 |
| 7-Günlük 6 mg/kg doz DNP verilen dişi grup (7 gün)    | 6 |
| 8-Günlük 6 mg/kg doz DNP verilen dişi grup (21 gün)   | 6 |
| 9-Günlük 6 mg/kg doz DNP verilen erkek grup (7 gün)   | 6 |
| 10-Günlük 6 mg/kg doz DNP verilen erkek grup (21 gün) | 6 |

Düzenlemeler yapıldı ve her grupta 6 rat olacak şekilde ayarlandı. Çevre sıcaklığı  $20\pm 2$  derece, nem oranı ise %40-60 olarak ayarlandı. Çalışmamız sırasında gerçekleştirilen tüm uygulamalar, üniversitemizin etik yönergeleri doğrultusunda gerçekleştirildi. Hayvanlar, deney öncesinde ve sırasında ad libitum olarak beslendi.

2,4 dinitrofenol kullanılan çalışmada, grupların ağırlık özelliklerini dikkate alarak, 3 mg ve 6 mg/kg dozda hazırlandı. 2,4 dinitrofenol  $108-113^{\circ}\text{C}$  arasında kaynatılarak distile suda çözülmüştür. DNP, taze olarak hazırlanarak kontrol grubu hariç 8 gruba oral gavaj yoldan verildi.

### **3.3. 2,4-Dinitrofenol Uygulaması**

Çalışmada, 2,4-dinitrofenol uygulaması, kontrol grupları dışındaki diğer rat grupları için 7 ve 21 günlük dönemler olmak üzere 2 aşamada gerçekleştirilmiştir. DNP (D198501-1 kg, Sigma Aldrich) her gün damıtılmış su içinde çözünerek hazırlandı ve her rata 3 ml damıtılmış su verilmiştir. Mide içine doğrudan verilen yöntemle madde aktarımı gerçekleştirilmiştir.

Deney hayvanlarının ağırlıkları standart bir terazi kullanılarak ölçüldü. Kas içi yolla Alfamine 50 mg/kg ve Alfazyne 5 mg/kg enjekte edilmiştir ve genel anestezi sağlanmıştır. Kurban edilen hayvanların mide, oniki parmak bağırsağı ve ileum dokularındaki MDA (Malondialdehit), GSH (Glutatyon), protein karbonilleri (PC), nitrik oksit ( $\text{NO}_x$ ) ve askorbik asit (AA) seviyeleri ile serumlarındaki IL- $1\beta$  ve TNF- $\alpha$  seviyeleri spektrofotometrik olarak değerlendirilmiştir.

### **3.4. Deneyin Yöntemi**

#### **3.4.1. Dokuda malondialdehit (MDA) tayini**

Malondialdehyde (MDA), bir biyobelirteç olarak kullanılan ve poliansatüre yağ asitlerinin peroksidasyon reaksiyonları sonucunda oluşan bir maddedir. MDA, oksidatif stresin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir, çünkü lipid peroksidasyonunun bir ürünüdür. Lipid peroksidasyonu sonucunda ortaya çıkan MDA, hücre ve doku hasarının bir belirteci olarak kullanılmaktadır. Mide, duodenum ve ileum dokularında MDA düzeylerinin belirlenmesinde Buege ve Aust'un yöntemi modifiye edilerek kullanıldı [139]. Doku örnekleri tartıldı. Homojenizatör ile 150 mM potasyum klorür (KCl) (1:9) ile homojenize

edilmiştir. Elde edilen homojenat, numunelerindeki proteini çöktürmek (deproteinize) için soğuk %15 trikloroasetik asit (TCA) ile karıştırıldı. Homojenat yeniden santrifüj edilerek oluşan süpernatant alındı. Süpernatant üzerine %0,67 tiyobarbitürik asit (TBA) ve %1 bütül hidroksi tolüen (BHT) (%95 Ethanol) eklenerek benmari usulü 10 dk. kaynar su banyosunda reaksiyona sokuldu. Soğutma işlemi yapılarak, absorbans 535 nm’ de spektrofotometrik olarak köre karşı ölçüldü. Elde edilen verilerde doku MDA konsantrasyonu nmol/g doku olarak hesaplanmıştır.

### **3.4.2. Dokuda glutatyon (GSH) tayini**

Doku örneklerindeki GSH seviyelerini ölçmek için modifiye Ellman yöntemi kullanılmıştır [140]. Doku örnekleri tartılarak 150 mM KCl (1:9) içerisinde homojenizatör ile homojenize edilmiştir. Deproteinizasyon işlemi için, homojenat reaktif karışımı (meta-fosforik asit / etilendiamintetraasetik asit / sodyum klorid) ile reaksiyona sokuldu. Santrifüj işlemi gerçekleştirildikten sonra 0,5 ml süpernatant alınarak 2 mL 0.3 M disodyum hidrojen fosfat ve 0.2 mL solüsyon dithiobisnitrobenzoate (0,4 mg/mL %1 sodyum sitrat) ilave edilmiştir ve oda sıcaklığında 10 dk. inkübe edilmiştir. Sonra absorbans 412 nm’de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Mide, duodenum ve ileum dokularındaki GSH konsantrasyonu  $\mu\text{mol/g}$  doku olarak hesaplanmıştır.

### **3.4.3. Dokuda nitrik oksit (NOx) tayini**

Dokulardaki NOx seviyelerinin belirlenmesi için Griess yöntemi kullanılmış [141]. Öncelikle doku örnekleri 1:9 oranında 0.1 M’lık sodyum fosfat tamponu (pH:7) ile homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenat, 3500 rpm’de 15 dk. santrifüj edilmiş ve süpernatant kısım ayrılmıştır. Daha sonra süpernatanta eşit miktarda VCl3 eklenmiş ve 37 °C’de 30 dk. inkübe edilmiştir. Bu sayede ortamdaki nitrat, nitrite indirgenmiştir. İnkübasyon sonrası, örneklerle eşit miktarda Griess I+II reaktifleri ve sodyum fosfat tamponu ilave edilmiştir. 37 °C’ de 10 dk. inkübasyondan sonra numunelerin absorbansları 540 nm’ de spektrofotometrede ölçüldü. Elde edilen verilerde mide, duodenum ve ileum dokularındaki NOx konsantrasyonu  $\mu\text{mol/L}$  olarak hesaplanmıştır.

#### 3.4.4. Dokuda askorbik asit (AA) tayini

Roe ve Kuether'in yöntemi, Berger tarafından değiştirilerek kullanılmış ve doku örneklerindeki AA seviyelerini belirlemek için kullanıldı [142]. Yara dokusu örnekleri, bir homojenizatör kullanılarak PCA/EDTA karışımında homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenat, 4°C'de 15000 g'de 3 dk. boyunca santrifüj edilmiştir. Standart AA çözeltisi ilk tüpe, görme engelliler için PCA çözeltisi ikinci tüpe ve süpernatant numune hazırlanacak tüplere yerleştirildi. Her tüpe renk reaktifi eklendi, karıştırıldı ve 37°C'de 3 saat inkübe edilmiştir. Örneklerin sıcaklığı 0°C'ye getirildi ve her tüpe H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> eklendi, ardından oda sıcaklığında 45 dk. bekletildi. Örneklerin absorbanı, kör çözeltiliye karşı 515 nm dalga boyunda bir spektrofotometre kullanılarak ölçüldü. Mide, duodenum ve ileum dokularındaki AA konsantrasyonu doku başına miligram cinsinden hesaplanmıştır.

#### 3.4.5. Dokuda protein karbonil (PC) tayini

Protein karbonilleşme seviyesi, Reznick ve Packer'in [143] yöntemi kullanılarak incelendi. Dokular, 1.17% KCl içeren 0.1M fosfat tamponu, pH 7.4 ile 1/10 oranında homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenatlar, +4 oC'de 10 bin rpm'de 30 dk. boyunca santrifüj edilmiştir. İki deney tüpü kullanıldı. Bunlardan biri 2,4 dinitrofenilhidrazin (DNPH) içeren, diğeri DNPH içermeyendi. Her iki tüpe de 0.5 ml homojenat eklendi. Sonrasında DNPH içeren tüpe 2 ml DNPH, DNPH içermeyen tüpe ise 2 ml HCl ilave edilmiştir. Bu işlemler, PC içeriğini belirlemek için gerçekleştirildi. Tüpler her 15 dk. bir vortekslendi ve 1 saat boyunca oda sıcaklığında tutuldu. Her iki tüpe de 2,5 ml %20'lik TCA eklendi, tüpler 12 bin rpm'de 5 dk. santrifüj edilmiştir, üst sıvı atılmış ve çöken kısım kullanılmaya devam edilmiştir. İki tüpe 2 ml %10'luk TCA eklendi, tüpler 12.000 rpm'de 5 dk. santrifüj edilmiştir, süpernatant atılmış ve çöken kısım kullanıldı. Ardından tüplere 2 ml etanol/etil asetat eklendi, 12.000 rpm'de 5 dk. santrifüj edilmiştir, süpernatant atılmış ve çöken kısım kullanıldı. Bu işlem 3 kez tekrarlandı. Son olarak, 2 tüpe 1 ml guanidin HCl eklendi, 10 dk. vortekslendikten sonra çözünmesi için bir süre bekletildi. Örneklerin 370 nm ve 280 nm'deki guanidin HCl karşısındaki absorban değerleri kaydedilmiştir.

#### 3.4.6. Serumda IL-1 $\beta$ ve TNF - $\alpha$ tayini

Serum IL- 1 $\beta$  ve TNF-  $\alpha$  düzeyleri ELISA yöntemi ile ticari kit kullanılarak tayin edilmiştir.

### 3.5. İstatistiksel Analizlerin Değerlendirilmesi

Elde edilen tüm verinin istatistiksel analizi ve grafiklerin oluşturulması, GraphPad Prism sürüm 8.4.2 kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, ortalama değer  $\pm$  standart sapma ( $\pm$ SD) olarak sunulmuştur. Gruplar arasındaki karşılaştırma ve deneylerin günler arası tekrarlarının karşılaştırılması tek yönlü ANOVA ve ardından Post-Hoc Tukey testi ile gerçekleştirilmiştir.  $p \leq 0,05$  değerleri anlamlı kabul edilmiştir.



## 4. BULGULAR

Çalışmamızda, 250-300 g arası ağırlığa sahip erkek ve dişi ratlara oral gavaj yöntemiyle 2,4-dinitrofenol verilmiştir. Mide, onikiparmak bağırsağı ve ileum dokularındaki oksidatif stres, MDA, GSH, NOx, PC ve AA değerleriyle; serumdaki IL-1beta ve TNF-alfa değerleriyle belirlenmiştir.

Gruplar mide, duodenum ve ileum dokularında doz, gün ve cinsiyet bazında karşılaştırılmıştır.

### 4.1. Mide Dokusu MDA, GSH ve NOx Düzeyleri

Çizelge 4.1. 2,4-DNP uygulamasının mide dokusundaki MDA, GSH ve NOx düzeylerine etkisi

| ZAMAN | GRUPLAR | CİNSİYET | MDA (nmol/g)                | GSH (μmol/g) | NOx (μmol/L)                       |
|-------|---------|----------|-----------------------------|--------------|------------------------------------|
| 0     | KONTROL | Dişi     | 11,38± 2,19                 | 2,17± 0,56   | 62,43± 5,23                        |
|       |         | Erkek    | 23,56± 3,81**               | 1,67± 1,21   | 69,17± 5,34                        |
| 7     | 3       | Dişi     | 17,00± 3,24                 | 2,65± 0,57   | 34,03± 3,53*                       |
|       |         | Erkek    | 25,47± 4,97                 | 2,98± 0,89   | 64± 4,69**                         |
|       | 6       | Dişi     | 78,34± 4,81*,b              | 3,69± 1,12   | 82,47± 6,02*,b                     |
|       |         | Erkek    | 55,27± 6,94**,b             | 2,21± 0,82   | 58,85± 5,72*,**                    |
| 21    | 3       | Dişi     | 15,48± 2,09                 | 2,81± 0,54   | 85,52± 2,48*,a                     |
|       |         | Erkek    | 29,24± 3,37**               | 2,68± 0,76   | 77,02± 7,52 <sup>a</sup>           |
|       | 6       | Dişi     | 17,42± 2,06*,a              | 3,36± 0,78   | 55,37± 5,42 <sup>a, b</sup>        |
|       |         | Erkek    | 19,93± 3,08 <sup>a, b</sup> | 3,14± 1,20   | 24,44± 3,56 <sup>*, **, a, b</sup> |

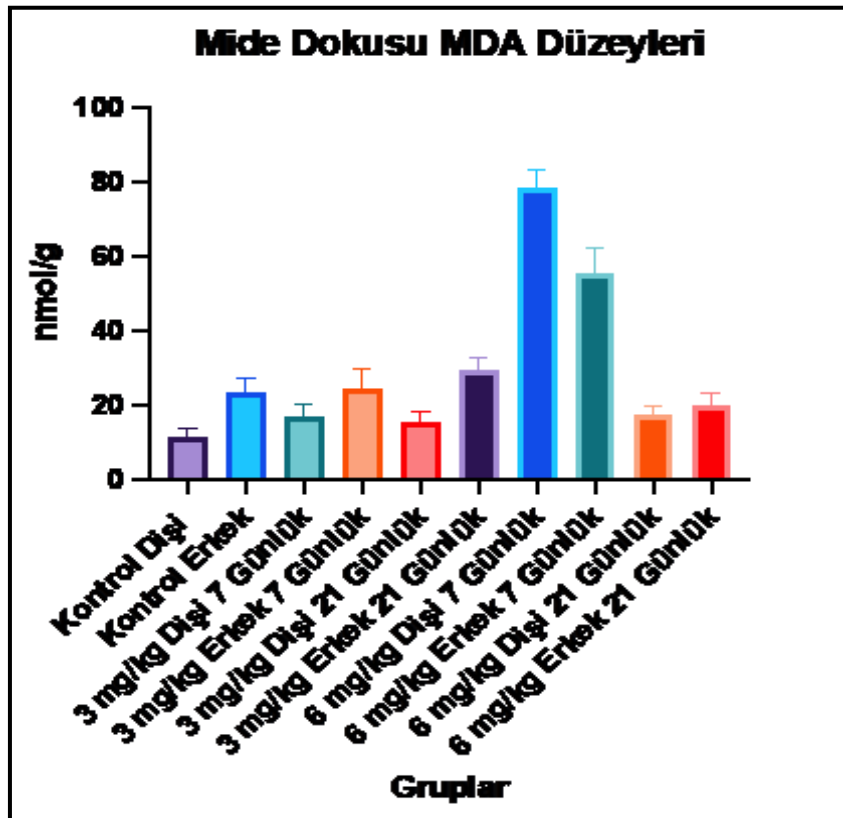
\* Aynı cinsiyet kontrolüyle karşılaştırıldığında (p<0,05)

\*\* Aynı koşullarda (aynı doz ve sürede) diğer cinsiyetlerle karşılaştırıldığında (p<0,05)

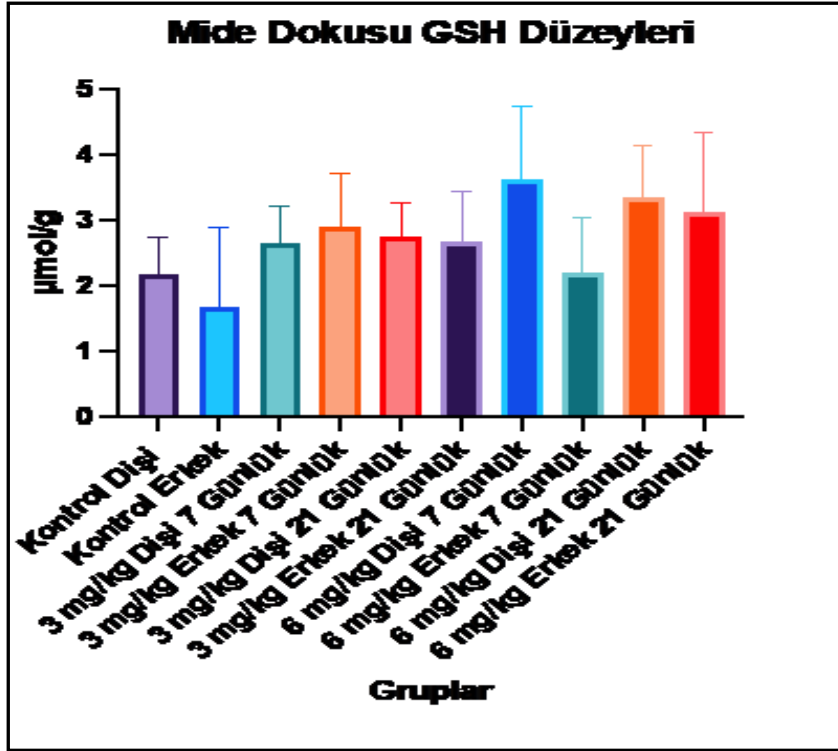
a Aynı koşullardaki diğer zamanla karşılaştırıldığında (aynı doz ve cinsiyet) ( p <0,05)

b Aynı koşullardaki (aynı cinsiyet ve zaman) diğer dozla karşılaştırıldığında ( p<0,05).

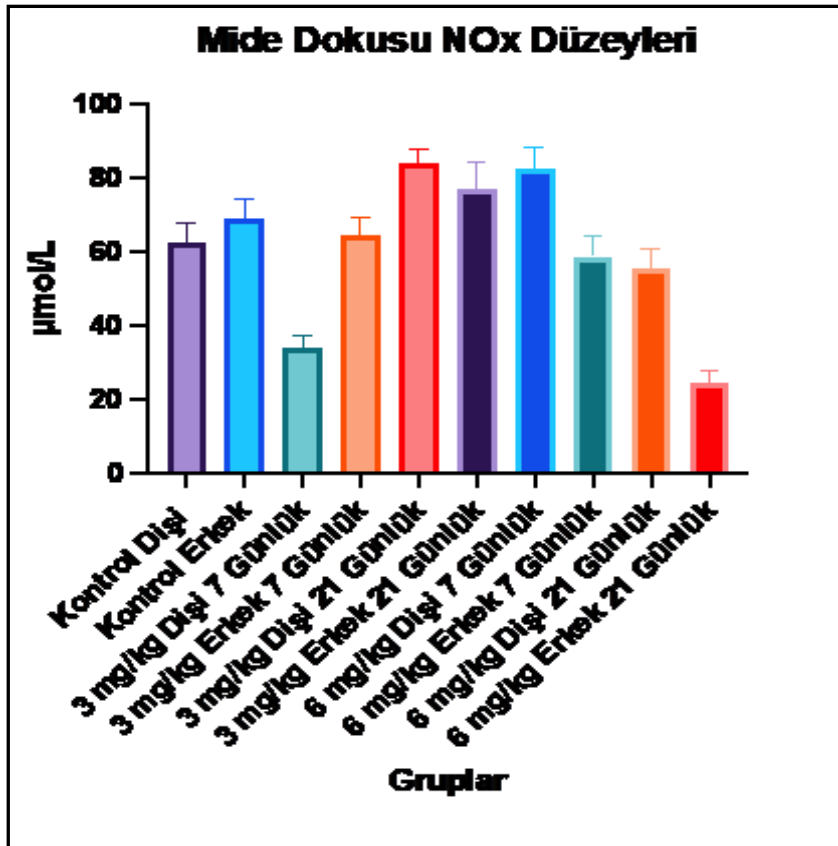
Mide dokusu MDA düzeylerinde, kontrol grupları ile kıyaslama yapıldığında dişi ve erkek kontrol grubu aralarında istatistiki olacak şekilde anlamlı olabilecek farklılaşma gözlemlenmiştir ( $p<0,05$ ). 7 günlük yüksek doz şeklinde bildirilen 6 mg/kg grupları hariç, aynı cinsiyetteki tüm gruplarla karşılaştırıldığında kadın ve erkek kontrol grubu aralarında istatistiki olacak şekilde anlamlı olabilecek farklılaşma gözlemlenmemiştir ( $p>0,05$ ). GSH düzeylerinde uygulama grupları ve kontrol grubu aralarında istatistiki olacak şekilde anlamlı olabilecek farklılaşma gözlemlenmemiştir ( $p>0,05$ ). Dişi gruplarında NOx düzeyi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, 7. gün yüksek doz şeklinde bildirilen 6 mg/kg ve 21. günde düşük doz şeklinde bildirilen 3 mg/kg grubu NOx seviyelerinde anlamlı şekilde ifade edilebilecek artış gözlemlenmiştir ( $p<0,05$ ). Erkek gruplarında NOx düzeyleri karşılaştırıldığında, 21 Günlük yüksek doz şeklinde bildirilen 6 mg/kg grup NOx seviyelerinde anlamlı şekilde ifade edilebilecek bir azalma tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ) (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1., Şekil 4.2., Şekil 4.3.).



Şekil 4.1. Mide dokusu MDA düzeyleri



Şekil 4.2. Mide dokusu GSH düzeyleri



Şekil 4.3. Mide dokusu NOx düzeyleri

#### 4.1.1. Mide dokusu doz farklılıkları

7 günlük dişi gruplarda düşük doz şeklinde bildirilen 3 mg/kg gruplarına kıyasla yüksek doz şeklinde bildirilen 6 mg/kg gruplarında MDA ve NOx düzeyi daha yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). 7 günlük erkek gruplarında yüksek doz şeklinde bildirilen 6 mg/kg grupların MDA düzeyleri düşük doz şeklinde bildirilen 3 mg/kg gruplarına göre istatistiki bakımdan anlam ifade eden ve yüksektir ( $p<0,05$ ). 21 günlük dişi grupların NOx düzeyleri karşılaştırıldığında, yüksek doz şeklinde bildirilen 6 mg/kg grupların istatistiki bakımdan anlam ifade eden ve yüksek gerçekleştiği gözlemlenmiştir ( $p<0,05$ ). 21 günlük erkek gruplarında MDA ve NOx düzeyleri, yüksek doz şeklinde bildirilen 6 mg/kg gruplarına kıyasla düşük doz şeklinde bildirilen 3 mg/kg gruplarında istatistiki bakımdan anlam ifade eden olmasının yanında yüksekti ( $p<0,05$ ) (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1., Şekil 4.2., Şekil 4.3.).

#### 4.1.2. Mide dokusu gün farklılıkları

Düşük doz şeklinde bildirilen 3 mg/kg dişi gruplarında MDA düzeylerinde gün bazında anlamlı farklılık bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ). Düşük doz şeklinde bildirilen 3 mg/kg dişi gruplarında NOx düzeyleri 21 günlük gruplarda anlamlı olarak artmış bulunmuştur ( $p<0,05$ ). 7 günlük yüksek doz şeklinde bildirilen 6 mg/kg dişi gruplarının MDA ve NOx düzeyleri 21 günlük gruba kıyasla anlamlı derece yüksekti ( $p<0,05$ ). Düşük doz şeklinde bildirilen 3 mg/kg ve yüksek doz şeklinde bildirilen 6 mg/kg dişi gruplarının GSH değerlerinde anlamlı farklılık bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ). Düşük doz şeklinde bildirilen 3 mg/kg erkek grupları arasında gün bazında MDA ve GSH seviyelerinde anlamlı şekilde ifade edilebilecek farklılık bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ). Düşük doz 21 günlük erkek grubunun NOx düzeyleri 7 günlük düşük doz erkek grubuna kıyasla anlamlı olarak arttığı tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). Yüksek doz şeklinde bildirilen 6 mg/kg erkek gruplarında MDA ve NOx düzeyleri 21 günlük erkek gruplarında anlamlı olarak düşmüştür ( $p<0,05$ ). (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1., Şekil 4.2., Şekil 4.3.).

#### 4.1.3. Mide dokusu cinsiyet farklılıkları

Düşük doz şeklinde bildirilen 3 mg/kg gruplarında GSH seviyelerinde anlamlı şekilde ifade edilebilecek farklılık bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ). 7 günlük düşük doz şeklinde bildirilen 3 mg/kg dişi ve erkek grupları karşılaştırıldığında erkek gruplarda NOx düzeylerinin istatistiki

bakımdan anlam ifade eden ve yüksektir ( $p<0,05$ ). 21 günlük düşük doz şeklinde bildirilen 3 mg/kg grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında erkek grupların MDA düzeyleri dişi gruplarına kıyasla istatistiki bakımdan anlam ifade eden ve yüksek gerçekleşmiştir ( $p<0,05$ ). Yüksek doz şeklinde bildirilen 6 mg/kg 7 günlük gruplarda erkek gruplarıyla dişi gruplar karşılaştırıldığında dişi gruplarda MDA ve NOx düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). 21 günlük yüksek doz şeklinde bildirilen 6 mg/kg dişi grupların erkek gruplarına kıyasla NOx düzeyleri istatistiki bakımdan anlam ifade eden ve yükselmiştir ( $p<0,05$ ) (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1., Şekil 4.2., Şekil 4.3.).

#### 4.2. Duodenum Dokusu MDA, GSH ve NOx Düzeyleri

Çizelge 4.2. 2,4-DNP uygulamasının duodenum dokusundaki MDA, GSH, NOx düzeylerine etkisi

| Zaman | Gruplar | CİNSİYET | MDA (nmol/g)                       | GSH ( $\mu$ mol/g)              | NOx ( $\mu$ mol/L)                  |
|-------|---------|----------|------------------------------------|---------------------------------|-------------------------------------|
| 0     | Kontrol | Dişi     | 17,40 $\pm$ 2,26                   | 5,44 $\pm$ 3,87                 | 164,05 $\pm$ 4,13                   |
|       |         | Erkek    | 32,53 $\pm$ 4,40**                 | 2,99 $\pm$ 0,69                 | 138,76 $\pm$ 3,51**                 |
| 7     | 3       | Dişi     | 14,96 $\pm$ 1,98                   | 5,31 $\pm$ 3,05                 | 169,84 $\pm$ 2,10                   |
|       |         | Erkek    | 41,11 $\pm$ 5,58*,**               | 1,24 $\pm$ 0,47                 | 190,34 $\pm$ 2,57*,**               |
|       | 6       | Dişi     | 14,10 $\pm$ 3,38*                  | 7,67 $\pm$ 0,65                 | 230,78 $\pm$ 2,75*, <sup>b</sup>    |
|       |         | Erkek    | 12,09 $\pm$ 2,05*, <sup>b</sup>    | 3,51 $\pm$ 0,49                 | 203,97 $\pm$ 2,49*,**, <sup>b</sup> |
| 21    | 3       | Dişi     | 10,11 $\pm$ 3,25                   | 5,97 $\pm$ 2,10                 | 202,64 $\pm$ 2,91*, <sup>a</sup>    |
|       |         | Erkek    | 89,59 $\pm$ 2,68*,**, <sup>a</sup> | 3,54 $\pm$ 1,40                 | 176,23 $\pm$ 3,46*,**, <sup>a</sup> |
|       | 6       | Dişi     | 14,76 $\pm$ 5,70                   | 9,25 $\pm$ 1,96                 | 166,28 $\pm$ 4,90 <sup>a, b</sup>   |
|       |         | Erkek    | 18,50 $\pm$ 0,77*, <sup>b</sup>    | 2,70 $\pm$ 0,44**, <sup>a</sup> | 172,58 $\pm$ 2,84*, <sup>b</sup>    |

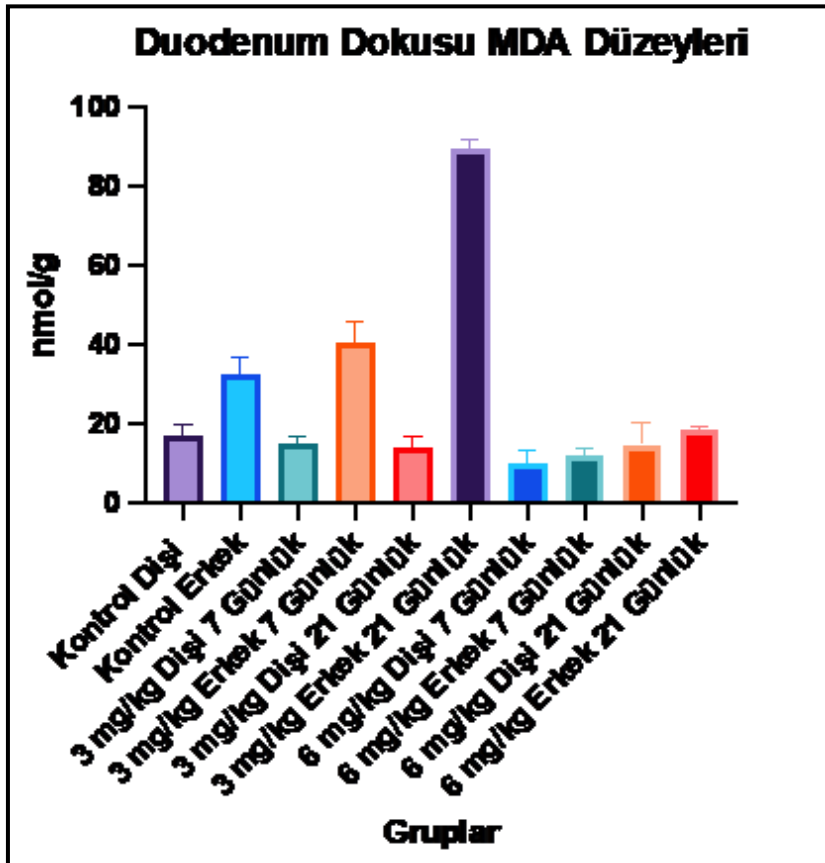
\*Aynı cinsiyet kontrolüyle karşılaştırıldığında ( $p<0,05$ )

\*\*Aynı koşullarda (aynı doz ve sürede) diğer cinsiyetlerle karşılaştırıldığında ( $p<0,05$ )

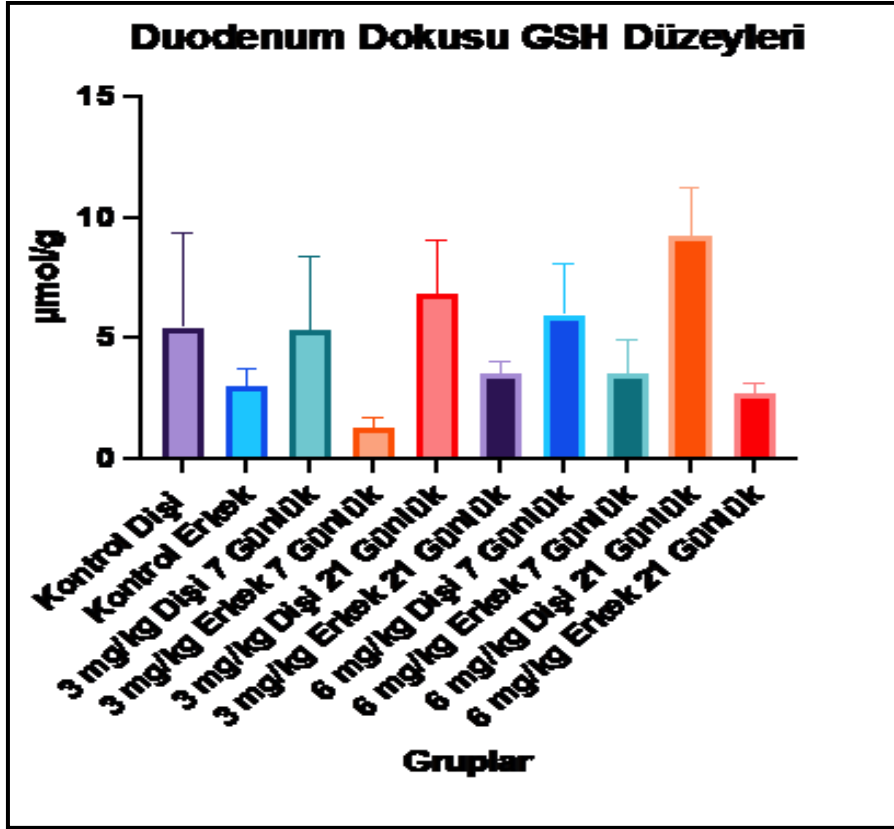
a Aynı koşullardaki diğer zamanla karşılaştırıldığında (aynı doz ve cinsiyet) ( $p < 0,05$ )

b Aynı koşullardaki (aynı cinsiyet ve zaman) diğer dozla karşılaştırıldığında ( $p<0,05$ ).

Duodenum dokusu MDA düzeylerinde, kontrol grupları ile kıyaslama yapıldığında dişi ve erkek kontrol grubu aralarında istatistiki olacak şekilde anlamlı olabilecek farklılaşma gözlemlenmiştir ( $p<0,05$ ). 7 günlük yüksek doz şeklinde bildirilen 6 mg/kg grubu hariç, dişi gruplar karşılaştırıldığında dişi kontrol grubu aralarında istatistiki olacak şekilde anlamlı olabilecek farklılaşma gözlemlenmemiştir ( $p>0,05$ ). Tüm erkek grupları ise kendi içinde kıyaslandığında tüm gruplar aralarında istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark gözlemlenmiştir ( $p<0,05$ ). GSH düzeylerinde uygulama grupları ve kontrol grubu aralarında istatistiki olacak şekilde anlamlı olabilecek farklılaşma gözlemlenmemiştir ( $p>0,05$ ) Duodenum dokusu NOx düzeylerinde, kontrol grupları ile kıyaslama yapıldığında dişi ve erkek kontrol grubu aralarında istatistiki olacak şekilde anlamlı olabilecek farklılaşma gözlemlenmiştir ( $p<0,05$ ). Dişi gruplarında NOx düzeyi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, 7. gün yüksek doz şeklinde bildirilen 6 mg/kg ve 21. günde düşük doz şeklinde bildirilen 3 mg/kg grubu NOx düzeylerinde istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark gözlemlenmiştir ( $p<0,05$ ). Erkek gruplarında NOx düzeylerinde kontrole göre istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ) (Çizelge 4.2. ve Şekil 4.4., Şekil 4.5., Şekil 4.6.).



Şekil 4.4. Duodenum dokusu MDA düzeyleri



Şekil 4.5. Duodenum dokusu GSH düzeyleri



Şekil 4.6. Duodenum dokusu NOx düzeyleri

#### 4.2.1. Duodenum dokusu doz farklılıkları

7 günlük dişi gruplarda düşük doz şeklinde bildirilen 3 mg/kg gruplarına kıyasla yüksek doz şeklinde bildirilen 6 mg/kg gruplarında MDA düzeyi daha yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). 7 günlük erkek gruplarında yüksek doz şeklinde bildirilen 6 mg/kg grupların MDA ve NOx düzeyleri düşük doz şeklinde bildirilen 3 mg/kg gruplarına göre istatistiki bakımdan anlam ifade eden ve yüksektir ( $p<0,05$ ). 21 günlük dişi grupların NOx düzeyleri karşılaştırıldığında, düşük doz şeklinde bildirilen 3 mg/kg grupların istatistiki bakımdan anlam ifade eden ve yüksek gerçekleştiği gözlemlenmiştir ( $p<0,05$ ). 21 günlük erkek gruplarında MDA ve NOx düzeyleri, yüksek doz şeklinde bildirilen 6 mg/kg gruplarına kıyasla düşük doz şeklinde bildirilen 3 mg/kg gruplarında istatistiki bakımdan anlam ifade eden olmasının yanında yüksektir ( $p<0,05$ ) (Çizelge 4.2. ve Şekil 4.4., Şekil 4.5., Şekil 4.6.).

#### 4.2.2. Duodenum dokusu gün farklılıkları

Düşük doz şeklinde bildirilen 3 mg/kg dişi gruplarında MDA ve GSH düzeylerinde gün bazında anlamlı farklılık bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ). Düşük doz şeklinde bildirilen 3 mg/kg dişi gruplarında NOx düzeyleri 21 günlük gruplarda anlamlı olarak artmış bulunmuştur ( $p<0,05$ ). 7 günlük yüksek doz şeklinde bildirilen 6 mg/kg dişi gruplarının MDA ve GSH düzeyleri 21 günlük gruba kıyasla istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark yoktur ( $p>0,05$ ). Düşük doz şeklinde bildirilen 3 mg/kg erkek grupları arasında gün bazında GSH seviyelerinde anlamlı şekilde ifade edilebilecek farklılık bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ). Düşük doz 21 günlük erkek grubunun NOx düzeyleri 7 günlük düşük doz erkek grubuna kıyasla istatistiki olacak şekilde anlamlı şekilde azalış göstermiştir ( $p<0,05$ ). Gün bazında değerlendirildiğinde erkek grupları arasında GSH düzeylerinde istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark gözlemlenmemektedir ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.2. ve Şekil 4.4., Şekil 4.5., Şekil 4.6.).

#### 4.2.3. Duodenum dokusu cinsiyet farklılıkları

Düşük doz şeklinde bildirilen 3 mg/kg gruplarında GSH seviyelerinde anlamlı şekilde ifade edilebilecek farklılık bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ). 7 günlük düşük doz şeklinde bildirilen 3 mg/kg dişi ve erkek grupları karşılaştırıldığında erkek gruplarda NOx düzeylerinin istatistiki bakımdan anlam ifade eden ve yüksektir ( $p<0,05$ ). 21 günlük düşük doz şeklinde bildirilen

3 mg/kg grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında erkek grupların MDA düzeyleri dişi gruplarına kıyasla istatistiki bakımdan anlam ifade eden ve yüksek gerçekleşmiştir ( $p<0,05$ ). Yüksek doz şeklinde bildirilen 6 mg/kg 7 günlük gruplarda erkek gruplarıyla dişi gruplar karşılaştırıldığında dişi gruplarda NOx düzeylerinin azaldığı tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). 21 günlük yüksek doz şeklinde bildirilen 6 mg/kg dişi grupların erkek gruplarına kıyasla GSH düzeyleri istatistiki bakımdan anlam ifade eden ve yükselmiştir ( $p<0,05$ ) (Çizelge 4.2. ve Şekil 4.4., Şekil 4.5., Şekil 4.6.).

### 4.3. İleum Dokusu MDA, GSH ve NOx Düzeyleri

Çizelge 4.3. 2,4-DNP uygulamasının ileum dokusundaki MDA, GSH, NOx düzeylerine etkisi

| Zaman | Gruplar | Cinsiyet | MDA (nmol/g)                    | GSH ( $\mu$ mol/g)             | NOx ( $\mu$ mol/L)              |
|-------|---------|----------|---------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| 0     | KONTROL | Dişi     | 16,06 $\pm$ 1,44                | 4,28 $\pm$ 0,73                | 54,04 $\pm$ 2,29                |
|       |         | Erkek    | 16,02 $\pm$ 2,69                | 3,95 $\pm$ 1,20                | 68,81 $\pm$ 3,10**              |
| 7     | 3       | Dişi     | 13,90 $\pm$ 3,30                | 3,25 $\pm$ 1,36                | 65,72 $\pm$ 3,91*               |
|       |         | Erkek    | 35,81 $\pm$ 3,24*,**            | 1,74 $\pm$ 1,23                | 73,04 $\pm$ 4,59                |
|       | 6       | Dişi     | 22,09 $\pm$ 4,22                | 7,44 $\pm$ 2,75*,b             | 80,88 $\pm$ 4,90*,b             |
|       |         | Erkek    | 47,73 $\pm$ 4,26*,**            | 1,41 $\pm$ 0,06**              | 36,10 $\pm$ 3,77**              |
| 21    | 3       | Dişi     | 15,48 $\pm$ 3,17 <sup>a</sup>   | 1,98 $\pm$ 0,29                | 41,97 $\pm$ 3,92*, <sup>a</sup> |
|       |         | Erkek    | 42,81 $\pm$ 1,90*,**,a          | 1,79 $\pm$ 0,25                | 64,39 $\pm$ 3,65*,**,a          |
|       | 6       | Dişi     | 8,93 $\pm$ 2,45*,a,b            | 7,85 $\pm$ 0,45*,b             | 27,54 $\pm$ 3,37*,a,b           |
|       |         | Erkek    | 13,05 $\pm$ 4,57 <sup>a,b</sup> | 6,93 $\pm$ 1,28 <sup>a,b</sup> | 27,18 $\pm$ 4,05*, <sup>a</sup> |

\* Aynı cinsiyet kontrolüyle karşılaştırıldığında ( $p<0,05$ )

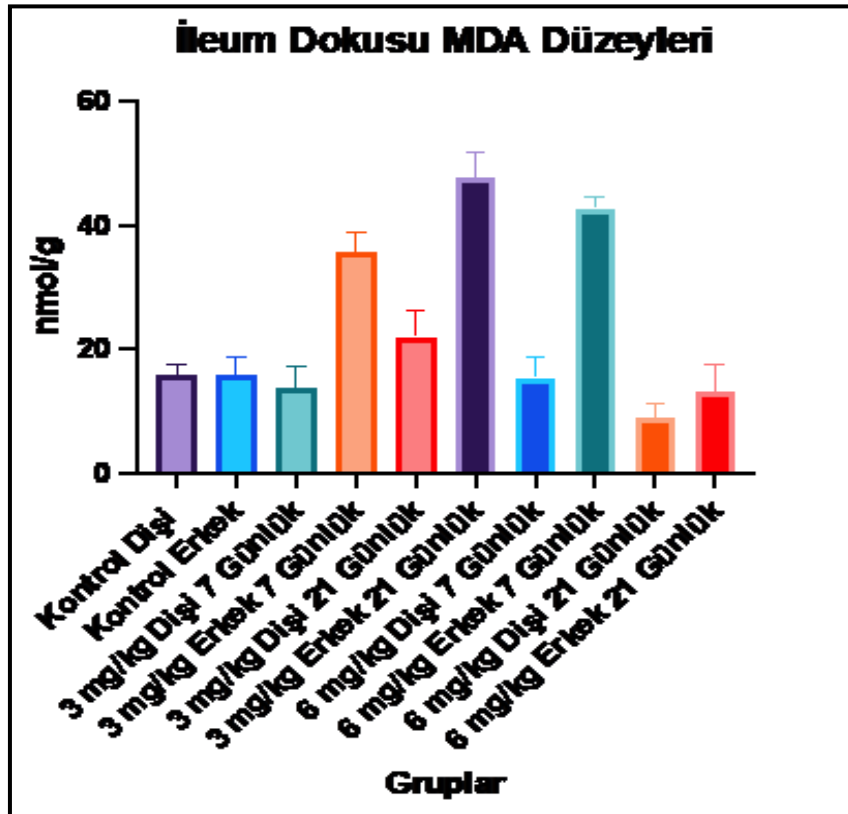
\*\* Aynı koşullarda (aynı doz ve sürede) diğer cinsiyetlerle karşılaştırıldığında ( $p<0,05$ )

a Aynı koşullardaki diğer zamanla karşılaştırıldığında (aynı doz ve cinsiyet) ( $p < 0,05$ )

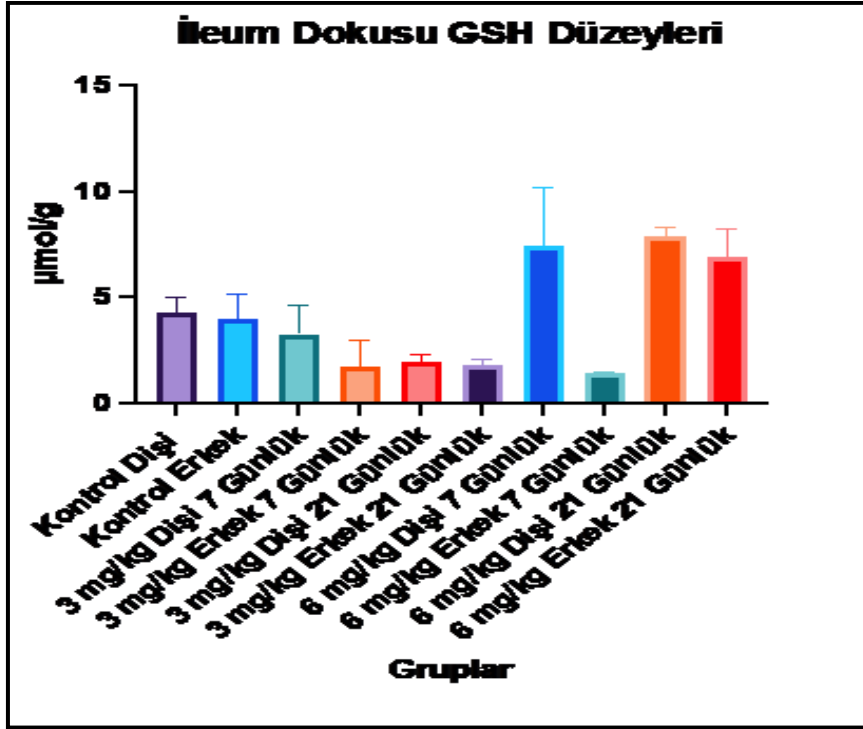
b Aynı koşullardaki (aynı cinsiyet ve zaman) diğer dozla karşılaştırıldığında ( $p<0,05$ ).

İleum dokusu MDA düzeylerinde, kontrol grupları ile kıyaslama yapıldığında dişi ve erkek kontrol grubu aralarında istatistiki olacak şekilde anlamlı olabilecek farklılaşma

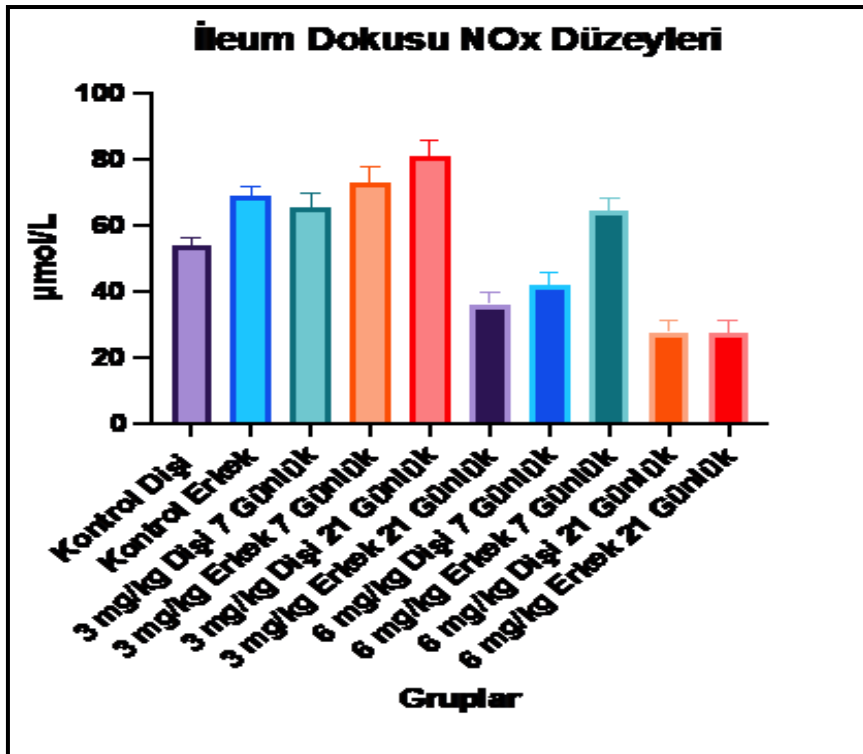
gözlemlenmiştir ( $p<0,05$ ). 21 günlük yüksek doz şeklinde bildirilen 6 mg/kg grubu hariç, dişi gruplar karşılaştırıldığında dişi kontrol grubu aralarında istatistiki olacak şekilde anlamlı olabilecek farklılaşma gözlemlenmemiştir ( $p>0,05$ ). 21 günlük yüksek doz şeklinde bildirilen 6 mg/kg grubu hariç diğer erkek grupları kontrol ile kıyaslandığında istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark görülmüştür ( $p<0,05$ ). GSH düzeylerinde erkeklerde uygulama grupları ve kontrol grubu aralarında istatistiki olacak şekilde anlamlı olabilecek farklılaşma gözlemlenmemiştir ( $p>0,05$ ). Dişilerde ise yüksek doz şeklinde bildirilen 6 mg/kg uygulama grupları hariç istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark görülmemiştir ( $p>0,05$ ). İleum dokusu NOx düzeylerinde, kontrol grupları ile kıyaslama yapıldığında dişi ve erkek kontrol grubu aralarında istatistiki olacak şekilde anlamlı olabilecek farklılaşma gözlemlenmiştir ( $p<0,05$ ). Dişi gruplarında NOx düzeyi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, tüm uygulama gruplarının NOx düzeylerinde istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark gözlemlenmiştir ( $p<0,05$ ). Erkek gruplarında NOx düzeylerinde kontrole kıyaslandığında 7 günlük yüksek ve düşük doz (6 ve 3 mg/kg) uygulama grupları hariç kontrole göre istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ) (Çizelge 4.3. ve Şekil 4.7., Şekil 4.8., Şekil 4.9.).



Şekil 4.7. İleum dokusu MDA düzeyleri



Şekil 4.8. İleum dokusu GSH düzeyleri



Şekil 4.9. İleum dokusu NOx düzeyleri

#### 4.3.1. İleum dokusu doz farklılıkları

21 günlük dişi gruplarda düşük doz şeklinde bildirilen 3 mg/kg gruplarına kıyasla yüksek doz şeklinde bildirilen 6 mg/kg gruplarında MDA düzeyi daha yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). 21 günlük erkek gruplarında düşük doz şeklinde bildirilen 3 mg/kg grupların MDA düzeyleri yüksek doz şeklinde bildirilen 6 mg/kg gruplarına göre istatistiki bakımdan anlam ifade eden ve yüksektir ( $p<0,05$ ). 7 günlük düşük doz (3mg/kg) dişi gruplarının GSH düzeyleri yüksek doza göre (6 mg/kg) daha yüksek bulunurken 21 günlük dişi gruplarında tam tersi gözlemlenmiştir ( $p<0,05$ ). Erkeklerde ise düşük doz (3mg/kg) gruplarının GSH düzeyleri daha düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ). 21 günlük dişi grupların NOx düzeyleri karşılaştırıldığında, düşük doz şeklinde bildirilen 3 mg/kg grupların istatistiki bakımdan anlam ifade eden ve yüksek gerçekleştiği gözlemlenmiştir ( $p<0,05$ ). 7 günlük erkek gruplarında NOx düzeyleri, düşük doz şeklinde bildirilen 3 mg/kg gruplarına kıyasla yüksek doz şeklinde bildirilen 6 mg/kg gruplarında istatistiki bakımdan anlam ifade eden olmasının yanında yüksektir ( $p<0,05$ ) (Çizelge 4.3. ve Şekil 4.7., Şekil 4.8., Şekil 4.9.).

#### 4.3.2. İleum dokusu gün farklılıkları

Düşük ve yüksek doz (3 ve 6 mg/kg) dişi ve erkek gruplarında MDA düzeyleri 7 ve 21 günlük gruplarda anlamlı olarak farklı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). 7 ve 21 günlük erkek gruplarının GSH düzeyleri karşılaştırıldığında yüksek dozda (6 mg/kg) anlamlı bir artış tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). Düşük ve yüksek doz (3 ve 6 mg/kg) dişi ve erkek gruplarında NOx düzeyleri 7 ve 21 günlük gruplarda anlamlı olarak farklı bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Çizelge 4.3. ve Şekil 4.7., Şekil 4.8., Şekil 4.9.).

#### 4.3.3. İleum dokusu cinsiyet farklılıkları

Yüksek doz (6mg/kg) 21 günlük uygulama hariç diğer cinsiyet uygulama gruplarının MDA düzeyleri aralarında istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark gözlemlenmiştir ( $p<0,05$ ). Yüksek doz (6mg/kg) 7 günlük uygulama hariç diğer cinsiyet uygulama gruplarının GSH düzeyleri aralarında istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark gözlemlenmemiştir ( $p>0,05$ ). Düşük doz şeklinde bildirilen 3 mg/kg 7 günlük ve yüksek doz (6mg/kg) 21 günlük uygulama hariç diğer cinsiyet uygulama gruplarının NOx düzeyleri aralarında istatistiki

bakımdan anlam ifade eden fark gözlemlenmiştir ( $p<0,05$ ) (Çizelge 4.3. ve Şekil 4.7., Şekil 4.8., Şekil 4.9.).

#### 4.4. Mide Dokusu PC Düzeyleri

Çizelge 4.4. 2,4-DNP uygulamasının mide dokusundaki PC düzeyine etkisi

| Zaman | Gruplar | Cinsiyet | Protein Karbonil          |
|-------|---------|----------|---------------------------|
| 0     | KONTROL | Dişi     | 4,67±1,17                 |
|       |         | Erkek    | 3,57±0,63                 |
| 7     | 3       | Dişi     | 2,11±0,61                 |
|       |         | Erkek    | 8,58±2,00**               |
|       | 6       | Dişi     | 9,01±2,86                 |
|       |         | Erkek    | 4,89±1,18**               |
| 21    | 3       | Dişi     | 13,38±2,92*, <sup>a</sup> |
|       |         | Erkek    | 9,74±1,57**               |
|       | 6       | Dişi     | 10,25±6,28                |
|       |         | Erkek    | 10,35±3,27                |

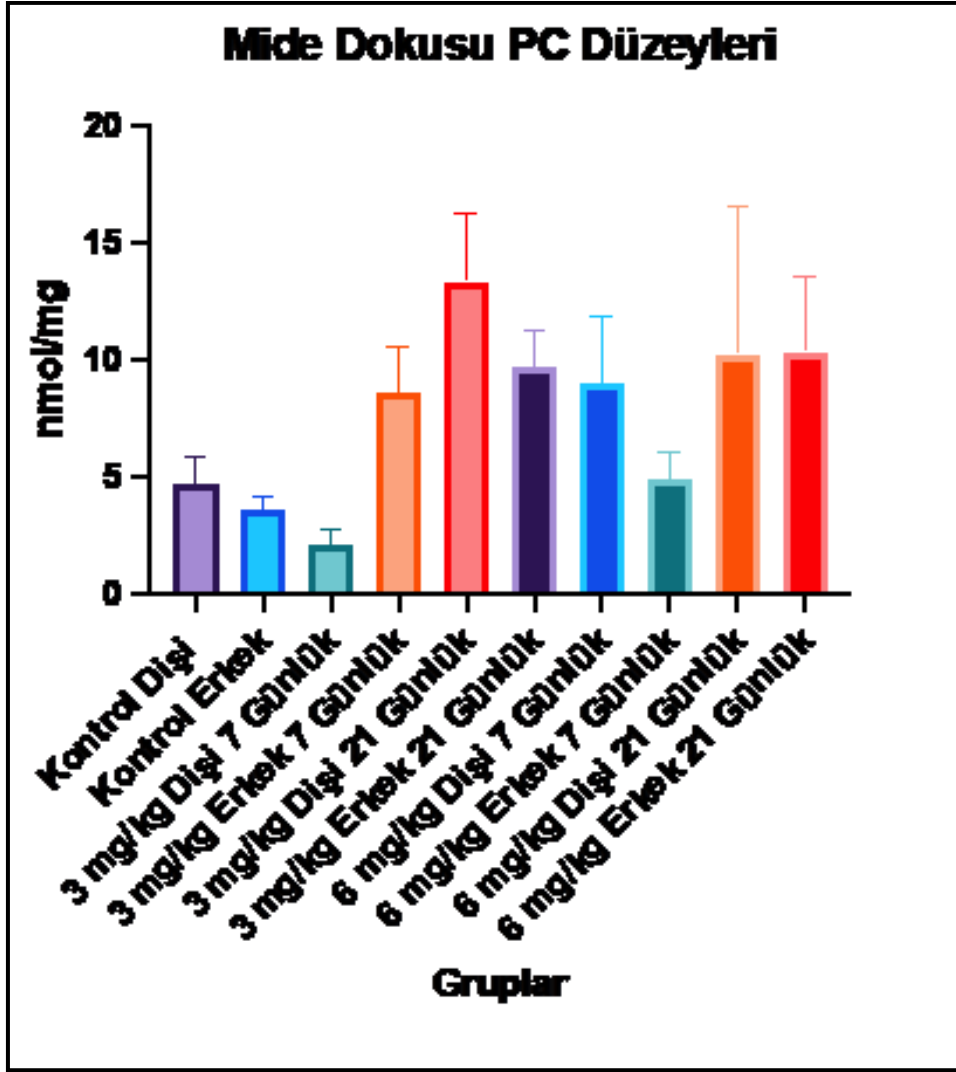
\*Aynı cinsiyet kontrolüyle karşılaştırıldığında ( $p<0,05$ )

\*\*Aynı koşullarda (aynı doz ve sürede) diğer cinsiyetlerle karşılaştırıldığında ( $p<0,05$ )

a Aynı koşullardaki diğer zamanla karşılaştırıldığında (aynı doz ve cinsiyet) ( $p<0,05$ )

b Aynı koşullardaki (aynı cinsiyet ve zaman) diğer dozla karşılaştırıldığında ( $p<0,05$ ).

Mide dokusu PC düzeylerinde erkeklerde uygulama grupları ve kontrol grubu aralarında istatistiki olacak şekilde anlamlı olabilecek farklılaşma gözlemlenmemiştir ( $p>0,05$ ). Dişilerde ise 21 günlük düşük doz şeklinde bildirilen 3 mg/kg uygulama grubu hariç istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark görülmemiştir ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.4. ve Şekil 4.10.).



Şekil 4.10. Mide dokusu PC düzeyleri

#### 4.4.1. Mide dokusu doz farklılıkları

Mide dokusu PC düzeylerinde dişi ve erkek bireylerin hiçbirinde istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark belirlenmemiştir ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.4. ve Şekil 4.10.) .

#### 4.4.2. Mide dokusu gün farklılıkları

Mide dokusu PC düzeylerinde erkek bireylerde ve 21 günlük düşük doz şeklinde bildirilen 3 mg/kg uygulama yapılan hariç diğer dişi bireylerde istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark belirlenmemiştir ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.4. ve Şekil 4.10.) .

#### 4.4.3. Mide dokusu cinsiyet farklılıkları

Yüksek doz (6 mg/kg) 21 günlük uygulama grubu hariç diğer erkek uygulama gruplarının PC düzeyleri aralarında istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark gözlemlenmiştir ( $p < 0,05$ ). Dişi bireylerin hiçbirinde istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark gözlemlenmemiştir ( $p > 0,05$ ) (Çizelge 4.4. ve Şekil 4.10.) .

#### 4.5. Duodenum Dokusu PC Düzeyleri

Çizelge 4.5. 2,4-DNP uygulamasının duodenum dokusundaki PC düzeyine etkisi

| Zaman | Gruplar | Cinsiyet | Protein Karbonil         |
|-------|---------|----------|--------------------------|
| 0     | KONTROL | Dişi     | 16,05± 3,58              |
|       |         | Erkek    | 16,79± 3,11              |
| 7     | 3       | Dişi     | 14,98± 2,88              |
|       |         | Erkek    | 15,58± 1,06              |
|       | 6       | Dişi     | 9,73± 4,44               |
|       |         | Erkek    | 18,71± 4,56              |
| 21    | 3       | Dişi     | 25,93± 2,74              |
|       |         | Erkek    | 28,38± 6,93 <sup>a</sup> |
|       | 6       | Dişi     | 18,79± 4,62              |
|       |         | Erkek    | 16,35± 3,92 <sup>b</sup> |

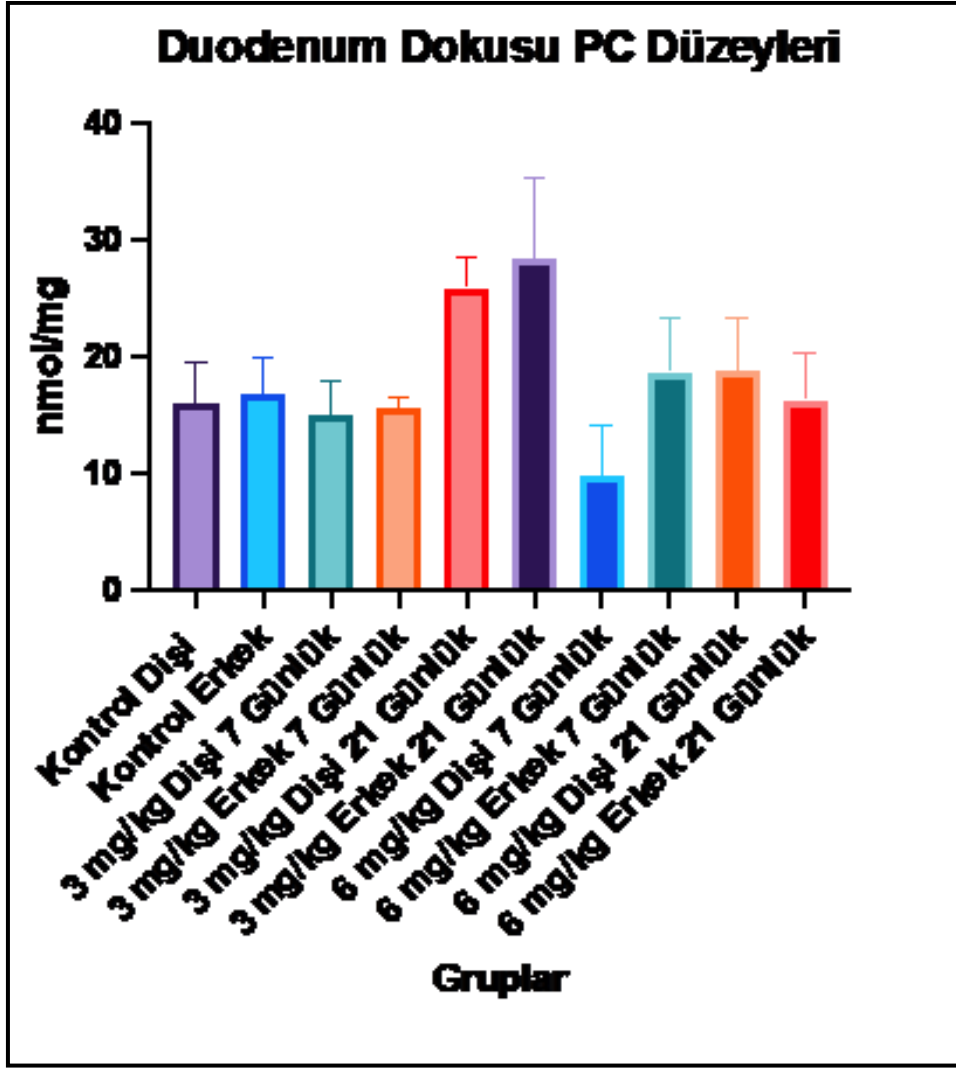
\* Aynı cinsiyet kontrolüyle karşılaştırıldığında (p<0,05)

\*\* Aynı koşullarda (aynı doz ve sürede) diğer cinsiyetlerle karşılaştırıldığında (p<0,05)

a Aynı koşullardaki diğer zamanla karşılaştırıldığında (aynı doz ve cinsiyet) ( p <0,05)

b Aynı koşullardaki (aynı cinsiyet ve zaman) diğer dozla karşılaştırıldığında ( p<0,05).

Duodenum dokusu PC düzeylerinde erkek ve dişi uygulama grupları ve kontrol grubu aralarında istatistiki olacak şekilde anlamlı olabilecek farklılaşma gözlemlenmemiştir ( $p > 0,05$ ) (Çizelge 4.5. ve Şekil 4.11) .



Şekil 4.11. Duodenum dokusu PC düzeyleri

#### 4.5.1. Duodenum dokusu doz farklılıkları

Düşük doz şeklinde bildirilen grup ve yüksek doz şeklinde bildirilen gruba dahil edilen DNP uygulanan diş bireylerin PC düzeylerinde istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark belirlenmemiştir ( $p>0,05$ ). 21 günlük erkek gruplarda düşük doz şeklinde bildirilen 3 mg/kg gruplarına kıyasla yüksek doz şeklinde bildirilen 6 mg/kg gruplarında PC düzeyi daha düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Çizelge 4.5. ve Şekil 4.11).

#### 4.5.2. Duodenum dokusu gün farklılıkları

7 ve 21 günlük DNP uygulanan diş bireylerin PC düzeylerinde istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark belirlenmemiştir ( $p>0,05$ ). Düşük doz şeklinde bildirilen 3 mg/kg DNP

uygulanan gruplarda PC düzeyleri 21 günlük erkek bireylerde 7 günlük erkek bireylere göre daha fazladır ( $p<0,05$ ) (Çizelge 4.5. ve Şekil 4.11).

#### 4.5.3. Duodenum dokusu cinsiyet farklılıkları

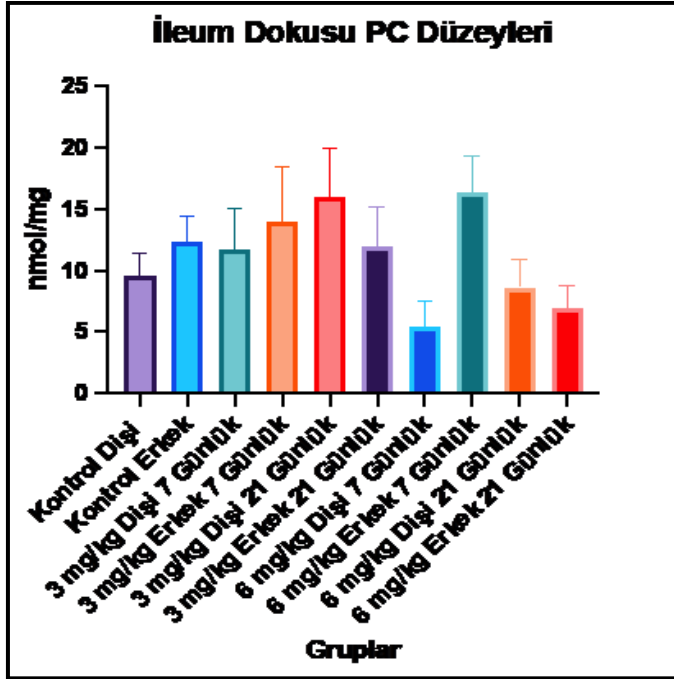
Duodenum dokusu PC düzeylerinde dişi ve erkek bireyler aralarında istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark gözlemlenmemiştir ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.5. ve Şekil 4.11)

#### 4.6. İleum Dokusu PC Düzeyleri

Çizelge 4.6. 2,4-DNP uygulamasının ileum dokusundaki PC düzeyine etkisi

| Zaman                                                                                    | Gruplar | Cinsiyet | Protein Karbonil        |
|------------------------------------------------------------------------------------------|---------|----------|-------------------------|
| 0                                                                                        | KONTROL | Dişi     | 9,60± 1,77              |
|                                                                                          |         | Erkek    | 12,36± 2,08             |
| 7                                                                                        | 3       | Dişi     | 11,73± 3,24             |
|                                                                                          |         | Erkek    | 13,95± 4,42             |
|                                                                                          | 6       | Dişi     | 5,43± 2,02              |
|                                                                                          |         | Erkek    | 16,30± 3,01**           |
| 21                                                                                       | 3       | Dişi     | 15,94± 4,01             |
|                                                                                          |         | Erkek    | 11,91± 3,24             |
|                                                                                          | 6       | Dişi     | 8,61± 2,25              |
|                                                                                          |         | Erkek    | 6,93± 1,84 <sup>a</sup> |
| *Aynı cinsiyet kontrolüyle karşılaştırıldığında (p<0,05)                                 |         |          |                         |
| **Aynı koşullarda (aynı doz ve sürede) diğer cinsiyetlerle karşılaştırıldığında (p<0,05) |         |          |                         |
| a Aynı koşullardaki diğer zamanla karşılaştırıldığında (aynı doz ve cinsiyet) ( p <0,05) |         |          |                         |
| b Aynı koşullardaki (aynı cinsiyet ve zaman) diğer dozla karşılaştırıldığında ( p<0,05). |         |          |                         |

İleum dokusu PC düzeylerinde erkek ve dişi uygulama grupları ve kontrol grubu aralarında istatistiki olacak şekilde anlamlı olabilecek farklılaşma gözlemlenmemiştir ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.6. ve Şekil 4.12.).



Şekil 4.12. İleum dokusu PC düzeyleri

#### 4.6.1. İleum dokusu doz farklılıkları

Düşük doz şeklinde bildirilen grup ve yüksek doz şeklinde bildirilen gruba dahil edilen DNP uygulanan dişi ve erkek bireylerin PC düzeylerinde istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark belirlenmemiştir ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.6. ve Şekil 4.12.).

#### 4.6.2. İleum dokusu gün farklılıkları

21 günlük 6 mg/kg DNP uygulanan erkek bireyler hariç 7 ve 21 günlük DNP uygulanan dişi ve erkek bireylerin PC düzeylerinde istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark belirlenmemiştir ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.6. ve Şekil 4.12.).

#### 4.6.3. İleum dokusu cinsiyet farklılıkları

7 günlük 6 mg/kg DNP uygulanan erkek bireyler hariç DNP uygulanan dişi ve erkek bireylerin PC düzeylerinde istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark belirlenmemiştir ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.6. ve Şekil 4.12.).

#### 4.7. Mide Dokusu AA Düzeyleri

Çizelge 4.7. 2,4-DNP uygulamasının mide dokusundaki AA düzeyine etkisi

| Zaman | Gruplar | Cinsiyet | Askorbik Asit  |
|-------|---------|----------|----------------|
| 0     | KONTROL | Dişi     | 3,71± 0,62     |
|       |         | Erkek    | 3,55± 0,48     |
| 7     | 3       | Dişi     | 2,26± 0,28*    |
|       |         | Erkek    | 0,98± 0,29*,** |
|       | 6       | Dişi     | 1,77± 0,10*    |
|       |         | Erkek    | 0,87± 0,28*    |
| 21    | 3       | Dişi     | 2,91± 0,85     |
|       |         | Erkek    | 1,86± 0,23*    |
|       | 6       | Dişi     | 2,19± 0,38*    |
|       |         | Erkek    | 1,77± 0,28*    |

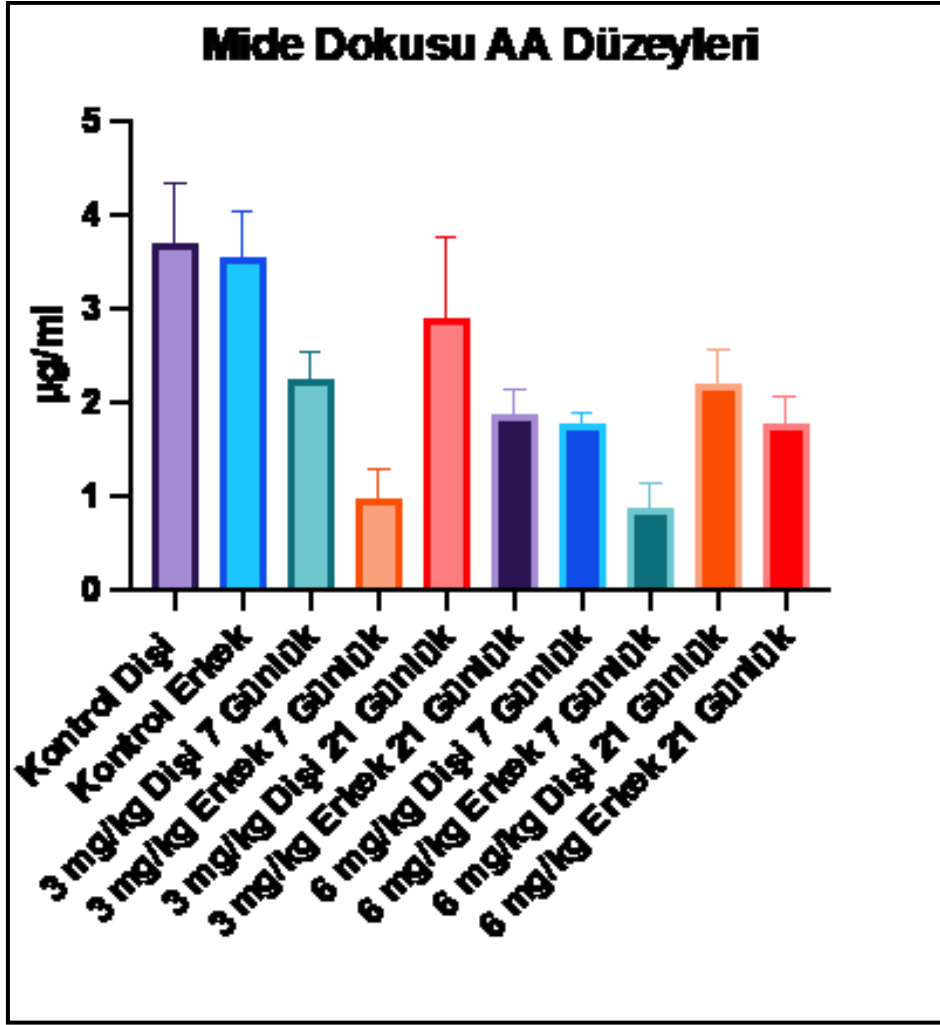
\*Aynı cinsiyet kontrolüyle karşılaştırıldığında (p<0,05)

\*\*Aynı koşullarda (aynı doz ve sürede) diğer cinsiyetlerle karşılaştırıldığında (p<0,05)

a Aynı koşullardaki diğer zamanla karşılaştırıldığında (aynı doz ve cinsiyet) ( p <0,05)

b Aynı koşullardaki (aynı cinsiyet ve zaman) diğer dozla karşılaştırıldığında ( p<0,05)

Mide dokusu AA düzeyleri dişi uygulama grupları ile kontrol grupları karşılaştırıldığında 21 günlük 3 mg/kg DNP verilen gruplar hariç anlamlı bulunmuştur (p<0,05). Mide dokusu AA düzeyleri erkek uygulama grupları ile kontrol grupları karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur (p<0,05) (Çizelge 4.7. ve Şekil 4.13.) .



Şekil 4.13. Mide dokusu AA düzeyleri

#### 4.7.1. Mide dokusu doz farklılıkları

Düşük doz şeklinde bildirilen grup ve yüksek doz şeklinde bildirilen gruba dahil edilen DNP uygulanan dişi ve erkek bireylerin AA düzeylerinde istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark belirlenmemiştir ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.7. ve Şekil 4.13.).

#### 4.7.2. Mide dokusu gün farklılıkları

7 ve 21 günlük DNP uygulanan dişi ve erkek bireylerin AA düzeylerinde istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark belirlenmemiştir ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.7. ve Şekil 4.13.).

#### 4.7.3. Mide dokusu cinsiyet farklılıkları

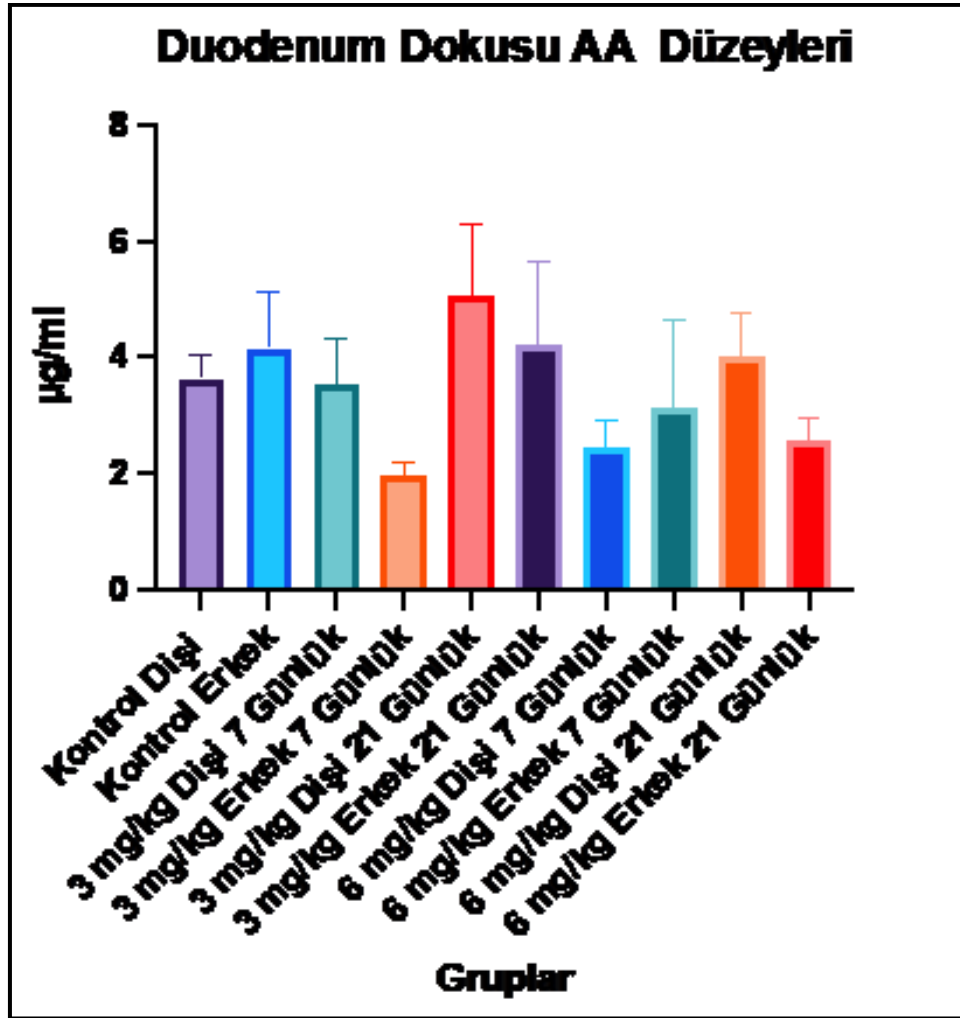
7 günlük 3 mg/kg DNP uygulana erkek bireyler hariç DNP uygulanan dişi ve erkek bireylerin AA düzeylerinde istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark belirlenmemiştir ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.7. ve Şekil 4.13.).

#### 4.8. Duodenum Dokusu AA Düzeyleri

Çizelge 4.8. 2,4-DNP uygulamasının duodenum dokusundaki AA düzeyine etkisi

| Zaman                                   | Gruplar | Cinsiyet | Askorbik Asit |
|-----------------------------------------|---------|----------|---------------|
| 0                                       | KONTROL | Dişi     | 3,63±0,42     |
|                                         |         | Erkek    | 4,15± 0,97    |
|                                         |         | Dişi     | 3,53± 0,78    |
|                                         |         | Erkek    | 1,97± 0,23    |
| 7                                       | 3       | Dişi     | 2,47± 0,42    |
|                                         |         | Erkek    | 3,13± 1,52    |
|                                         |         | Dişi     | 5,06± 1,23    |
|                                         |         | Erkek    | 4,20± 1,18    |
| 21                                      | 6       | Dişi     | 4,02± 0,79    |
|                                         |         | Erkek    | 2,56± 0,41    |
|                                         |         | Dişi     | 4,02± 0,79    |
|                                         |         | Erkek    | 2,56± 0,41    |
| Anlamlı farklılık bulunmamakta (p>0,05) |         |          |               |

Duodenum dokusu AA düzeyleri dişi ve erkek uygulama grupları ile kontrol grupları karşılaştırıldığında istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark belirlenmemiştir ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.8. ve Şekil 4.14.).



Şekil 4.14. Duodenum dokusu AA düzeyleri

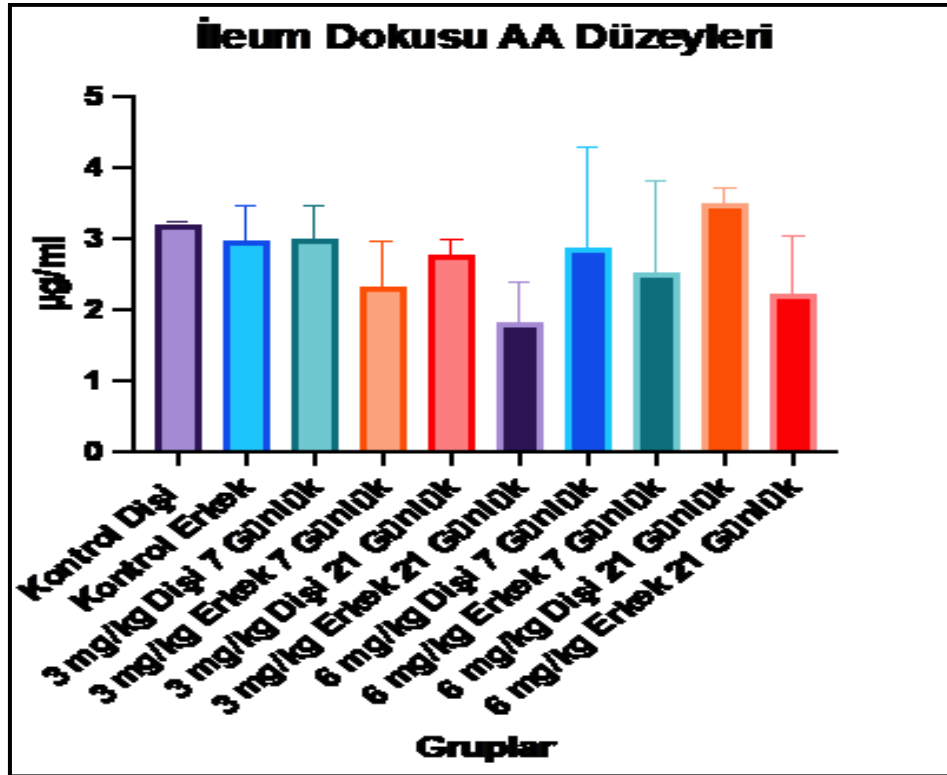
Duodenum dokusu AA düzeyleri doz, süre ve cinsiyet bazında bakıldığında istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark belirlenmemiştir ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.8. ve Şekil 4.14.).

#### 4.9. İleum Dokusu AA Düzeyleri

Çizelge 4.9. 2,4-DNP uygulamasının ileum dokusundaki AA düzeyine etkisi .

| Zaman                                   | Gruplar | Cinsiyet | Askorbik Asit |
|-----------------------------------------|---------|----------|---------------|
| 0                                       | Kontrol | Dişi     | 3,21± 0,02    |
|                                         |         | Erkek    | 2,96± 0,49    |
| 7                                       | 3       | Dişi     | 3,00± 0,46    |
|                                         |         | Erkek    | 2,32± 0,63    |
|                                         | 6       | Dişi     | 2,87± 1,40    |
|                                         |         | Erkek    | 2,51± 1,29    |
| 21                                      | 3       | Dişi     | 2,75± 0,23    |
|                                         |         | Erkek    | 1,82± 0,46    |
|                                         | 6       | Dişi     | 3,48± 0,23    |
|                                         |         | Erkek    | 2,22± 0,79    |
| Anlamlı farklılık bulunmamakta (p>0,05) |         |          |               |

İleum dokusu AA düzeyleri dişi ve erkek uygulama grupları ile kontrol grupları karşılaştırıldığında istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark belirlenmemiştir (p>0,05) (Çizelge 4.9. ve Şekik 4.15.).



Şekil 4.15. İleum dokusu AA düzeyleri

İleum dokusu AA düzeyleri doz, süre ve cinsiyet bazında bakıldığında istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark belirlenmemiştir ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.9. ve Şekil 4.15.).

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

Çizelge 4.10. 7 ve 21 günlük periyotlarda 3 mg/kg ve 6 mg/kg 2,4-dinitrofenol uygulanan dişi ve erkek ratların serumlarında IL-1 $\beta$  ve TNF - $\alpha$  düzeyleri

| Gruplar                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | IL -1 $\beta$ (pg/ml)           | TNF - $\alpha$ (pg/ml)       |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|------------------------------|
| Kontrol Dişi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 2.27 $\pm$ 0.33                 | 5.79 $\pm$ 1.34              |
| Kontrol Erkek                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2.34 $\pm$ 0.21                 | 6.28 $\pm$ 0.82              |
| 7 Günlük 3 mg/kg DİŞİ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 0.60 $\pm$ 0.33 <sup>*ace</sup> | 5.33 $\pm$ 1.65              |
| 7 Günlük 6 mg/kg DİŞİ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 2.88 $\pm$ 0.60 <sup>d</sup>    | 4.08 $\pm$ 0.93              |
| 21 Günlük 3 mg/kg DİŞİ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 2.31 $\pm$ 0.32 <sup>b</sup>    | 7.02 $\pm$ 0.97 <sup>*</sup> |
| 21 Günlük 6 mg/kg DİŞİ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 4.11 $\pm$ 1.37                 | 6.08 $\pm$ 0.51              |
| 7 Günlük 3 mg/kg ERKEK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 2.99 $\pm$ 0.56                 | 3.35 $\pm$ 0.53 <sup>f</sup> |
| 7 Günlük 6 mg/kg ERKEK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 3.72 $\pm$ 0.70                 | 6.74 $\pm$ 1.58              |
| 21 Günlük 3 mg/kg ERKEK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.55 $\pm$ 0.48                 | 4.49 $\pm$ 0.44              |
| 21 Günlük 6 mg/kg ERKEK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 3.16 $\pm$ 0.46                 | 6.68 $\pm$ 1.12              |
| <p>*p &lt; 0.05 Erkek grubu ile kıyaslandığında</p> <p><sup>a</sup>p &lt; 0.05 Kontrol dişi grubu ile kıyaslandığında</p> <p><sup>b</sup>p &lt; 0.05 7 günlük dişi grup ile kıyaslandığında</p> <p><sup>c</sup>p &lt; 0.05 21 günlük dişi grupla kıyaslandığında</p> <p><sup>d</sup>p &lt; 0.05 3 mg/kg doz uygulanan dişi grup ile kıyaslandığında</p> <p><sup>e</sup>p &lt; 0.05 6 mg/kg doz uygulanan dişi grup ile kıyaslandığında</p> <p><sup>f</sup>p &lt; 0.05 kontrol erkek grubu ile kıyaslandığında</p> |                                 |                              |

##### 4.10.1. Serum IL-1 $\beta$ düzeyleri

Uygulama grupları cisiyet bazında karşılaştırıldıklarında 7 günlük 3 mg/kg doz DNP uygulanan dişi grupta erkek grubuna göre anlamlı azalma olmuştur. Dişi bireyler kontrol grubu ile kıyaslandığında sadece 7 günlük 3 mg/ kg DNP uygulanan grupta anlamlı bir azalma olmuştur (p < 0.05). 7 ve 21 günlük 3 mg/kg DNP uygulanan gruplar aralarında istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark oluşmuştur (p < 0.05). Düşük doz uygulama yapılan dişi bireyler karşılaştırıldığında akut uygulama grubunda anlamlı bir azalma

olmuştur ( $p < 0.05$ ). 7 günlük uygulama yapılan dişi grupları aralarında istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark oluşmuştur ( $p < 0.05$ ). 6 mg/kg doz uygulanan 7 ve 21 günlük dişi gruplar kıyaslandığında akut uygulama grubunda anlamlı azalma olmuştur ( $p < 0.05$ ).

#### **4.10.2. Serum TNF- $\alpha$ düzeyleri**

21 günlük 3 mg /kg doz DNP uygulanan dişi ve erkek bireyler aralarında istatistiki bakımdan anlam ifade eden fark bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Uygulama yapılan gruplar kontrol grubuyla karşılaştırıldığında sadece 3 mg/ kg doz DNP uygulanan 7 günlük erkek bireylerde anlamlı azalma olmuştur ( $p < 0.05$ ).

## 5. TARTIŞMA

İkinci beyin olarak da adlandırılan gastrointestinal sistem (GİS), sahip olduğu mikrobiyota ve sinirler vasıtasıyla beyin ile sıkı ilişki içerisinde. Merkezi sinir sistemi ve vagus sinirler vasıtasıyla beyinden gelen uyarılar GİS' i etkilerken GİS mikrobiyatasındaki herhangi bir değişiklik de beyni etkilemektedir.

GİS mikrobiyotasındaki bozukluklar ROT artışına ve oksidatif strese sebep olurken aynı zamanda GİS oksidanların hedefindedir. Sonuç olarak oksidatif stres; çeşitli gastrointestinal (GI) bozukluklarının patofizyolojisinde yer almaktadır. Bu durumlar arasında kronik enfeksiyonlar, inflamatuvar hastalıklar, maligniteler, diyabetes mellitus, iskemi-reperfüzyon yaralanması, kronik alkol tüketiminden kaynaklanan GI toksisiteler, radyoterapi ve steroid olmayan anti-inflamatuvar ve kemoterapötik ajanlar bulunmaktadır [138].

Mitokondriyal uncoupling bir protein olan 2,4-dinitrofenol (DNP) yüksek dozlarda oldukça toksiktir ancak düşük dozlarda ROT üretimini dolayısıyla oksidatif stresi azalttığını belirten bazı çalışmalar vardır [11, 144]. Bu çalışmada DNP uygulamasının oksidatif stres üzerine etkisinin araştırılması amacıyla mide, duodenum ve ileum dokularında MDA, GSH, NOx, PC ve AA düzeyleri, serumda ise IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  düzeyleri incelenmiştir.

3 mg/kg ve 6 mg/kg doz DNP verilen ratların mide dokusu incelendiğinde kronik uygulama yapılan erkek ratlar hariç uygulanan DNP' nin dozu arttıkça MDA seviyesinin de arttığı gözlenmiştir. Bu durum DNP' nin oksidatif stresi arttırdığı şeklinde yorumlanabilir. Bizim sonuçlarımıza benzer şekilde Daniela Filipa Costa e Sousa tarafından 2017 yılında yayınlanan yüksek lisans tez çalışmasında; Wistar sıçanlarından elde edilen birincil hepatositler (karaciğer hücreleri), 37°C'de 24 saat boyunca 1  $\mu$ M, 10  $\mu$ M, 50  $\mu$ M, 100  $\mu$ M ve 200  $\mu$ M konsantrasyonlarında 2,4-DNP' ye maruz bırakılmış ve DNP' nin artan konsantrasyonuyla birlikte ROT üretiminin de arttığı belirtilmiştir [44].

3 mg/kg ve 6 mg/kg doz DNP verilen ratların mide dokusu incelendiğinde akut uygulama yapılan erkek ratlar hariç uygulanan DNP' nin dozu arttıkça GSH seviyesinin de arttığı gözlenmiştir. Bizim çalışmamızın aksine Han ve arkadaşları 2008 yılında, As4.1 jukstaglomerüler hücrelerde, hücrelerin 48 saat boyunca 500  $\mu$ M' nin üzerindeki konsantrasyonlarda DNP ile maruz kaldığında intraselüler H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve O<sub>2</sub><sup>-</sup> üretiminin belirgin

şekilde arttığını ve As4.1 hücrelerinde intraselüler GSH düzeyinin hızla azaldığını göstermiştir [145]. Bu durum değişen oksidatif stresi düzenlemek için glutatyon tüketildiği şeklinde yorumlanabilirken bizim çalışmamızda artmış oksidatif stresi azaltmak için dokunun antioksidan kapasiteyi artırarak glutatyon düzeyini yükselttiği şeklinde yorumlanabilir.

Bu çalışmada 3 mg/kg ve 6 mg/kg doz DNP verilen ratların mide dokusu incelendiğinde akut uygulama yapılan dişi bireyler hariç uygulanan DNP' nin dozu arttıkça NOx seviyesinin azaldığı gözlenmiştir.

Mide dokusu PC düzeyi doz bazında incelendiğinde istatistiki bakımdan anlamlı sonuçlar elde edilememiştir.

Düşük doz ve yüksek doz DNP verilen ratların mide dokusu incelendiğinde uygulanan DNP' nin dozu arttıkça AA seviyesinin azaldığı gözlenmiştir.

Bu sonuçlar göstermektedir ki değişen doku antioksidan kapasitelerinde GSH ve AA düzeyleri arasında sıkı bir ilişki vardır. Glutatyon ve askorbik asit arasındaki antioksidan kapasiteyi güçlendirme veya reaktif oksijen türlerini ortadan kaldırma anlamında birbiri ile hareket eden bir değişim söz konusudur [104].

Askorbik asidin azalması, onun oksitlenmesi sonucu glutatyonun rejenere olması anlamına gelebilir. Bu, glutatyonun hücrelerde daha etkin bir antioksidan olarak kalmasına yardımcı olabilir.

Askorbik asit düzeyinin azalmış olması, hücrelerdeki oksidatif stresin artmış olması ile ilişkili olabilir. Bu durum, hücrelerin glutatyonu daha fazla üretmesine neden olmuş olabilir. Hücreler, askorbik asit seviyeleri düşükken, glutatyon üretimini artırarak antioksidan savunma sistemini koruma mekanizması geliştirmiş olabilir. Sonuç itibarıyla GSH ve AA arasında oksidatif stresi bertaraf etmek için ortak bir savunma stratejisi olduğunu düşünmekteyiz.

3 mg/kg ve 6 mg/kg doz DNP verilen ratların duodenum dokusu incelendiğinde; uygulanan DNP' nin dozu arttıkça MDA seviyesinin mide dokusunun aksine azaldığı gözlenmiştir. Bu durum DNP' nin bağırsak mikrobiyotası tarafından metabolize edilmesi ve daha az toksik

olan 2-amino-4-nitrofenol, 4-amino-2-nitrofenol ve 2,4-diaminofenol gibi metabolitlere dönüştürülmesinden dolayı mideye kıyasla duodenum dokusunda oksidatif stresin daha az olduğu şeklinde yorumlanabilir [27].

Bu çalışmada düşük ve yüksek doz DNP verilen ratların duodenum dokusu incelendiğinde kronik uygulama yapılan erkek ratlar hariç uygulanan DNP' nin dozu arttıkça mide dokusuna benzer şekilde GSH seviyesinin de arttığı gözlenmiştir.

Duodenum dokusu NOx düzeyi incelendiğinde 3 mg/kg ve 6 mg/kg doz DNP verilen ratlardan akut uygulama yapılan dişiler hariç uygulanan DNP' nin dozu arttıkça mide dokusuna benzer şekilde NOx seviyesinin azaldığı gözlenmiştir.

Bu çalışmada 3 mg/kg ve 6 mg/kg doz DNP verilen ratların duodenum dokusu incelendiğinde PC düzeylerinde istatistiki bakımdan anlamlı sonuçlar elde edilememiştir.

Duodenum dokusu AA düzeyi incelendiğinde akut uygulama yapılan erkek ratlar hariç uygulanan DNP' nin dozu arttıkça AA seviyesinin azaldığı gözlenmiştir.

İleum dokusu MDA düzeyi incelendiğinde uygulanan DNP' nin dozu arttıkça akut uygulamalarda MDA seviyesi artarken kronik uygulamalarda MDA seviyesi azalmıştır. Uzun süre kullanım ratlarda ilacı tolere etme oranını arttırmış ve oksidan etkiyi azaltmış olabilir. Ayrıca bu durum ilacın ileum dokusunda duodenuma göre daha az emilmesinden dolayı antioksidan kapasiteyi güçlendirmede daha geç etki etmesine neden olmuş olabilir.

Bu çalışmada 3 mg/kg ve 6 mg/kg doz DNP verilen ratlar incelendiğinde akut uygulama yapılan erkek ratlar hariç uygulanan DNP' nin dozu arttıkça GSH seviyesinin de arttığı gözlenmiştir.

İleum dokusu MDA düzeyi ve GSH düzeyi incelendiğinde özellikle yüksek doz uygulanan gruplarda DNP oksidatif stresi azaltıcı etki göstermiştir. Çalışma sonuçlarımızı destekler şekilde 2014 yılında Lu Fang ve arkadaşları tarafından yayınlanan sarı yüzgeçli kedibalığı ile yapılan bir çalışmada mitokondriyal ayrıştırıcı bir kimyasal protonofor olan 2,4-dinitrofenol (DNP) ile inkübe edilen spermde, ROT üretiminde azalma ve lipid peroksidasyonunda azalma ile birlikte post-thaw sperm canlılığında artış gösterilmiştir [146]. Ayrıca 2017 yılında Bin Wu ve arkadaşları tarafından yayınlanan çalışmada, N171-

82Q Huntington hastalığı (HD) fare modelinde düşük dozda (1 mg/kg/gün) DNP tedavisinin HD farelerinin motor fonksiyonunu önemli ölçüde iyileştirdiği ve oksidatif stresi azalttığı gösterilmiştir [147].

Bu çalışmada 3 mg/kg ve 6 mg/kg doz DNP verilen ratların ileum dokusu incelendiğinde uygulanan DNP' nin dozu arttıkça NOx seviyesinin azaldığı gözlenmiştir.

Üç doku örneğine bakıldığında benzer şekilde DNP' nin dozu arttıkça NOx düzeyi azalmıştır. Bizim çalışmamızı destekler nitelikte 2019 yılında Yoshio Bando ve John G. Geisler tarafından yayınlanan çalışmada, DNP' nin prodrugu olan MP101 ve MP201' in, spinal kordlarda beyinde türetilmiş sinir hücresi büyüme faktörünün (BDNF' nin) önemli ve sürdürülebilir artışını indüklediği ayrıca IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  ve iNOS dahil olmak üzere inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu baskıladığı belirtilmiştir [148]. DNP' nin varlığı inflamatuvar sitokinleri baskılamıştır ve bu baskılanmanın NOx üretimini de azaltmış olmasından dolayı [108] incelemiş olduğumuz her üç dokuda da NOx düzeyleri düşük bulunmuştur.

İleum dokusu PC düzeyleri incelendiğinde istatistiki bakımdan anlamlı sonuçlar elde edilememiştir.

DNP doğrudan glikoz ve yağ metabolizmasını etkilerken [6], hücrel enerji dengesini bozarak protein metabolizmasını da dolaylı olarak etkileyebilir. Ancak, uygulama dozları ve süreleri incelendiğinde zararlı olarak bilinen DNP' nin hücrede önemli fizyolojik reaksiyonları olan proteinler üzerine hasar verici bir etkisinin olmadığı hem dişi hem erkek ratlarda tespit edilmiştir.

Üç doku örneğinde de DNP uygulaması sonucu PC düzeylerinde istatistiki olarak anlamlı sonuçlar elde edilememiş olsa da özellikle duodenum ve ileum dokularında artan DNP dozu ile beraber PC düzeyinin azalması, oksidasyonun azaldığı şeklinde yorumlanabilir. Bizim sonuçlarımızla paralel olarak Camille C. Caldeira da Silva ve arkadaşları tarafından 2008 yılında yapılan çalışmada deneklere verilen DNP' nin beyin, kalp ve karaciğer dokularında PC düzeylerini azalttığı hatta uygulama süresi arttıkça oksidasyonu daha da azalttığını göstermiştir [144]. Bu sonuçlar göstermektedir ki uygulama dozlarımız hücrelerde protein hasarına neden olmamaktadır.

İleum dokusu AA düzeyi incelendiğinde akut uygulama yapılan dişi bireyler hariç uygulanan DNP' nin dozu arttıkça AA seviyesi de artmıştır.

Mide ve duodenum dokularındaki glutatyon ve askorbik asit arasındaki negatif korelasyonun aksine ileumda hem glutatyon hem de askorbik asit düzeyleri doz artımı ile artmıştır. Bu durum DNP' nin ve metabolitlerinin ileumda daha da az olmasından ve bağırsak epitel hücrelerinden kendisinin ve metabolitlerinin hızlı bir şekilde geçmesinden kaynaklanmış olabilir.

Bu çalışmada ratlara verilen DNP' nin süresi uzadıkça mide dokusunda MDA düzeyleri azalırken duodenum dokusunda artmaktadır. Ayrıca diğer parametreler iki dokuda da benzer şekilde değişmektedir. Bu durum DNP' nin emiliminin duodenum dokusunda mideye kıyasla daha hızlı olmasından dolayı toksik etkinin de daha fazla olduğu şeklinde yorumlanabilir.

DNP uygulaması yapılan ratlar cinsiyet bazında karşılaştırıldığında dişi ratların mide, duodenum ve İleum dokularında MDA seviyeleri erkeklere kıyasla daha düşükken GSH ve AA düzeyleri de daha yüksektir. Bu durum ilacın dişilerde antioksidan kapasiteyi arttırmada daha etkili olduğu şeklinde yorumlanabilir.

Çalışmamızda serum IL-1  $\beta$  düzeylerine baktığımızda hem dişi hem de erkek ratlarda doz ve süre arttıkça istatistiksel olarak artış görülmüştür. Sadece 3 mg/kg doz DNP uygulanan 7 günlük dişilerde kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir azalma bulunmuştur. Serum TNF- $\alpha$  düzeylerine baktığımızda uygulama süresi uzadıkça hem dişi hem de erkek ratlarda TNF- $\alpha$  miktarı da artmıştır. Uygulanan DNP dozu arttıkça erkeklerde TNF- $\alpha$  artarken dişilerde doz arttıkça TNF- $\alpha$  düzeyleri azalmıştır. Bizim çalışmamız gibi cinsiyet bazında farklılıkları vermese de 2019 yılında Yoshio Bando ve John G. Geisler tarafından yayınlanan çalışmada DNP' nin spinal kordlarda inflamatuvar sitokinlerden olan IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  ekspresyonunu baskıladığı belirtmiştir [148]. Bu bulgular son yıllarda DNP' nin düşük dozlarda inflamasyonu ve oksidatif stresi azaltarak nöroprotektif etkili bir protonofor olduğunu destekler niteliktedir.

Geçmişte ve günümüzde kilo kaybı ajanı olarak kullanılan 2,4-dinitrofenol (DNP) yüksek dozlarda toksik etkili olsa da düşük dozlarda kullanıldığında oksidan oluşumunu azaltarak

oksidatif stresi azaltmaktadır [11]. Oksidatif stres GİS dahil pek çok doku ve organı etkilemektedir. Gastrointestinal sistemde oluşan oksidatif stres parkinson ve alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıklara; chorn ve ülseratif kolit gibi inflamatuvar bağırsak hastalıklarına hatta kansere neden olmaktadır. Bu sebeple GİS’ lerdeki oksidatif stresi azaltarak pek çok hastalığın da önlenebileceği çıkarımında bulunabiliriz.

Daniela Filipa Costa e Sousa 2017 yılında yayınladığı tez çalışmasında 1916 - 2016 yılları arasında DNP alarak hayatını kaybeden 30 ölüm vakasını bildirmiştir [44]. Bu ölümcül rapora baktığımızda, ölümlerin farklı doz ve cinsiyetlerde meydana geldiği görülmektedir. Bu durum bireylerin ilaca karşı tolerans farkını yani bireyler arasındaki antioksidan kapasite farkını göstermektedir. Bizim çalışmamızda da farklı doz, süre ve cinsiyetlerde değişen toksisite, tolerans farkı ile ilişkilendirilebilir. Ayrıca üç farklı dokuda da farklı antioksidan kapasite gözlenmiştir. Bu durum DNP’ nin dokulardaki emilim ve metabolize olma farkından kaynaklanmış olabilir.

Çalışmamız 2,4-DNP uygulamasının GİS üzerindeki etkilerini anlamaya yönelik olarak yapılan son derece değerli bir çalışmadır. Yapılan literatür taramasında DNP’ nin GİS’ teki etkilerine yönelik çalışma bulunamamıştır. Bu nedenle çalışmamız bizden sonraki araştırmalara ışık tutacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Grundlingh, J., Dargan, P. I., El-Zanfaly, M. and Wood, D. M. (2011). 2, 4-dinitrophenol (DNP): a weight loss agent with significant acute toxicity and risk of death. *Journal of Medical Toxicology*, 7(3), 205.
2. Harris, M. O. and Corcoran, J. J. (1995). *Toxicological profile for dinitrophenols*. (1. Baskı). Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, 1-78.
3. Hoxha, B. and Petroczi, A. (2015). Playing with fire? Factors influencing risk willingness with the unlicensed fat burner drug 2, 4-Dinitrophenol (DNP) in young adults. *Public Health*, 129(11), 1519-1522.
4. Büyüksulu, N. ve Yiğitbaşı, T. (2015). Reaktif oksijen türleri ve obezitede oksidatif stres. *Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 5(3), 197-203.
5. Büyükgüzel, E. (2013). Protein oksidasyonun biyokimyasal ve moleküler mekanizması. *Karaelmas Science And Engineering Journal*, 3(1), 40-51.
6. Cater, M. Ve Bombek., L. K. (2022). Protective role of mitochondrial uncoupling proteins against age-related oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *Antioxidants*, 11(1473), 1-21.
7. Kowalczyk, P., Sulejczak, D., Kleczkowska, P., Bukowska-Ósko, I., Kucia, M., Popiel, M., Wietrak, E., Kramkowski, K., Wrzosek, K., and Kaczyńska, K. (2021). Mitochondrial oxidative stress—a causative factor and therapeutic target in many diseases. *International Journal Of Molecular Sciences*, 22, 1-18.
8. Sabuncular, G., Akbulut, G. and Yaman, M. (2021). Ette lipit oksidasyonu ve etkileyen faktörler. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (27), 362-369.
9. Bigagli, E. and Lodovici, M. (2019). Circulating oxidative stress biomarkers in clinical studies on type 2 diabetes and its complications. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 5, 1-17.
10. Schoultz, İ., Soöderholm, J. D. ve Mckay, D. M. (2011). Is metabolic stress a common denominator in inflammatory bowel disease?. *Inflammatory Bowel Diseases*, 17, 2008-2018.
11. Lozinsky, O. V., Lushchak, V., Storey, J. M., Storey, K. B., and Lushchak, V. I. (2013). The mitochondrial uncoupler 2, 4-dinitrophenol attenuates sodium nitroprusside-induced toxicity in *Drosophila melanogaster*: Potential involvement of free radicals. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 158(4), 244-252.
12. Pillai, İ. M. S. and Gupta, A. K. (2015). Batch and continuous flow anodic oxidation of 2,4-dinitrophenol: modeling, degradation pathway and toxicity. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 756, 108-117.

13. Liu, D., Zhang, Y., Gharavi, R., Park, H. R., Lee, J., Siddiqui, S., Telljohann, R., Nassar, M.R., Cutler, R. G., Becker, K. G. and Mattson, M. P. (2015). The mitochondrial uncoupler DNP triggers brain cell mTOR signaling network reprogramming and CREB pathway up- regulation. *Journal of Neurochemistry*, 134(4), 677-692.
14. Ost, M., Keipert, S. and Klaus, S. (2017). Targeted mitochondrial uncoupling beyond ucp1 the fine line between death and metabolic health. *Biochimie*, 134, 77-85.
15. Hubbard, W. B., Vekaria, H. J., Velmurugan, G. V., Kalimon, O. J., Prajapati, P., Brown, E., Geisler, J. G. and Sullivan, P. G. (2023). Mitochondrial dysfunction after repeated mild blast traumatic brain injury is attenuated by a mild mitochondrial uncoupling prodrug. *Journal of Neurotrauma*, 478, 1161–1168.
16. Dorighello, G. D., Rovani, J. C., Paim, B. A., Rentz, T., Assis, L.H.P., Vercesi, A.E. and Oliveira, H.C.F. (2022). Mild Mitochondrial Uncoupling Decreases Experimental Atherosclerosis, A Proof of Concept. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*, 29, 825-838.
17. Hubbard, W. B., Harwood, C.L., Geisler, J.G., Vekaria, H.J. and Sullivan, P.G. (2018). Mitochondrial uncoupling prodrug improves tissue sparing, cognitive outcome, and mitochondrial bioenergetics after traumatic brain injury in male mice. *Journal of Neuroscience Research*, 96 (10), 1677–1688.
18. Madeiro da Costa, R. F., Blanco Martinez, A. M. and Ferreira, S. T. (2010). 2,4-Dinitrophenol blocks neurodegeneration and preserves sciatic nerve function after trauma. *Journal of Neurotrauma*, 27 (5), 829–841.
19. Wang, Y., Chen, Y., Zhang, X., Lu, Y. and Chen, H. (2020). New insights in intestinal oxidative stress damage and the health intervention effects of nutrients: A review. *Journal of Functional Foods*, 75, 1-17.
20. Aribal, P., Alver, E. N., Kaltalioglu, K., Balabanli, B., Ebegil, M. and Cevher, Ş.C. (2023). The relationship between experimental 2,4-Dinitrophenol administration and neurological oxidative stress: in terms of dose, time and gender differences. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 478, 1161–1168.
21. Colman, E. (2007). Dinitrophenol and obesity: an early twentieth-century regulatory dilemma. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 48(2), 115-117.
22. Dumitraş Huţanu, C. A., Zaharia, M., and Pintilie, O. (2013). Quenching of tryptophan fluorescence in the presence of 2, 4-DNP, 2, 6-DNP, 2, 4-DNA and DNOC and their mechanism of toxicity. *Molecules*, 18(2), 2266-2280
23. Aribal, P. (2020). 2,4 dinitrofenol uygulamasının karaciğer ve böbrek dokularında oksidatif stres üzerine etkisinin araştırılması. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 4-25.
24. Adamczuk, G., Humeniuk, E., Adamczuk, K., Grabarska, A. and Dudka, J. (2022). 2,4-Dinitrophenol as an uncoupler augments the anthracyclines toxicity against prostate cancer cells. *Molecules*, 27, 1-14.

25. Terada, H. (1990). Uncouplers of oxidative phosphorylation. *Environmental Health Perspectives*, 87, 213-218.
26. Lee, H. C. H., Law, C. Y., Chen, M. L., Lam, Y. H., Chan, A. Y. W. and Mak, T. W. L. (2014). 2,4-Dinitrophenol: A threat to Chinese body-conscious groups. *Journal of the Chinese Medical Association*, 77(8), 443-445.
27. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2021). *Toxicological profile for dinitrophenols*. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, 1-88.
28. Zhao, X.-h., Jiang, J.-k., and Lu, Y.-q. (2015). Evaluation of efficacy of resin hemoperfusion in patients with acute 2,4-dinitrophenol poisoning by dynamic monitoring of plasma toxin concentration. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B (Biomedicine & Biotechnology)*, 16(8), 720–726.
29. Sousa, D., Carmo, H., Bravo, R. R., Carvalho, F., Bastos, M. L., Guedes de Pinho, P., and Dias da Silva, D. (2020). Diet aid or aid to die: An update on 2,4-dinitrophenol (2,4-DNP) use as a weight-loss product. *Archives of Toxicology*, 94, 1071–1083.
30. Eiseman, J. L., Gehring, P. J., and Gibson, J. E. (1972). The in vitro metabolism of 2,4-dinitrophenol by rat liver homogenates. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 21(2), 275–285.
31. Petróczi, A., Ocampo, J. A., Shah, I., Jenkinson, C., New, R., James, R. A., Taylor, G. and Naughton, D. P (2015). Russian roulette with unlicensed fat-burner drug 2, 4-dinitrophenol (DNP): evidence from a multidisciplinary study of the internet, bodybuilding supplements and DNP users. *Substance Abuse Treatment, Prevention and Policy*, 10(1), 39.
32. Yen, M. and Ewald, M. B. (2012). Toxicity of weight loss agents. *Journal of Medical Toxicology*, 8(2), 145-152.
33. Tainter, M.L., Cutting, W.C. and Stockton, A.B. (1934). Use of dinitrophenol in nutritional disorders. *American Journal of Public Health and the Nations Health*, 24, 1045– 1053.
34. Colman, E. (2007). Dinitrophenol and obesity: an early twentieth-century regulatory dilemma. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 48(2), 115-117.
35. Abdelati, A., Burns, M.M. and Chary, M. (2023). Sublethal toxicities of 2,4-dinitrophenol as inferred from online self-reports. *Plos One*, 18(9)
36. Jiukun, J., Zhihua, Y., Weidong, H. and Jiezan, W. (2010). 2, 4-dinitrophenol poisoning caused by non-oral exposure. *Toxicology and Industrial Health*, 27(4), 323-327.
37. Le, P., Wood, B. and Kumarasinghe, S. P. (2015). Cutaneous drug toxicity from 2,4-dinitrophenol (DNP): Case report and histological description. *Australasian Journal of Dermatology*, 56(4), 307-309.

38. Kamour, A., George, N., Gwynnette, D., Cooper, G., Lupton, D., Eddleston, M., Thompson, J.P., Vale, J.A., Thanacoody, H.K.R., Hill, S. and Thomas, S.H.L. (2015). Increasing frequency of severe clinical toxicity after use of 2,4-dinitrophenol in the UK: a report from the National Poisons Information Service. *Emergency Medicine Journal*, 32, 383–386.
39. Boardman, W.W. (1935). Rapidly developing cataracts after dinitrophenol. *California and Western Medicine*, 43(2), 118-119.
40. Sweeney, L.M., Goodwin, M.R., Hulgan, A.D., Gut Jr, C. P. and Bannon, D. I. (2015). Toxicokinetic model development for the insensitive munitions component 2,4-dinitroanisole. *International Journal of Toxicology*, 34(5), 417-432.
41. Türkay, M., Karayel, A., Uysal, E., Sevdı, M.S., Erkalp, K. and Alagol, A. (2014). 2,4-Dinitrophenol toxicity-bound mortality in patients doing bodybuilding. *International Journal of Scientific Research*, 3, 307-309.
42. Bartlett, J., Brunner, M. and Gough, K. (2010). Deliberate poisoning with dinitrophenol (DNP): an unlicensed weight loss pill. *Emergency Medicine Journal*, 27, 159–160.
43. İnternet: Dnp kullanımına bağılı ölüm ile ilgili haber. Web: <https://haber.sol.org.tr/toplum/internetten-satin-aldiri-zayiflama-hapini-bir-gun-kullandi-hayatini-kaybetti-206782> Son Erişim Tarihi: 22.05.2024.
44. Costa e Sousa, D. F. (2017). *Chemical identification of 2,4-dinitrophenol (2,4-DNP) by GCMS in 'fat burners' and studies of its in vitro hepatotoxicity*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Porto Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Portekiz, 3-25.
45. Hoxha, B. and Petroczi, A. (2015). Playing with fire? Factors influencing risk willingness with the unlicensed fat burner drug 2, 4-Dinitrophenol (DNP) in young adults. *Public Health*, 129(11), 1519-1522.
46. Rui, L. (2019). New antidiabetes agent targeting both mitochondrial uncoupling and pyruvate catabolism: Two birds with one stone. *Diabetes*, 68, 2195–2196.
47. Coşkun, A. (2011). Hücrenin enerji santrali mitokondri. *Bilim Teknik*, 2, 669-677.
48. İbiş, E. (2020). *İnsan spermelerinde kriyoprezervasyon sonrası papaverin uygulamasının sperm parametreleri ve apoptoz üzerine etkisinin değerlendirilmesi*. Yayınlanmamış Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2-36.
49. Kayacılar, C. (2009). *Doğal yaşlanma sürecindeki insan beyinlerinin karşılaştırmalı mitokondriyal proteomik analizleri*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 9-35.
50. Koç, F. and Sarıca, Y. (2003). Mitokondri; biyokimyası. *Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı*, 12(5), 20-33.

51. İnternet: Ankra Üniversitesi' nin oksidatif fosforilasyonu anlatan ders notları. Web: [https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/52072/mod\\_resource/content/0/Biyolojik%20Oksidasyon.pdf](https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/52072/mod_resource/content/0/Biyolojik%20Oksidasyon.pdf) Son Erişim Tarihi: 18.05.2024.
52. İnternet: Oksijenli solunum ile ATP' nin oluşum aşamaları Web: <https://www.biyolojievreni.com/12-sinif-konulari/hucresel-solunum-ve-o2-li-solunum/> Son Erişim Tarihi: 21.06.2024.
53. İnternet: Nevşehir Üniversitesi' nin oksidatif fosforilasyon, fotooksidasyon ve fotosentez konulu sunumu. Web: <https://sistem.nevsehir.edu.tr/bizdosyalar/0193398843737a538a134e0ba0b641e8/5.Oksidatif%20fosforilasyon.pdf> Son Erişim Tarihi: 18.05.2024.
54. Şimşek, G. and Kandilci, H.B. (2018). Hipoksi-Reoksijenasyon ile İndüklenen Kardiyak Mitokondriyal Disfonksiyon. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 71(3), 139-144.
55. Kılıç, Z. (2021). *Mısır bitkisinin (Zea mays PL.) düşük sıcaklık stresi cevabında bazı protonoforların solunum elektron taşıma proteinleri üzerinde etkileri*. Yayınlanmamış Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 3-17.
56. İnternet: Elektron taşıma zinciri kompleksi (kompleks I-IV). Web: <https://docplayer.biz.tr/195383353-Mitokondri-prof-dr-nuriye-akev.html> Son Erişim Tarihi: 21.06.2024.
57. Oğuz, Ş.S. and Akşit, M.A. (2018). Elektron transport/transfer sistemi, ATP, enerji temini ve hipoksi. *Türk Dünyası Uygulama ve Araştırma Merkezi Yenidoğan Dergisi*, 129-147.
58. İnternet: ATP sentaz kompleksi. Web: [https://slideplayer.biz.tr/slide/3148853/#google\\_vignette](https://slideplayer.biz.tr/slide/3148853/#google_vignette) Son Erişim Tarihi: 21.06.2024.
59. Martinez, J.A. (2006). Mitochondrial oxidative stress and inflammation: an slalom to obesity and insulin resistance. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 62 (4), 303-306.
60. Taşkın, E. (2010). *Sıçanlarda adriyamisin ile in vivo oluşturulan kalp fonksiyon bozukluğunda reninangiotensin sisteminin rolü*. Yayınlanmamış Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 2-19.
61. Geisler, J. (2019). 2,4 Dinitrophenol as medicine. *Cells*, 8, 280-316.
62. Çiftçi, N. (2017). Hücre içi kalsiyum sinyali, apoptoz ve kanser progresyonunda kalsiyum kanallarının (vcc, trp ve soc kanalları) rolü. *Marmara Çalışmaları Birliği Sosyal Bilimler Eğitim Dergisi*, 4(3): 1021-1027.
63. Atagün, G., Eren, Z. and Gürkanlı, İ. (2011). Apoptoziste mitokondrinin rolü. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 4 (2), 49-53.
64. Mirabella, M., Giovanni, S.D., Silvestri, G., Tonali, P., Servidei, S. (2000). Apoptosis in mitochondrial encephalomyopathies with mitochondrial DNA mutations: a potential pathogenic mechanism. *Brain*, 123, 93-104.

65. Jeong, S.Y. and Seol, D.W. (2008). The role of mitochondria in apoptosis. *BMP Reports*, 41 (1), 11-22.
66. Vringer, E. and Tait, S.W.G. (2019). Mitochondria and inflammation: Cell death heats up. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 7, 20-26.
67. Sarı, M.A. (2022). *Futbolcularda üzüm suyu takviyesinin oksidatif stres ve eşleşme bozucu protein düzeylerine etkilerinin araştırılması*. Yayınlanmamış Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elâzığ, 7-25.
68. Kang, Y. and Chen, L. (2023). Structural basis for the binding of DNP and purine nucleotides onto UCP1. *Nature*, 620, 226- 231.
69. Goedeke, L., Murt, K. N., Di Francesco, A., Camporez, J. P., Nasiri, A. R., Wang, Y., Zhang, X.-M., Cline, G. W., de Cabo, R., and Shulman, G. I. (2021). Sex- and strain-specific effects of mitochondrial uncoupling on age-related metabolic diseases in high-fat diet-fed mice. *Aging Cell*, 21, 50-66.
70. Juan, C.A., Lastra, J.M.P., Plou, F.J. and Leber, E.P. (2021). The chemistry of reactive oxygen species (ROS) revisited: Outlining their role in biological macromolecules (DNA, lipids and proteins) and induced pathologies. *International Journal Molecular Sciences*, 22, 4642.
71. Liang, S., Li, Z., Bao, C., Liu, B., Zhang, H., Yuan, Y., Yan, H., Chen, S., Zhang, H., Shi, W., Ren, F. and Li, Y. (2023). Non-cardiotoxic tetradecanoic acid-2,4-dinitrophenol ester nanomicelles in microneedles exert potent anti-obesity effect by regulating adipocyte browning and lipogenesis. *Small*, 19, 230-243.
72. Chauchat, J.R. (2020). *Akut maksimal bir egzersizin serum eşleşme bozucu protein 1 (ucp1) düzeyi üzerine etkisi ve ucp1-3826 a/g polimorfizminin rolü*. Yayınlanmamış Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 6-18.
73. Bertholet, A. M., Natale, A. M., Bisignano, P., Suzuki, J., Fedorenko, A., Hamilton, J., Brustovetsky, T., Kazak, L., Garrity, R., Chouchani, E. T., Brustovetsky, N., Grabe, M. and Kirichok, Y. (2022). Mitochondrial uncouplers induce proton leak by activating AAC and UCP1. *Nature*, 606, 180-187.
74. Bardallo, R. G., Company-Marin, I., Folch-Puy, E., Roselló-Catafau, J., Panisello-Rosello, A. and Carbonell, T. (2022). PEG35 and glutathione improve mitochondrial function and reduce oxidative stress in cold fatty liver graft preservation. *Antioxidants*, 11, 158-171.
75. Rognstad, R., Katz, J. (1969). The effect of 2,4-dinitrophenol on adipose-tissue metabolism. *Biochemical Journal*, 111, 431-444.
76. McIlwain, H. and Gore, M.B.R. (1951). Actions of electrical stimulation and of 2:4-Dinitrophenol on the phosphates in sections of mammalian brain in vitro. *Biochemical Journal*, 50, 24-28.
77. Hacığlu, C. and Kar, F. (2022). Oksidatif, apoptotik ve inflamatuvar sinyal yolları üzerinden C6 glioblastoma hücrelerindeki ML351'in antiproliferatif etkileri. *Sağlık Bilimlerinde Değer*, 12(1): 36-42

78. Aktan, A.K. (2018). *Yaşlanma sürecinde hücre ölüm mekanizmalarının araştırılması*. Yayınlanmamış Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 3-19.
79. Koca, N., Karadeniz, F. (2003) Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve vücuttaki antioksidan savunma sistemleri. *Gıda Mühendisleri Dergisi*, 16, 32-37.
80. Aslankoç, R., Demirci, D., İnan, Ü., Yıldız, M., Öztürk, A., Çetin, M., Savran, E.Ş. and Yılmaz, B. (2019). The role of antioxidant enzymes in oxidative stress- superoxide dismutase (Sod), catalase (Cat) and glutathione peroxidase (Gpx). *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 26(3), 362-369.
81. Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G. and Yönden, Z. (2015). Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6(3), 331-336.
82. Abueid, L. (2015). *Sıçan miyokard infarktüsü modelinde 5-lipoksijenaz inhibisyonunun etkisi ve siklooksijenaz sistemiyle etkileşimi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 4-21.
83. Karabulut, H. and Gülay, M. Ş. (2016). Serbest Radikaller. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4(1), 50-59.
84. Poljsak, B., Šuput, D. and Milisav, I. (2013). Achieving the balance between ROS and antioxidants: When to use the synthetic antioxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 20, 40-51.
85. Lin, Y., Lin, Y., Lin, M., Fan, Z. and Lin, H. (2021). Influence of hydrogen peroxide on the ROS metabolism and its relationship to pulp breakdown of fresh longan during storage. *Food Chemistry: X*, 12, 70-78.
86. Küçükkepeci, H. (2023). *Kritik hastalarda ekstrakorporeal sitokin eliminasyonunun hemodinami ve mortalite üzerine etkileri*. Yayınlanmamış Tıpta Uzmanlık Tezi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İstanbul, 2-25.
87. Marques, C., Mauriz, J. L., Simonetto, D., Marroni, C. A., Tuñon, M. J., González-Gallego, J. and Marroni, N. P. (2011). Glutamine prevents gastric oxidative stress in an animal model of portal hypertension gastropathy. *Annals of Hepatology*, 10(4), 531-539.
88. Khan, Z. and Ali, S. A. (2018). Oxidative stress-related biomarkers in Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis. *Iranian Journal of Neurology*, 17(3), 137-144.
89. Kuyumcu, A., Polat Düzgün, A., Özmen, M. M. and Besler, H. T. (2004). Travma ve enfeksiyonda nitrik oksidin rolü. *Turkish Journal of Trauma & Emergency Surgery*, 10(3), 149-159.
90. Can, N. (2019). Bitkisel yağların muhafazasında oksidatif stabilitenin önemi ve oksidatif stabilitenin belirlenmesinde kullanılan analiz yöntemleri. *Aksaray Üniversitesi Meslek Yüksekokulu Dergisi*, Sayı 54, 107-124.

91. Şimşek, A. (2008). *Kızartma yağlarının kararlılığı ve termal yöntemler ile kalitesinin belirlenmesi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 3-17.
92. Kiokias, S., Varzakas, T. H., Arvanitoyannis, I. S. and Labropoulos, A. E. (2009). Lipid oxidation and control of oxidation. *In Advances in Food Biochemistry*. Amsterdam: Elsevier, 383-408.
93. Oruç, H. H., Cengiz, M. and Kalkanlı, Ö. (2005). Piliç etlerinde lipid oksidasyonu sonucu oluşan malonaldehit (MA) konsantrasyonları. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 24(1-2-3-4), 7-9.
94. Tanrıku, E. (2013). *Metabolik sendromlu hastalarda protein oksidasyonunun değerlendirilmesi*. Yayınlanmamış Tıpta Uzmanlık Tezi, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kayseri, 11-19.
95. Yıldırım, Ç. (2019). *Deneyisel Alzheimer modelinde bor ve taurin uygulamasının protein karbonil ve ileri oksidasyon protein ürünleri düzeylerine etkisinin araştırılması*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 3-21.
96. Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G. and Yönden, Z. (2015). Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6(3), 331-336.
97. Kurt, N. (2008). *Yaşa bağlı olarak antioksidan enzimlerinin süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) aktivitelerinin ve malondialdehit (MDA) seviyesinin incelenmesi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 5-17.
98. Avcı, A. (2001). *Diyabet oluşturulmuş atlarda böbrek antioksidan savunma sistemleri ve E vitamininin etkileri*. Yayınlanmamış Tıpta Uzmanlık Tezi, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara, 2-14.
99. Lee, K. H., Cha, M. and Lee, B. H. (2020). Beyinde antioksidanların nörokoruyucu etkisi. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(19), 7152.
100. Lin, Y., Lin, H., Zeng, L., Zheng, Y., Chen, Y., Fan, Z. and Lin, Y. (2022). DNP and ATP regulate the pulp breakdown development in *Phomopsis longanae* Chi-infected longan fruit through modulating the ROS metabolism. *Food Chemistry: X*, 14, 100348.
101. Çubukçu, H. C. (2019). *Sigara dumanının sığır akciğer dokusunda oksidan/antioksidan sistem üzerine olan etkileri: Antioksidan özellikli bitki ekstrelerinin koruyucu etkilerinin araştırılması*. Yayınlanmamış Tıpta Uzmanlık Tezi, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara, 8-17.
102. Karabulut, E. (2016). *Gentamisinle nefrotoksisite oluşturulan sıçanlarda L-argininin koruyucu etkisi: Antioksidan mekanizmaların olası rolü*. Yayınlanmamış Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Adana, 4-22.
103. İnternet: Glutasyon (GSH) redoks döngüsü. Web: [https://slideplayer.biz.tr/slide/3101841/#google\\_vignette](https://slideplayer.biz.tr/slide/3101841/#google_vignette) Son Erişim Tarihi: 08.06.2024.

104. Prunty, F. T. G. and Vass, C. C. N. (1943). A note on the possible relationship between ascorbic acid and glutathione -in vivo. *St. Thomas's Hospital Medical School*, 37, 506–508.
105. Hopkins, F. G. and Morgan, E. J. (1936). Some relations between ascorbic acid and glutathione. *Biochemical Journal*, 30, 1446–1462.
106. Kuş, A. E. (2017). *Diyabetli ratlarda dorsolateral eksizyonel yaralara uygulanan insülin benzeri büyüme faktörü-1'ün oksidatif parametrelere etkisi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2-14.
107. Akdoğan, M. and Yöntem, M. (2018). Sitokinler. *Online Türk Sağlık Bilimleri Dergisi*, 3(1), 36-45.
108. Çakır, I. (2013). *Mide kanserli olgularda kan ve mide leptin seviyesi ile mide leptin reseptör, kan salıbl leptin reseptör, TNF- $\alpha$ , IL-6 ve solubl IL-1 decoy (tuzak) reseptör seviyelerindeki değişim*. Yayınlanmamış Tıpta Uzmanlık Tezi, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kayseri, 4-12.
109. Albayati, M. H. J. (2024). *Evaluation of the effect of hypothyroidism on inflammatory cytokines stimulation associated with oxidative stress in Iraqi patients*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çankırı, 3-14.
110. Barış, S. D. (2023). *Apikal periodontitli dişlerde Nd:yag lazer kullanımının periapikal eksudadaki TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IFN- $\gamma$  seviyeleri üzerindeki etkisinin in vivo olarak değerlendirilmesi*. Yayınlanmamış Tıpta Uzmanlık Tezi, Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Kırıkkale, 5-17.
111. Lee, J. H., Zhang, Y., Zhao, Z., Ye, X., Zhang, X., Wang, H. and Ye, J. (2017). Intracellular ATP in balance of pro- and anti-inflammatory cytokines in adipose tissue with and without tissue expansion. *International Journal of Obesity (London)*, 41(4), 645–651.
112. Kandemir, F. M., Ileriturk, M. and Gur, C. (2022). Rutin protects rat liver and kidney from sodium valproate-induced damage by attenuating oxidative stress, ER stress, inflammation, apoptosis and autophagy. *Molecular Biology Reports*, 49(6), 6063–6074.
113. Green, M. P., Harvey, A. J., Spate, L. D., Kimura, K., Thompson, J. G. and Roberts, R. M. (2016). The effects of 2,4-dinitrophenol and D-glucose concentration on the development, sex ratio, and interferon-tau (IFNT) production of bovine blastocysts. *Molecular Reproduction and Development*, 83(1), 50–60.
114. Sanchez-Alcazar, J. A., Hernandez, I., De la Torre, M. P., Garcia, I., Santiago, E., Munoz-Yague, M. T. and Solis-Herruzo, J. A. (1995). Down-regulation of tumor necrosis factor receptors by blockade of mitochondrial respiration. *The Journal of Biological Chemistry*, 270(41), 23944–23950.

115. Romaschenko, V. P., Zinovkin, R. A., Galkin, I. I., Zakharova, V. V., Panteleeva, A. A., Tokarchuk, A. V., Lyamzaev, K. G., Pletjushkina, O. Yu., Chernyak, B. V. and Popova, E. N. (2015). Low concentrations of uncouplers of oxidative phosphorylation prevent inflammatory activation of endothelial cells by tumor necrosis factor. *Biochemistry (Moscow)*, 80(5), 610-619.
116. Şahin, S. (2014). *Nörolojik etkili gastrointestinal hastalıkların bireye yönelik tedavisi için nanoteknoloji temelli probiyotik gıda takviyesi geliştirilmesi: sistematik analiz*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Nişantaşı Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, İstanbul, 2-15.
117. Taşyürek, C. (2023). *Acil servise üst gastrointestinal sistem kanaması sebebiyle başvuran hastalarda klinik özelliklerin ve prognostik risk faktörlerinin incelenmesi*. Yayınlanmamış Tıpta Uzmanlık Tezi, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kayseri, 9-17.
118. Durmuş, H. (2020). *Bilgisayarlı tomografide görülen gastrointestinal sistem ile ilgili bulgular ile endoskopi veya kolonoskopi bulgularının karşılaştırılması*. Yayınlanmamış Tıpta Uzmanlık Tezi, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Konya, 14-23.
119. İnternet: Midenin bölümleri. Web: <https://anatomytool.org/content/leiden-drawing-parts-stomach-english-labels> Son Erişim Tarihi: 21.06.2024.
120. İnternet: Mide duvarının tabakaları. Web: <https://slideplayer.biz.tr/slide/7449159/> Son Erişim Tarihi: 21.06.2024.
121. Yalmanlı, E. (2019). *Melatonin uygulanan ratların incebağırsaklarında (duodenum, jejunum, ileum) motilin ve ghrelin'in immünohistokimyasal lokalizasyonu*. Yayınlanmamış Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kars, 14-35.
122. İnternet: İnce bağırsağın bölümleri. Web: <http://www.biyolojisesitesi.net/uniteler/sindirim/ince-bagirsak.html> Son Erişim Tarihi: 21.06.2024.
123. İpek, E. D. (2015). *Deneyisel diyabet oluşturulmuş sıçanlarda melatonin uygulamasının duodenum üzerindeki etkisinin morfolojik olarak incelenmesi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 4-14.
124. Özesmer, H. (2023). *Ratlarda oluşturulan süperior mezenterik arter iskemisinde sesamin'in ileum üzerindeki koruyucu etkinliği*. Yayınlanmamış Tıpta Uzmanlık Tezi, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Diyarbakır, 3-17.
125. Coşkun, A. (2016). *NGAL'in (Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin) akut gastrointestinal sistem kanamalarında ortaya çıkabilecek böbrek fonksiyon bozukluğunu erken öngörmedeki rolü ve prognostik etkisi*. Yayınlanmamış Tıpta Uzmanlık Tezi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Rize, 3-29.
126. İnternet: Kalın bağırsağın bölümleri. Web: <http://www.biyolojisesitesi.net/uniteler/sindirim/kalin-bagirsak.html> Son Erişim Tarihi: 21.06.2024.

127. Pınar, İ. (2014). *Konvansiyonel kolonoskopi ile geçilemeyen obstrüktif kolon kitlesi ya da dolikokolon olan olguların 64 kesitli bilgisayarlı tomografi sanal kolonoskopi ile değerlendirilmesi*. Yayınlanmamış Tıpta Uzmanlık Tezi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Edirne, 2-25.
128. Cantürk, A. (2023). *Lokal ileri rektum kanserinin neoadjuvan KRT'ye vereceği yanıt yüksek rezolüsyonlu rektum MRG'nin kullanıldığı radyomiks ile öngörülebilir mi?* Yayınlanmamış Uzmanlık Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, İzmir, 2-14.
129. Aytaç, M. (2024). *Üniversite sınavına hazırlık sürecinde sınav kaygısının beslenme durumu ve gastrointestinal semptomlar üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 7-21.
130. Usta, G. (2020). *Süt dişlenme dönemindeki çocukların ağız mikrobiyotasının otizm spektrum bozuklukları ile ilişkisinin değerlendirilme*. Yayınlanmamış Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 6-19.
131. Baykal, Y., Özet, G. and Özdemir, Ç. (1999). Enterik sinir sistemi ve hastalıklardaki rolü. *Türkiye Klinik Tıp Bilimleri*, 19, 40-47.
132. Wei, L., Li, Y., Chang, Q., Guo, G. and Lan, R. (2021). Effects of chitosan oligosaccharides on intestinal oxidative stress and inflammation response in heat stressed rats. *Experimental Animals*, 70 (1), 45-53.
133. Bhattacharyya, A., Chattopadhyay, R., Mitra, S. and Crowe, S. E. (2014). Oxidative stress: An essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. *Physiological Reviews*, 94, 329-354.
134. Vona, R., Pallotta, L., Cappelletti, M., Severi, C. and Matarrese, P. (2021). The impact of oxidative stress in human pathology: Focus on gastrointestinal disorders. *Antioxidants*, 10, 201.
135. Alaca, G., Kaner, G. and Yurtdaş, G. (2022). Ketojenik diyetin dirençli epilepsi üzerine etkisine güncel bakış. *İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*, 7(1), 123-128.
136. Suzuki, H., Nishizawa, T., Tsugawa, H., Mogami, S. and Hibi, T. (2012). Roles of oxidative stress in stomach disorders. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 50(1), 35-39.
137. Sahoo, D. K., Heilmann, R. M., Paital, B., Patel, A., Yadav, V. K., Wong, D. and Jergens, A. E. (2023). Oxidative stress, hormones, and effects of natural antioxidants on intestinal inflammation in inflammatory bowel disease. *Frontiers in Endocrinology*, 14, 1217165.
138. Stavely, R., Ott, L. C., Rashidi, N., Sakkal, S. and Nurgali, K. (2023). The oxidative stress and nervous distress connection in gastrointestinal disorders. *Biomolecules*, 13, 1586.
139. Buege, A. and Aust, S.D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, 52, 302-310.

140. Aykaç, G., Uysal, M., Yalçın, A. S., Koçak-Toker, N., Sivas, A. and Öz, H. (1985). The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicology*, 36(1), 71-76.
141. Miranda, K.M., Espey, M. G. and Wink, D.A. (2001). A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide: Biology and Chemistry*, 5(1), 62-71.
142. Berger, J., Shepard, D., Morrow, F. and Taylor, A. (1989). Relationship between dietary intake and tissue levels of reduced and total vitamin C in the nonscorbutic guinea pig. *Journal of Nutrition*, 119(5), 734-740.
143. Reznick, A.Z and Packer, L. (1994). Oxidative damage to protein: spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods in Enzymology*, 233, 357- 363.
144. Caldeira da Silva, C.C., Cerqueira, F.M., Barbosa, L.F., Medeiros, M.H. and Kowaltowski, A.J. (2008). Mild mitochondrial uncoupling in mice affects energy metabolism, redox balance and longevity. *Aging Cell*, 7(4), 552-560.
145. Han, Y. H., Kim, S. H. and Park, W. H. (2008). 2,4-Dinitrophenol induces apoptosis in As4.1 juxtaglomerular cells through rapid depletion of GSH. *Cell Biology International*. 32, 1536-1545.
146. Fang, L., Bai, C., Chen, Y., Dai, J., Xiang, Y., Ji, X., Huang, C. and Dong, Q. (2014). Inhibition of ROS production through mitochondria-targeted antioxidant and mitochondrial uncoupling increases post-thaw sperm viability in yellow catfish. *Cryobiology*, 69, 386-393.
147. Wu, B., Jiang, M., Peng, Q., Li, G., Hou, Z., Milne, G. L., Mori, S., Alonso, R., Geisler, J. G. and Duan, W. (2017). 2,4 DNP improves motor function, preserves medium spiny neuronal identity, and reduces oxidative stress in a mouse model of Huntington's disease. *Experimental Neurology*, 293, 83-90.
148. Bando, Y. and Geisler, J. G. (2019). Disease modifying mitochondrial uncouplers, MP101, and a slow release ProDrug, MP201, in models of Multiple Sclerosis. *Neurochemistry International*, 131,104561.



*Gazili olmak ayrıcalıktır*