



ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL ÜLSER MODELİNDE KRİLL YAĞI VE ASTAKSANTİN
TAKVİYESİNİN OLASI KORUYUCU ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

ESRA TANSU SARIYER
DOKTORA TEZİ

BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Meral Yüksel

İKİNCİ TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Murat Baş

İSTANBUL-2022



ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL ÜLSER MODELİNDE KRİLL YAĞI VE
ASTAKSANTİN TAKVİYESİNİN OLASI KORUYUCU
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

ESRA TANSU SARIYER
DOKTORA TEZİ

BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Meral Yüksel

İKİNCİ TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Murat Baş

İSTANBUL-2022



BEYAN

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

12/12/2022

Esra Tansu Sarıyer

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez sürecim boyunca bana daima yol gösteren, tüm aşamalarda yanımda olan, sabırla bilgi ve tecrübelerini paylaşan ve sonsuz desteklerini esirgemeyen kıymetli tez danışmanım Prof. Dr. Meral YÜKSEL'e

Yüksek lisans ve doktora eğitim sürecimde bilimsel bakış açısı ve sonsuz anlayışıyla bana ışık tutan tez ikinci danışmanım Prof. Dr. Murat BAŞ'a

Tez çalışmamın verilerinin histolojik değerlendirilmesinde katkılarını sunan değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Naziye Özkan YENAL'a

Araştırma verilerinin biyokimyasal analizlerinde desteklerini sunan sayın hocam Doç. Dr. Özlem Unay DEMİREL'e

Deney süreci boyunca bilgi ve tecrübelerini paylaşan Vet. Hek. Burcu ÇEVRELİ, NPFUAM çalışanları ve cömert yardımlarını esirgemeyen Güven ÇEVİK'e

Çalışmanın tüm sürecinde kıymetli desteklerini esirgemeyen, her zaman danıştığım, sırt sırta verdiğim canım dostum ve çalışma arkadaşım Arş. Gör. Hatice ÇOLAK'a

Tez sürecim boyunca güler yüzü, çözümleyici ve bilimsel bakış açısıyla katkılarını sunan canım arkadaşım Arş. Gör. Ekin ÇEVİK'e,

Desteklerini, güler yüzünü ve anlayışını içtenlikle hissettiren sevgili iş arkadaşım ve canım Arş. Gör. Didem YANGIN'a

Yüksek lisans ve doktora sürecimde beraber yol aldığım kıymetli meslektaşlarım ve canım arkadaşlarım Merve Savıcı ve Gonca Yıldırım'a

Hayatımın her anında yanımda olan, sevgisi ve sonsuz anlayışıyla desteğini her zaman kalbimde hissettiğim hayat arkadaşım Reşid SARIYER'e

Hayatım boyunca beni hep destekleyen, sevgiyle büyüten, maddi manevi desteklerini esirgemeyen canım annem, babam ve kardeşime,

Her adımında desteğini kalbimde hissettiğim biricik ablama,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	v
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
RESİMLER LİSTESİ.....	xii
TABLolar LİSTESİ.....	xiii
ÖZET.....	1
ABSTRACT	2
1 GİRİŞ VE AMAÇ	3
2 GENEL BİLGİLER	5
2.1 Mide Ülseri.....	5
2.1.1 Mide ülseri epidemiyolojisi	6
2.1.2 Mide ülser etiyolojisi	6
2.1.3 Mide ülseri klinik bulguları ve tanı	7
2.1.4 Mide ülseri medikal tedavi yöntemleri.....	8
2.1.5 Mide ülserinde tıbbi beslenme tedavisi	8
2.1.6 Mide ülseri ve oksidatif stres.....	12
2.2 Oksidatif Stres ve Antioksidanlar	14
2.2.1 Oksidatif stres-antioksidan dengesi ve beslenme arasındaki ilişki.....	16
2.3 Krill Yağı ve Genel Özellikleri.....	19
2.3.1 Krill yağı uygulamaları	22
2.3.2 Krill yağı ve oksidatif stres ilişkisi.....	23
2.4 Balık Yağı ve Genel Özellikleri.....	24
2.4.1 Balık yağı uygulamaları.....	26
2.4.2 Balık yağı ve oksidatif stres ilişkisi.....	27
2.5 Krill Yağı ve Balık Yağı Karşılaştırması	28
2.6 Astaksantin ve Genel Özellikleri.....	30
2.6.1 Astaksantin ve uygulamaları.....	31
2.6.2 Astaksantin ve oksidatif stres ilişkisi.....	32
2.7 Deneysel Mide Ülseri Modelleri.....	33
2.7.1 Etanol ile indüklenen mide ülseri	34
2.7.2 Asetik asitle oluşturulan mide ülseri	34
2.7.3 Non-streoid anti-inflamatuvar ilaçlar ile indüklenen mide ülseri	35
2.7.4 Hidroklorik asit/Etanol (HCl/Etanol) ile indüklenen mide ülseri	35
2.7.5 Stres ile indüklenen mide ülseri.....	36
3 GEREÇ VE YÖNTEM	37

3.1	Deneyde Kullanılan Besin Takviyelerinin Hazırlanması	37
3.2	Deney Hayvanları Özellikleri.....	37
3.3	Canlı Ağırlık Takibi.....	38
3.4	Yem ve Sıvı Tüketimi Takibi	38
3.5	Deney Gruplarının Oluşturulması	38
3.6	DeneySEL Ülser Modelinin Oluşturulması	42
3.7	Deneyin Sonlandırılması.....	43
3.8	Mide Dokusunun Makroskopik İncelenmesi.....	43
3.9	Biyokimyasal İncelemeler.....	43
3.9.1	Doku MDA düzeyi tayini.....	43
3.9.2	Doku GSH düzeyi tayini.....	44
3.9.3	Doku MPO aktivitesi tayini.....	44
3.9.4	Doku KL ölçümü	45
3.9.5	Serum biyokimya ölçümleri	46
3.10	Histopatolojik İncelemeler	46
3.11	İstatistiksel Değerlendirme.....	47
4	BULGULAR	48
4.1	Deney Hayvanlarının Ağırlık Değişimleri	48
4.2	Deney Hayvanların Yem ve Su tüketimi.....	49
4.3	Mide Dokusu Makroskopik Skoşlama Sonuçları	50
4.4	Mide Dokusu MDA, GSH ve MPO ölçümleri	52
4.5	Karaciğer Dokusu MDA, GSH ve MPO ölçümleri.....	56
4.6	Mide Dokusu KL ölçümleri.....	60
4.7	Karaciğer Dokusu KL ölçümleri	64
4.8	Serum Ölçümleri Sonuçları.....	67
4.9	Mide Dokuları Mikroskopik Skoşlama.....	69
4.10	Mide Dokusu Histolojik Bulgular.....	72
4.11	Karaciğer Dokusu Histolojik Bulgular	76
4.12	Karaciğer Dokuları Mikroskopik Skoşlama	80
5	TARTIşMA.....	82
6	SONUÇ	98
7	KAYNAKÇA.....	102
8	EKLER	117
EK 1.	Etik Kurul Onayı.....	117
EK 2.	Deneyde Kullanılan Krill Yağının İçerik Analizi.....	118
EK 3.	Deneyde Kullanılan Astaksantin İçerik Analizi.....	119
EK 4.	Çalışmada Kullanılan Balık Yağının İçerik Analizi	120
9	ÖZGEÇMİş	121

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

μL	Mikrolitre
μmol	Mikromol
AA	Araşidonik asit
AHA	Amerikan Kalp Derneği
ALA	α-linolenik asit
ALP	Alkalen fosfataz
ALT	Alanin aminotransferaz
AP-1	Aktivatör protein-1
AST	Aspartat aminotransferaz
BKI	Beden kütle indeksi
CAT	Katalaz
CoQ-10	Koenzim Q-10
COX-1	Siklooksijenaz-1
COX-2	Siklooksijenaz-2
CRP	C-reaktif protein
ÇDYA	Çoklu doymamış yağ asitleri
DHA	Dokosahekzaenoik asit
DPA	Dokosapentaenoik asit
eNOS	Endotelyal nitrik oksit sentaz
EPA	Eikosapentaenoik asit
FDA	Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
GBD	Küresel Hastalık Yüğü, Global Burden of Disease
GGT	Gama glutamil transferaz
GPx	Glutasyon peroksidaz
GR	Glutasyon redüktaz
GRAS	Genel olarak güvenilir kabul edilen
GSH	Glutasyon
H₂O₂	Hidrojen peroksit
H2RA	Histamin-2 reseptörlerine karşı antagonist
HCl	Hidroklorik asit

HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
HO-1	Hem oksijenaz-1
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
IL	İnterlökkin
KL	Kemilüminesans
LA	Linoleik asit
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
LOX	Lipoksijenaz
MAPK	Mitojenle aktive olan protein kinazlar
MDA	Malondialdehit
mcg	Mikrogram
mg	Miligram
MMP	Matris metalloproteinaz
mL	Mililitre
MPO	Miyeloperoksidaz
n-3	Omega-3
n-6	Omega-6
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NF-κB	Nükleer faktör kappa B
nNOS	Nöronal Nitrik oksit sentaz
NOAEL	Yan etki gözlemlenmeyen miktar
NOS	Nitrik oksit sentaz
NSAİİ	Steroid olmayan anti-inflamatuvar ilaçlar
O₂•-	Süperoksit
OH•	Hidroksil
ORAC	Serbest radikalleri absorban kapasitesi
PG	Prostaglandinler
PGE₂	Prostaglandin E ₂
PPAR	Peroksizom proliferatörü ile aktive olan reseptör
PPI	Proton pompa inhibitörleri
RDA	Diyetle Alınması Öngörülen Miktar
RNT	Reaktif nitrojen türleri

ROO•	Peroksil radikalleri
ROT	Reaktif oksijen türleri
SDA	Stearidonik asit
SOD	Süperoksit dismutaz
TBARS	Tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri
Th1	T hücresi 1
TNF-α	Tümör nekroz faktörü alfa
TÜBER	Türkiye'ye Özgü Beslenme Rehberi
UV	Ultraviyole
v/w	Hacimce yüzde



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Mide ülseri çeşitleri.....	5
Şekil 2. Oksidatif stres ve patofizyolojik etkileri.....	13
Şekil 3. Oksidatif stres ve metabolik etkileri	18
Şekil 4. Omega-3 yağ asitlerinin temel anti-inflamatuvar etkileri	24
Şekil 5. Elzem yağ asitleri metabolizması	25
Şekil 6. Astaksantin kimyasal yapısı.....	31
Şekil 7. Deney çalışma planı.....	39
Şekil 8. Dört hafta süreyle takviye alan sıçanların ağırlık değişimleri	48
Şekil 9. Dört hafta süreyle takviye alan günlük yem tüketimi.....	49
Şekil 10. Dört hafta süreyle takviye alan sıçanların günlük ortalama su tüketimi.....	50
Şekil 11. Mide dokusu makroskopik değerlendirme sonuçları.....	51
Şekil 12. Mide dokusu MDA düzeyi sonuçları.....	52
Şekil 13. Mide dokusu GSH düzeyi sonuçları	54
Şekil 14. Mide dokusu MPO aktivitesi sonuçları	55
Şekil 15. Karaciğer dokusu MDA düzeyi sonuçları	57
Şekil 16. Karaciğer dokusu GSH düzeyi sonuçları.....	58
Şekil 17. Karaciğer dokusu MPO aktivitesi sonuçları	60
Şekil 18. Mide dokusu mikroskopik skarlama sonuçları	70
Şekil 19. Karaciğer dokusu mikroskopik skarlama sonuçları.....	80

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1. Oral gavaj uygulaması	42
Resim 2. Kontrol ve ülser gruplarına ait mide dokusu histolojik bulguları	72
Resim 3. Krill yağı uygulaması yapılan gruplara ait mide dokusu histolojik bulguları.....	73
Resim 4. Astaksantin uygulaması yapılan gruplara ait mide dokusu histolojik bulguları..	74
Resim 5. Balık yağı uygulaması yapılan gruplara ait mide dokusu histolojik bulguları.....	75
Resim 6. Kontrol ve ülser gruplarına ait karaciğer dokusu histolojik bulguları	76
Resim 7. Krill yağı uygulaması yapılan gruplara ait karaciğer dokusu histolojik bulguları	77
Resim 8. Astaksantin uygulaması yapılan gruplara ait karaciğer dokusu histolojik bulguları	78
Resim 9. Balık yağı uygulaması yapılan gruplara ait karaciğer dokusu histolojik bulguları	79

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Mide ülseri tıbbi beslenme tedavisinde önerilen enerji ve besin ögesi alımı	9
Tablo 2. Endojen ve ekzojen antioksidanların sınıflandırılması	16
Tablo 3. Bazı antioksidanlar ve nötröle ettiikleri ROT	17
Tablo 4. Krill yağının bazı besin ögesi içerikleri	20
Tablo 5. Uzun zincirli n-3 yağ asitlerinin anti-inflamatuar etkileri ve muhtemel etki mekanizmaları	28
Tablo 6. Bazı doğal kaynakların astaksantin içeriği	30
Tablo 7. Mide dokusu makroskopik lezyon skorlaması	43
Tablo 8. Mide dokusu KL ölçümü sonuçları	61
Tablo 9. Karaciğer dokusu KL ölçümü sonuçları	65
Tablo 10. Krill yağı, balık yağı ve astaksantin takviyesinin bazı biyokimyasal parametrelere etkisinin sonuçları	67

ÖZET

Deneyisel Ülser Modelinde Krill Yağı ve Astaksantin Takviyesinin Olası Koruyucu Etkilerinin Araştırılması

Antarktika *Euphausia superba*'dan elde edilen, zengin omega-3 kaynağı ve yüksek antioksidan kapasiteye sahip astaksantin molekülü içeren krill yağının birçok hastalığa karşı koruyucu ve tedavi edici etkileri olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada etanol ile indüklenmiş deneyisel mide ülser modelinde krill yağı, balık yağı ve astaksantinin ülsere olası koruyucu etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada 12-16 haftalık Sprague Dawley erkek sıçanlar 8 gruba ayrıldı (n=64). Sıçanlara, 4 hafta süreyle günlük yem tüketimlerinin %2,5'u(v/w) oranında krill yağı, balık yağı veya astaksantin orogastrik yolla uygulandı. Sıçanlara 24 saatlik açlık sonrası etanol (5 ml/kg) uygulandıktan 1 saat sonra hayvanlar sakrifiye edildi. Tüm gruplardan analiz edilmek üzere mide, karaciğer dokuları ve kan örneği alındı. Tüm veriler GraphPad InStat 3.10 programında analiz edildi. Besin takviyesi almayan ülser grubunda kontrole kıyasla doku malondialdehit (MDA) düzeyleri ve miyeloperoksidaz (MPO) aktiviteleri artarken, glutatyon (GSH) düzeyleri azaldı. Ülser grubunda kontrole göre luminol ve lusigenin aracılı kemilüminesans (KL) düzeyleri, nitrik oksit (NO), peroksinitrit salınımı arttı ($p<0.001$). Mide dokusu MDA düzeyleri sadece astaksantin uygulaması yapılan ülser grubunda, takviye almayan ülsere göre düşüktü ($p<0.001$). Mide dokusu GSH düzeylerinde gruplar arasında anlamlı farklılık görülmedi ($p>0.05$). Balık yağı ve astaksantin uygulaması yapılan gruplarda, takviye uygulanmayan ülsere kıyasla MPO aktiviteleri azaldı (sırasıyla; $p<0.001$, $p<0.05$). Krill yağı, balık yağı veya astaksantin uygulaması yapılan ülser gruplarında, takviye almayan ülsere göre NO ve peroksinitrit salınımı ile luminol ve lusigenin aracılı KL düzeyleri azaldı ($p<0.001$). Bulgularımız, krill yağının gastrik ülsere karşı korumada yeterli etkinlik göstermediğini kanıtladı. Astaksantin yüksek antioksidan etkisi ile gastrik ülserde artan oksidatif stresi inhibe etmede ve ülserasyonlara karşı korumada olumlu sonuçlar verdi.

Anahtar Sözcükler: Gastrik ülser, krill yağı, astaksantin, balık yağı, antioksidan.

ABSTRACT

Determination of the Possible Protective Effects of Krill Oil and Astaxanthin Supplementation in an Experimental Ulcer Model

Krill oil obtained from Antarctic *Euphausia superba*, which is a rich source of omega-3 and contains astaxanthin molecule with high antioxidant capacity, has been shown to have protective and therapeutic effects against many diseases. In this study, it was aimed to investigate the possible protective effects of krill oil, fish oil, and astaxanthin on ulcer healing in an ethanol-induced experimental gastric ulcer model. In the study, 12-16 weeks old male Sprague Dawley rats were divided into 8 groups (n=64). Krill oil, fish oil or astaxanthin at 2.5% (v/w) were administered via orogastric route to rats for 4 weeks. Rats were sacrificed 1 hour after ethanol (5 ml/kg) administration after 24 hours of fasting. Gastric and liver tissues and blood samples were collected from all groups for analysis. Data were analyzed in GraphPad Instat 3.10 program. Tissue malondialdehyde (MDA) levels and myeloperoxidase (MPO) activities were increased, while glutathione (GSH) levels are decreased in the ulcer group compared to the control. In the ulcer group, luminol and lucigenin-enhanced chemiluminescence (CL) levels, nitric oxide (NO) and peroxynitrite release are increased compared to the control group ($p<0.001$). Gastric tissue MDA levels were lower in the ulcer group that received astaxanthin, compared to the ulcer group ($p<0.001$). There were no significant differences in the gastric tissue GSH levels between sample groups ($p>0.05$). MPO activities decreased in the fish oil and astaxanthin groups compared to the non-supplemented ulcer group ($p<0.001$, $p<0.05$, respectively). NO and peroxynitrite release, luminol and lucigenin-mediated CL levels were decreased in krill oil, fish oil and astaxanthin treated ulcer groups compared to non-supplemented ulcer ($p<0.001$). Our findings show that krill oil supplementation has not protective effects against gastric ulcer formation. Astaxanthin, which has a high antioxidant effect, showed positive benefits by inhibiting the oxidative stress in gastric ulcer and protection against ulcerations.

Keywords: Gastric ulcer, krill oil, astaxanthin, fish oil, antioxidant.

1 GİRİŞ VE AMAÇ

Peptik ülser, gastrik ve duodenum ülserlerini kapsayan ve son yüzyılda yüksek morbidite ve mortalite ile dünya nüfusunu geniş çapta etkileyen önemli bir hastalıktır. Gastrik ülserde, mukus, bikarbonat, prostaglandinler (PG) ve antioksidan enzimler gibi koruyucu faktörler ile gastrik asit, pepsin, *Helicobacter pylori* enfeksiyonu (*H. pylori*), steroid olmayan anti-inflamatuvar ilaçlar (Non-Steroid Anti-Inflammatory Drugs, *NSAİİ*), sigara, alkol ve oksidatif stres gibi etkenler arasındaki denge bozulmuştur. Bu dengenin bozulması mukozal hasarlara ve ülserasyonlara yol açmaktadır (1, 2). Aşırı alkol tüketimi genellikle gastrik mukoza savunmasını zayıflatmakta, sırasıyla gastrit, peptik ülser ve mide kanseri oluşturabilen hasarlara neden olmaktadır. Bu nedenle bazı çalışmalarda, peptik ülserin deneysel modelleri etanol ile indüklenerek oluşturulur (3).

Küçük kabuklulardan (*Euphasia süperba*) ekstrakte edilen krill yağı, yağ asitleri içeriği ve sağlığa olan yararlı etkileri ile dikkat çekmektedir. Krill yağı, omega-3 (n-3) çoklu doymamış yağ asitleri (ÇDYA), fosfolipidler, flavonoidler, astaksantin, çeşitli vitamin ve mineraller içermektedir. Krill yağının besin ögesi içeriği ile anti-inflamatuvar ve antioksidan etkileri olduğu bilinmektedir (4, 5). Bu etkilerin, içeriğinde bulunan astaksantin, E vitamini, kolin gibi antioksidan öğelerden kaynaklı olduğu düşünülmektedir (6). Yapılan in-vitro çalışmalarda krill yağı takviyesinin inflamatuvar özellikteki tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α) ve interlökin-8 (IL-8) seviyelerini azalttığı görülmüştür (7, 8).

Krill yağının yapısında da bulunan bir ksantofil karotenoidi olan astaksantin insan vücudunda sentezlenememektedir. Yapılan bir çalışmada astaksantin antioksidan aktivitesi, zeaksantin, lutein, kantaksantin, β -karotenden 10 kat, α -tokoferolden 100 kat daha yüksek bulunmuştur (9). Astaksantin, reaktif oksijen türleri (ROT) oluşumunu azaltmakta ve nükleer faktör kappa B (NF- κ B) yolu ile pro-inflamatuvar sitokin üretimini inhibe ederek, antioksidan etkiler göstermektedir (10). Literatürdeki mevcut veriler astaksantin böbrek, karaciğer, gastrointestinal sistem ve

nörodejeneratif hastalıklar olmak üzere, çeşitli akut ve kronik hastalıkta koruyucu ve tedavi edici etkileri olduğunu desteklemektedir (11).

Astaksantin takviyesinin IL-1 β , IL-6 ve siklooksijenaz-2 (COX-2) gibi inflamatuvar sitokinlerin mRNA ekspresyonunu azaltarak, kolon mukoza ülserlerini ve adenokarsinom gelişimini inhibe ettiği gösterilmiştir (12). Naproksen ile oluşturulan deneysel ülser modelinde yapılan bir çalışmada, 25 mg/kg astaksantin takviyesinin peptik ülserle karşı koruyucu etki oluşturduğu, mide mukozasında lipid peroksidasyonu ürünlerinin artışı inhibe ettiği ve antioksidan enzim aktivitelerinde artışa neden olduğunu göstermiştir (13).

Omega-3 yağ asitleri ÇDYA'nın temel kaynağıdır. Omega-3 yağ asitleri keten tohumu yağı, kanola yağı, ceviz, semizotu gibi bitkisel kaynakların yanı sıra, dokosaheksaenoik asit (DHA) ve eikosapentaenoik asitleri de içeren (EPA) balık ve alg gibi deniz ürünlerinden elde edilmektedir. Çeşitli araştırmalar n-3 yağ asitlerinin inflamasyon, kanser, diyabet, kardiyovasküler hastalıklarda yararlı etkileri olduğunu göstermektedir. EPA ve DHA'dan elde edilen PG'ler, tromboksanlar ve lökotrienler anti-inflamatuvar etkilidir (14). Asetik asit ile indüklenen deneysel ülseratif kolit modelinde yapılan bir çalışmada, 21 gün süreyle balık yağı takviyesinin kolon dokusunda MPO ve MDA seviyelerinde azalma, katalaz (CAT) ve GSH düzeylerinde artış sağladığı bulunmuştur (15). Aspirin, soğuk kısıtlama stresi, pilor ligasyonu ve etanol olmak üzere farklı ajanlarla indüklenen gastrik ülserin deneysel modellemesinde balık yağı takviyesinin CAT aktivitesi ile GSH düzeylerini arttırdığı, ülserle karşı koruyucu ve tedavi edici olduğu belirlenmiştir (16).

Bu çalışmada hipotezimiz; etanol ile indüklenmiş deneysel mide ülser modelinde anti-inflamatuvar, antioksidan ve birçok yararlı etkisi olduğu literatür ile desteklenen krill yağının, balık yağı ve astaksantine göre koruyucu etkisinin daha üstün nitelikte olduğudur. Bu amaçla oral gavaj yolu ile uygulanan krill yağı, balık yağı ve astaksantin etanol ile indüklenmiş deneysel ülser modeline olası koruyucu etkisi, oksidatif stres parametreleri üzerinden mide ve karaciğer dokularında incelenerek, inflamatuvar ve yapısal değişiklikler histolojik analizlerle araştırılacaktır.

2 GENEL BİLGİLER

2.1 Mide Ülseri

Peptik ülser terimi, submukozaya ulaşan mukozal kırılma ile sonuçlanan sindirim sisteminin peptik hasarını ifade etmektedir. Peptik ülserler genellikle gastrik veya proksimal duodenumda bulunmaktadır. Gastrik ülserler midenin küçük kurvatoru boyunca görülür, kanama ve komplikasyonlar kaynaklı mortalite oranları duodenal ülserlere göre daha yüksektir. Ülserasyonlar, mukozal lezyonları indüklemek için mukozal tabakasından sızarak sindirim sisteminin inflamasyonuna neden olmaktadır (17, 18). Gastrik ülser, bikarbonat, mukus salgısı, PG'ler gibi gastrik koruyucu faktörler ile aşırı gastrik asit salgısı, pepsin, *H. pylori* enfeksiyonu, NSAİİ, oksidatif stres gibi mukozal epitel üzerindeki agresif etkileri olan faktörler arasındaki dengesizlik ve birden fazla etiyolojiye sahip bir lezyondur (19, 20). Mide ülseri çeşitleri Şekil 1'de özetlenmiştir (17).



Şekil 1. Mide ülseri çeşitleri

2.1.1 Mide ülseri epidemiyolojisi

Dünya çapında geniş bir prevalansa sahip olan gastrik ülser, yüksek gelir seviyeli ülkelerde daha az görülmekle beraber, dünya nüfusunun %5-10'unu etkilemektedir (18). Son yıllarda yapılan bir çalışmada, 30-60 yaşındaki kişilerde gözlenen gastrik ülserlerde %20'lik bir artışla insidans oranı bildirilmiştir (21). Küresel Hastalık Yüğü, Yaralanmalar ve Risk Faktörleri verilerine göre (Global Burden of Disease, Injuries and Risk Factors Study, GBD) 1990'dan 2019'a kadar gastrik ülser prevalansı değerlendirilmiştir. 2019 yılında gastrik ülserin küresel prevalansının %8.09 olduğu ve 1990 yılından bu yana %25.82 oranında arttığı görülmüştür (20). Ülkemizde duodenal ülserler 20-50 yaş grubunda, gastrik ülser en sık 30-60 yaş aralığında görülmektedir. Yaşla beraber prevalansın arttığı saptanmıştır (22).

2.1.2 Mide ülser etiyolojisi

Geçmişte gastrik ülserin nedenleri arasında, diyet faktörleri ile stresin tetiklediği aşırı asidik ortam olduğu düşünülmekteydi. Ancak *H. pylori* enfeksiyonunun keşfi ve 20. yüzyılın ikinci yarısında NSAİİ'lerin yaygın kullanımı bu yaklaşımı değiştirmiştir. Gastrik ülser hastalığının risk faktörleri; *H. pylori*, NSAİİ, gastrinoma, bazı ilaçlar (örneğin bifosfonatlar, kortikosteroidler, potasyum klorür, kemoterapötik ajanlar), tütün kullanımı, ailede ülser geçmişi, alkol kullanımı ve çeşitli stres faktörleridir (yoğun fiziksel yaralanma, akut hastalık, ventilatör desteği, kafa travması, yanıklar, vs.) (17, 18).

H. pylori gastrik antral mukozada kolonize olan ciddi bir patojendir ve gastrik ülserlerin %95'ini etkilediği saptanmıştır (23). *H. pylori* epitel hasarına yol açan ve inflamatuvar yanıtla sonuçlanan lokal erozyonlara neden olur. *H. pylori* mide ortamında hayatta kalmak için, asit ortamı tamponlayan ve amonyak üreten üreaz enzimi salgılar. Oluşan alkali ortam somatostatin sekresyonunu azaltır, gastrin salgısı inhibisyonunu engeller. Düzensiz gastrin üretimi, hipergastrinemi ve mide asidi salgısında artışla sonuçlanır. Buna ek olarak, gastrik epitel fonksiyonlar da bozulmaktadır. Mide tarafından artan asit üretimi duodenum içindeki bikarbonat

üretimi arttırarak pH'ı düşürmektedir. Tüm bunların sonucunda kronik aktif gastrit, gastrik ve duodenal ülser, gastrik karsinoma meydana gelmektedir (23, 24).

Anti-inflamatuvar etkileriyle bilinen NSAİİ'lerin gastrik ülser riskini arttırdığı saptanmıştır (24). Gastroduodenal mukozada NSAİİ ile ilişkili hasarın temel mekanizması, PG sentezinden sorumlu ve azalmış mukozal kan akışı, düşük mukus ve bikarbonat sekresyonu ile ilişkili olarak eksprese edilen siklooksijenaz-1'in (COX-1) sistemik inhibisyonudur. NSAİİ'ler mukus fosfolipidlerinin ve mitokondriyal oksidatif fosforilasyonun bozulmasına yol açarak mukozal hasarı başlatmaktadır (25).

Sigara kullanımının bikarbonat sekresyonunu inhibe ettiği ve duodenumda artan asitliğe yol açtığı düşünülmektedir (24). Bir meta-analiz çalışması, gastrik ülser prevalansının %23'ünün sigara kullanımı ile ilişkili olabileceğini göstermiştir (26). Alkol tüketimi vücutta çeşitli organ sistemlerini ve gastrointestinal sistemi olumsuz etkilemektedir. Alkol, gastrik mukoza ile doğrudan etkileşime girerek, hormonların ve gastrik asidin salgılanmasına, sinir hücrelerinin duyarlılığının azalmasına yol açarak etki etmektedir (27). Alkole bağlı gastrik ülser oluşumunda PG sentezinin azalması, COX, lipoksijenaz (LOX), sitokinler ve ROT artışının etkili olduğu düşünülmektedir (28). Aşırı alkol tüketimi genellikle gastrik mukozal savunmayı zayıflatarak, gastrit ve gastrik ülser gibi mide kanserine yol açan gastrik mukozal yaralanmalara neden olur. Bu nedenle bazı çalışmalarda, gastrik ülserin deneysel modellemesi için etanol uygulaması önerilir (3).

2.1.3 Mide ülseri klinik bulguları ve tanı

Peptik ülser hastalığının semptomları, spesifik olmadığı için tanı koymada sınırlıdır. Gastrik ülserde postprandial abdominal ağrı (yemekle şiddetlenen ve anti-asit ile hafifleyen ağrı), orta-epigastrik ağrı, bulantı, kusma ve kilo kaybı sık görülen semptomlardır. Ayrıca, gastrik çıkış obstrüksiyonu, kanama, perforasyon hastalığın temel komplikasyonlarıdır. Melena veya hematemez olarak kendini gösteren kanama, hastaların neredeyse yarısında herhangi bir uyarıcı semptom olmaksızın ortaya çıkmaktadır (17, 18).

Endoskopi, gastrik ülser hastalığının tanısında altın standarttır. Malign hastalıklar tetkiklerle dışlandıktan sonra, tedavi planı için histoloji veya hızlı üreaz testleri ile *H. pylori* enfeksiyonu testinin yapılması gerekir. *H. pylori* enfeksiyonu dışlamak için invaziv olmayan bir test olan üre nefes testi ve/veya dışkı antijen testlerinin yapılması önerilir (17, 18).

2.1.4 Mide ülseri medikal tedavi yöntemleri

Bazı gastrik ülserler medikal tedavi olmadan kendi kendine iyileşebilmektedir. Fakat medikal tedavi uygulanmayan hastalarda ülserin nüksetme oranları daha yüksektir. Hastalığın farmakolojik tedavisinde Histamin-2 reseptörlerine karşı antagonist (H2RA), proton pompa inhibitörleri (PPI), antikolinergik ilaçlar, anti-asit ilaçlar (sodyum bikarbonat, magnezyum hidroksit vb.) kullanılmaktadır (18).

Özellikle *H. pylori* ile enfekte olan gastrik ülser hastalarda standart üçlü tedavi uygulanmaktadır. Bu tedavi PPI ilaçlarına ek olarak, 7-14 gün süreyle iki antibiyotik tedavisini (sıklıkla klaritromisin ve amoksisilin) içermektedir. Bunun dışında bizmut bazlı dördümlü terapi, dördümlü bizmut bazlı olmayan eş zamanlı tedavi, florokinolon veya rifabutin bazlı üçlü tedavi bulunur. PPI sınıfındaki ilaçlar asit sekresyonunu inhibe eder. Bu etkisini, parenteryal hücrelerdeki proton pompasında bulunan H^+/K^+ -ATPaz enzimini inhibe ederek gerçekleştirir. Bu ilaç sınıfına omeprazol, lansoprazol, rabeprazol, esomeprazol, pantoprazol dahildir. Gastrik ülser tedavisinde sıklıkla kullanılan ve paryetal hücrelerde H2 histamin reseptörlerine bağlanan histaminin etkisini bloke eden H2RA ilaçları, simetidin, famotidin, nizatidin, ranitidindir. Anti-asit ilaçlar ise gastrik pH'ı yükselterek, pepsinin proteolitik aktivitesini inhibe ederek etkisini gösterir (18, 25). Bunun yanı sıra hastalığın tedavisi ve semptomların hafifletilmesinde tıbbi beslenme tedavisi büyük önem taşır (18).

2.1.5 Mide ülserinde tıbbi beslenme tedavisi

Gastrik ülserli hastalar için makro besin ögesi dağılımı normal aralıkta olmalı (%50-60 karbonhidrat, %10-15 protein, %25-30 yağ) ve yeterli miktarda enerji

alınmalıdır. Tıbbi beslenme tedavisinde önerilen besin ögesi alımları Tablo 1’de listelenmiştir (29). Beslenme tedavisinde alınması gereken enerji miktarı hastanın ihtiyacına göre ayarlanmalıdır. Protein tüketimi akut dönemde 1.2 g/kg/gün, iyileşme döneminde de 1.5 g/kg/gün’e kadar yükseltilebilir. Gastrik ülserli hastalarda diyet posası tampon görevi görerek, gastrik asit konsantrasyonunu azaltır. Ayrıca diyet posası besinlerin bağırsağa geçiş süresini kısaltarak, karın şişkinliği ve mide ağrılarını azaltır. Bu nedenle gastrik ülserli hastalarda 20-30 g/gün diyet posası alımı önerilir. Semptomları arttırabileceği için yağ ve şeker içeriği yüksek besinlerin tüketiminden kaçınılmalıdır (29, 30).

Tablo 1. Mide ülseri tıbbi beslenme tedavisinde önerilen enerji ve besin ögesi alımı

Günlük Enerji İhtiyacı	Önerilen Miktar	
	20-25 kkal/kg: Ağırlık kaybı	
	25-30 kkal/kg: Ağırlığın korunması	
	30-35 kkal/kg: Ağırlık kazanımı	
	Akut Faz	İyileşme Fazı
Karbonhidrat (%)	50-60	50-60
Protein (g/kg/ağırlık)	1.2	1.5
Yağ (%)	25-30	25-30
Çinko (mg)	11	40
Selenyum (µg)	55	400
A Vitamini (µg)	900	3000
C Vitamini (mg)	75	500
B12 Vitamini (µg)	2.4	2.4
Folik asit (µg)	400	400
Demir (mg)	45	45
Diyet posası (g)	20-30	20-30
Probiyotik (UFC/gün)	10 ⁹ -10 ¹¹ laktik asit bakterileri	10 ⁹ -10 ¹¹ laktik asit bakterileri

İyileşme sürecini hızlandırmak, artmış oksidatif stresi azaltmak, bağışıklık sistemini aktive etmek için proteinlere ek olarak, antioksidan besin ve besin ögeleri tüketiminin arttırılması yararlı olabilir. Antioksidan özellikleriyle bilinen selenyum, komplikasyonları azaltmakta ve ülserasyonun iyileşmesini hızlandırmaktadır (30). Deneysel ülser modelinde yapılan çalışmalarda selenyum uygulamasının mide lezyonlarını azalttığı ve anti-ülser etkilerinin olduğunu ortaya koymuştur (31, 32). Benzer şekilde A vitamini takviyesinin gastrik ülser üzerine koruyucu etkisi olduğunu gösterse de bu konudaki kanıtlar yetersiz kalmaktadır (33). Ayrıca A vitaminin aşırı alımı toksik olacağı için, rutin takviyesinden kaçınılmalıdır (30).

Bir antioksidan olarak bilinen C vitamini çeşitli mekanizmalar aracılığıyla gastrik ülserde yararlı etkiler gösterir. Zhang ve ark. yaptığı çalışmada, yüksek doz C vitamini, *H. pylori* büyümesini ve kolonizasyonunu inhibe etmiş ve organizmanın eradikasyonuna yol açmıştır (34). C vitamini aynı zamanda kolajen oluşumunda rol oynar. Bu bağlamda yara iyileşmesi ve kılcal damarlarda sızıntının azalmasıyla ilişkili olarak gastrik ülserin iyileşmesine yardımcı olabilir. C vitamini mide mukozasında lipid peroksidasyonunu azaltmakta ve nitrik oksit sentaz (NOS) enziminin ekspresyonunu inhibe etmektedir (35).

Sigara kullanımı midede bikarbonat sekresyonunu inhibe etmekte ve asitliği arttırmaktadır. Sigara ve nikotin, gastrik salgı kapasitesini artırarak, pepsinojen salgılanmasını uyarmakta ve gastrik mukozada PG üretimini azaltarak, ROT türlerini arttırarak, gastrik ülser oluşumuna neden olmaktadır. Bu nedenle sigara kullanımı hem gastrik ülser hastalığına neden olmakta hem de semptomları şiddetlendirmektedir (24, 36).

Çay, kahve ve çikolatada yüksek miktarlarda bulunan kafein gastrik ülserli hastalarda ağrıyı şiddetlendirdiği için tüketilmemeli veya kısıtlanmalıdır. Aşırı kafein alımı gastrik ülserli hastalarda mide asidi sekresyonunda artışa ve ağrılara neden olabilir. Hastalığın başlangıcında birkaç ay süreyle kafein alımından tamamen kaçınılmalıdır. İlaç tedavisiyle beraber semptomlar düzelmeye başladıkça, hastaların beslenme planına kafein kaynakları (günde 1 fincan çay veya kahve, düşük kafein içeren besinler) eklenebilir (24, 37). Kahve ve gastrik ülser arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışma sonuçları çelişkilidir. Japonya’da 8013 bireyde yapılan kesitsel bir çalışmada kahve tüketimi ile gastrik ülser riski arasında ilişki saptanmamıştır (38). Eisig ve ark. çalışmasında peptik ülserli hastalarda kahve tüketiminin semptomları arttırdığı bulunmuştur (39). Bu çelişkili sonuçlar kahvenin yapısında bulunan ve midede hasara sebep olan kafeinin aksine, klorojenik asitten kaynaklandığı düşünülmektedir. Klorojenik asit takviyesinin gastroprotektif özellikleri olduğu, lezyonların ilerlemesini engellediği görülmüştür (40).

Gastrik ülserli bireylerde alkol tüketimi yasaklanmalıdır. Alkol, mide mukozal bariyerini bozarak ve geçirgenliği artırarak inflamasyon oluşturmaktadır. Alkollü içeceklerle kısa süreli maruz kalmanın neden olduğu değişiklikler hızlı bir şekilde düzelebilirken, uzun süreli alkol tüketimi midede yapısal mukozal hasarda ilerlemeye neden olur (41). Ayrıca alkol, midede asit üretimini uyarmakta, mide duvarlarında lezyonların artmasına sebep olmakta ve oluşan ülserasyonlara bağlı ağrıları arttırmaktadır. Peptik ülserde risk faktörlerinin araştırıldığı bir kohort çalışmada alkol tüketimi fazla olan bireylerde ülser riskinin 4 kat daha fazla olduğu saptanmıştır (42).

Fazla baharat içeren yiyeceklerin tüketimi gastrik ülseri neden olmasa da mide ağrısını şiddetlendirmektedir. Bu nedenle kırmızı biber, köri tozu, hardal ve karabiber gibi baharatların tüketiminden kaçınılmalıdır. Gastrik ülseri olan hastalarda çok sıcak ve baharatlı yiyeceklerin tüketimi, medikal ilaç tedavisi almalarına rağmen, asit üretimi ve ağrıyı arttırmaktadır (29, 30). Benzer şekilde yüksek tuz tüketimi gastrik ülserde semptomların artışıyla ilişkilidir. Sonnenberg'in çalışmasında tuz tüketiminin azaltılmasının gastrik ülser ve bununla ilişkili mortalite riskini azalttığı saptanmıştır (43). Bu nedenle hastaların turşu, salamura besinler, konserve yiyecekler, cips, tuzlu kuruyemişler, salam, sucuk, sosis, gibi sodyum içeriği yüksek besinlerden kaçınması gerekir (29, 30). Biber ve acı biberde bulunan kapsaisin *H. pylori* üzerine etkileri incelenmiş, gastrointestinal lezyonların iyileşmesinde etkili olduğu görülmüştür (44, 45). Ancak, acı biberin mide mukozasındaki hasarlar ile ilişkili olabileceği, gastrik ülseri olan bireylerde gastroprotektif etki göstermeyeceği değerlendirilmelidir (29).

Mide ülseri olan bireylerde süt tüketimine dair öneriler yıllar içinde değişiklik göstermiştir. 20. yüzyılın başlarında süt ve süt kremasının mide pH'ını alkaliye yükselteceği, ağrıyı azalttığı düşünülmekteydi. Fakat, süt tüketimi gastrik ülserli hastalarda anlık bir rahatlama sağlasa da, sindirim ve asit salgılarını uyardığı için ilerleyen zamanda gastrointestinal ağrıları arttırdığı belirlenmiştir (29, 30). Ancak, fermente süt ürünlerinin anti-mikrobiyal özellikleri nedeni ile *H. pylori* enfeksiyonunu inhibe edebileceği gözlenmiştir (46).

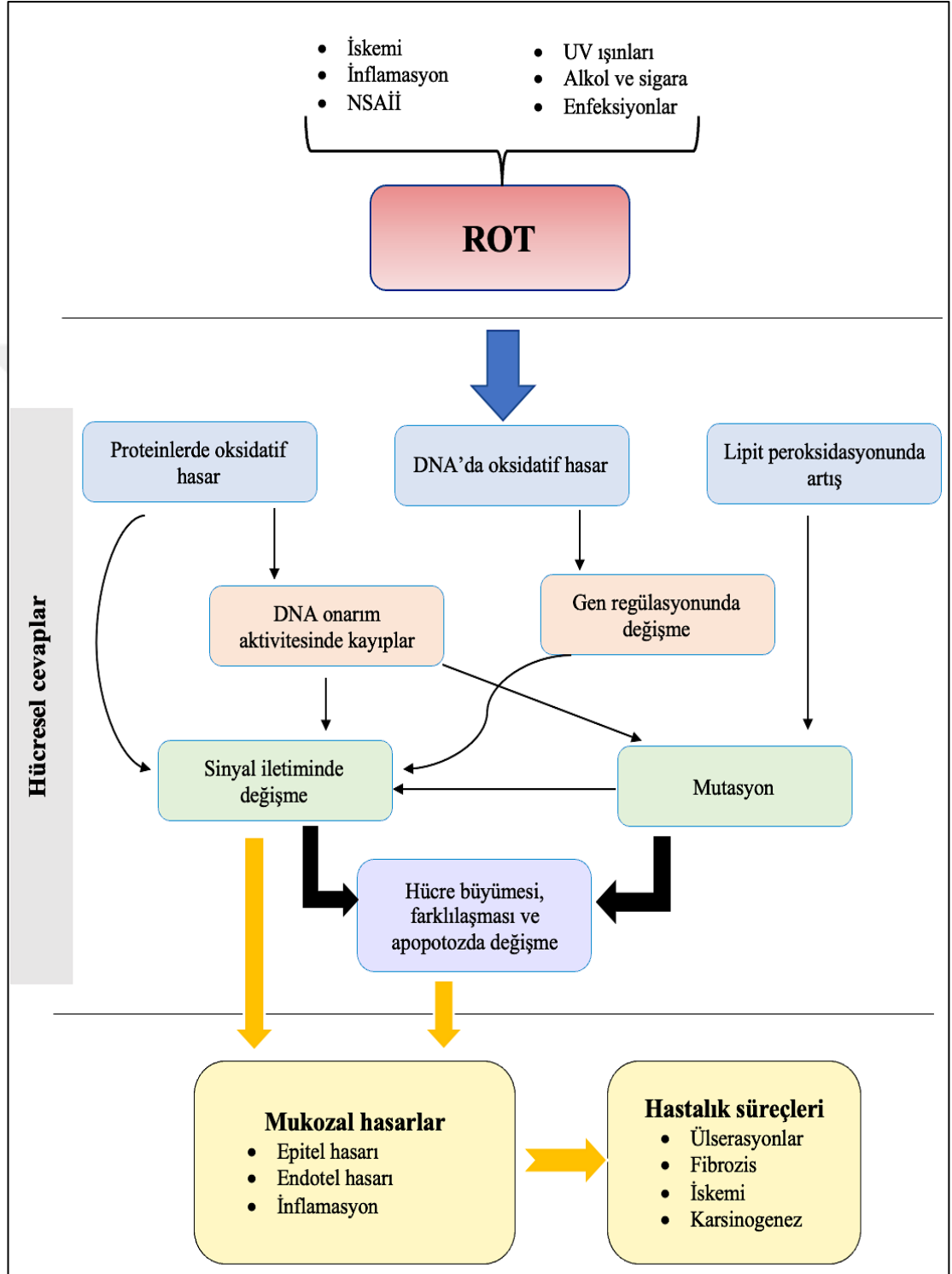
Gastrik ülser hastalarının tüm öğünlerini zamanında almaları ve öğün aralarında atıştırmalık tüketiminden kaçınmaları önerilmektedir. Mide asidi, yiyecekleri sindirmek için üretilmektedir. Zamanında öğün yapılması, midenin doğru zamanda, doğru miktarda asit ve sindirim sıvısı üretimine neden olmaktadır (29, 30). Yapılan prospektif bir çalışmada, öğün atlayan peptik ülser hastalarında gastrointestinal kanamalarının görülme riskinin daha fazla olduğu bulunmuştur (47).

Omega-3 ÇDYA'nin çeşitli mekanizmalar aracılığı ile inflamasyonu baskıladığı bilinmekle beraber, *H. pylori* enfeksiyonuna karşı tedavi edici etki gösterdiği düşünülmektedir. Omega-3 yağ asitleri bu etkisini, COX-2, indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS), ROT, reaktif nitrojen türleri (RNT), pro-inflamatuvar sitokinler gibi gastrik ülser hasarı tetikleyen faktörleri azaltarak gösterir (48). Buna ek olarak, hem oksijenaz-1 (HO-1) ve COX-1 gibi koruyucu faktörlerin ekspresyonunu artırır. Omega-3 yağ asitleri metabolizması sonucu üretilen PG'ler ise gastrik asit sekresyonunu azaltmakta, mukozal bariyeri güçlendirmektedir. Correia ve ark., DHA takviyesinin farelerde *H. pylori* büyümesini inhibe ettiğini saptamıştır (49). Yapılan başka bir çalışmada, gastrik veya duodenum ülseri olan bireylerde n-3 yağ asidi tüketimi ile *H. pylori* reküransı arasında negatif ilişki bulunmuştur (50). İndometazin ve pilor ligasyonu ile indüklenen deneysel gastrik ülser modellerinde yapılan çalışmalarda da n-3 takviyesinin gastroprotektif etkileri olduğu saptanmıştır (51, 52).

2.1.6 Mide ülseri ve oksidatif stres

Gastrik oksidatif stres, midedeki agresif ve koruyucu faktörler arasında dengesizliğe neden olarak gastrik ülser oluşumuna katkı sağlar. Vücutta aşırı ROT üretimi; lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve hücre ölümüne yol açabilen DNA hasarı dahil olmak üzere doğrudan oksidatif hasarla ilişkili patogenezlerle ilişkilendirilir. Ayrıca, ROT üretimi mitojenle aktive olan protein kinazlar (MAPK), NF- κ B ve aktivatör protein-1 (AP-1) gibi transkripsiyon faktörlerini içeren redoksa duyarlı sinyalleşme basamaklarını aktive ederek doku inflamasyonu ve hasarına neden olur. Bu durum mukozal hasarlar ile sonuçlanan hücre farklılaşması, büyümesi ve

apoptozda değişikliklere yol açar. Oksidatif stres ve patofizyolojik etkileri Şekil 2’de özetlenmiştir (27, 53).



Şekil 2. Oksidatif stres ve patofizyolojik etkileri

Gastrik ülser ve oksidatif stres arasındaki ilişki çift yönlüdür. Midede ROT birikimine katkı sağlayan çeşitli mekanizmalardan biri azalan süperoksit dismutaz (SOD), GSH gibi endojen antioksidan enzim seviyeleri ve azalmış antioksidan vitamin alımıdır. Malondialdehit, lipid peroksidasyonu son ürünü olduğu için oksidatif stres hakkında bilgi verir. Endojen antioksidan olan GSH, sülfidril içeriği ile özellikle ROT'un neden olduğu hasarlara karşı gastrik mukozal hücrelerini korur (27, 53).

Önceden bahsedildiği gibi alkol tüketimi yani etanol gastrik ülser neden olur. Etanolün gastrik mukoza ve oksidatif stres üzerindeki etkisi çok yönlüdür. Etanol maruziyeti süperoksit ($O_2^{\bullet-}$) radikalinde artış ile oksidatif strese neden olur. Etanol, gastrik mukozal koruyucu ve saldırgan faktörler arasındaki dengeyi bozarak mukozada vasküler endotel hücrelere zarar verir. Buna bağlı olarak, aşırı $O_2^{\bullet-}$ üretimi mikro dolaşım bozukluğu ve hipoksi gelişimine yol açar, gastrik ülser meydana gelir (54).

İskemik hasar, $O_2^{\bullet-}$, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($OH^{\bullet}$) gibi radikal ve radikal olmayan ROT aracılığı ile gastrik ülser oluşumuna neden olur. Ayrıca sigara içmek nötrofillerde MPO aktivitesini artırarak, gastrik hasara yol açar. Nötrofil agregasyonu ve vasküler hasar ile ROT artışı ve gastrik mukozada anjiyogenez azalması, hücre proliferasyonunun inhibasyonuna neden olarak gastrik ülserasyonları oluşturur (27, 53).

Gastrik ülserin önemli nedenlerinden biri olan *H. pylori* enfeksiyonu gastrik epitelyal hücrelerde fagositik olmayan nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidazı aktive ederek ROT aracılı oksidatif stres artışına neden olur. Ayrıca, *H. pylori* ve ROT, pro-inflamatuvar sitokin ve kemokinlerin üretimini artırır (27, 53). Jung ve ark., *H. pylori* ile enfekte peptik ülser ve gastrit hastalarında yüksek MDA ve azalmış mukozal GSH seviyeleri olduğunu saptamıştır (55).

2.2 Oksidatif Stres ve Antioksidanlar

Oksidatif stres, ROT üretimi ve yıkımı arasındaki dengesizlik sonucunda ortaya çıkar. Vücutta normal enerji üretimi metabolik süreçleri sonucu olarak ROT ve RNT

oluşur. Normal oksijenin bir kısmı mitokondride metabolizma sırasında indirgenerek ROT'a dönüşür. Başlıca ROT türleri; $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 ve $OH^{\bullet}$ radikalidir (56, 57).

Serbest radikaller hem endojen hem de eksojen kaynaklardan üretilir. İmmün sistem hücresi aktivasyonu, inflamasyon, iskemi, enfeksiyon, kanser, aşırı egzersiz, zihinsel stres ve yaşlanma, endojen ROT oluşumuna neden olur. Ayrıca çevresel kirleticiler, ağır metaller (Cd, Hg, Pb, Fe ve As), bazı ilaçlar (siklosporin, takrolimus, gentamisin ve bleomisin), kimyasal çözücüler, pişirme ve beslenme uygulamaları, sigara, alkol, ultraviyole (UV) ışınlarına maruz kalma ile ROT üretimi meydana gelir (56, 57).

Oksidatif stres hücresel organeller ve moleküller üzerinde etki gösterir. ROT'lar hücre membranlarında bulunan ÇDYA'nde oksidasyona neden olarak lipid peroksidasyonunu başlatır, lipid peroksit, siklik peroksit ve siklik endoperoksit meydana gelir. Bu son ürünler MDA, 4-hidroksinonenal ve hegzenal'dir. Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan lipid peroksitleri ve aldehitler tiyobarbitürik asit ile reaksiyona girerek, TBARS (tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri)'ı oluştururlar. TBARS, oksidatif stres biyobelirteci olarak doku ve serumda ölçülür. Oksidatif stres hücresel proteinler ve DNA üzerine de etki gösterir. Protein yapılarının bozulması sonucu protein karbonil türevleri, protein yapılı bileşiklerde hasar, yapı ve fonksiyon kaybına yol açar. Oksidatif stres, kanser patogeneğinde önemli rol oynayan DNA yapısında bulunan bazların modifikasyonlarına ve DNA-protein çapraz bağları oluşumuna neden olur (56, 58).

Oksidatif stres sonucu oluşan radikaller SOD, CAT, glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR) gibi endojen enzimler, melatonin, koenzim Q-10 (CoQ-10) gibi non-enzimler ve askorbik asit, polifenoller, karotenoidler gibi eksojen antioksidanlar ile elimine edilir. Antioksidanlar, $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 gibi güçlü ROT'ları ortamdan uzaklaştırır veya bulunduğu yerdeki konsantrasyonlarını azaltır. Ayrıca, serbest radikal hasarına yol açan zincirleme reaksiyonları inhibe ederek ROT kaynaklı hasarın onarılmasına katkıda bulunur (59, 59). Endojen ve eksojen antioksidanların sınıflandırılması Tablo 2'de özetlenmiştir (59).

Tablo 2. Endojen ve ekzojen antioksidanların sınıflandırılması

1. Endojen Antioksidanlar	2. Ekzojen Antioksidanlar
1.1. Enzimatik antioksidanlar • Primer savunma sistemleri ○ Katalaz ○ Glutasyon peroksidaz ○ Süperoksit dismutaz • Sekonder savunma sistemleri ○ Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz ○ Glutasyon redüktaz	• Vitaminler (Askorbik asit, tokoferol, tokotrienol, retinol..) • İz elementler (Se, Zn, Cu, Mn...) • Karotenoidler • Polifenoller
1.2. Non-enzimatik antioksidanlar • Lipoik asit • Ubikinon • Ürik asit • Glutasyon • Konjuge bilirubin • Melatonin • Amino asitler • Ferritin • Albümin • Seruloplazmin	

Düşük ve orta molar konsantrasyonlardaki ROT'ların fizyolojik etkileri farklıdır. Protein fosforilasyonu, transkripsiyonel faktörlerin aktivasyonu, apoptoz, bağışıklık süreçlerinin devamı için hücrelerin içi düşük seviyelerde ROT gerekir. NO ve O₂•⁻ anyonu hücre sinyal düzenleyici olarak işlev görerek, redoks homeostazının sağlanmasında rol oynarlar. Ayrıca NO ve bazı ROT türlerinin vasküler tonusun düzenlenmesi, ventilasyon ve eritropoietin üretimi, konak savunma sistemi tarafından patojenlerle savaşma gibi yararlı sonuçlar da bulunmaktadır (57, 60). Oksidatif stres ve inflamasyonun ROT lehine kronik bir seyir içinde ilerlemesi sonucunda diyabet, kanser, depresyon, metabolik sendrom, alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı, kardiyovasküler hastalıklar, obezite gibi birçok hastalığın oluşumuna neden olur (57, 61)

2.2.1 Oksidatif stres-antioksidan dengesi ve beslenme arasındaki ilişki

Beslenme ve diyet müdahaleleri vücuttaki redoks durumuna etki eder. Özellikle yüksek yağlı veya karbonhidratlı beslenme, antioksidan savunma sistemini zayıflatır,

protein karbonilasyonu ve lipit peroksidasyonu ürünlerini artırır. Bu durum da oksidatif stres artışıyla sonuçlanır. Bunun aksine, yeterli, dengeli ve sağlıklı beslenme hücre ve doku homeostazını korur, inflamasyonu ve oksidatif stresi baskılar (62). Plazma ve dokularda suda çözünen ve enzimatik olmayan güçlü antioksidan özellikteki C vitamini, serbest radikalleri temizler, NADPH oksidaz enzim aktivitesini azaltır (63). Padayatty ve ark. yüksek plazma C vitamini konsantrasyonunun mide kanseri riskini azaltması ile ilişkili bulmuştur (64). Yağda çözünen antioksidan E vitamini, $O_2^{\bullet-}$ radikali ve lipit peroksidasyonunu inhibe eder ve hücre membranlarında oksidatif hasarı önler (63, 65). β -karoten gibi bazı karotenoidler, Nrf2'ye bağlı yolların aktivasyonu ve detoksifiye edici enzimlerin ekspresyonunu arttırmak yoluyla antioksidan aktivite gösterir. Ayrıca karotenoidler UV ışınlarının zararlı etkilerini azaltır ve $O_2^{\bullet-}$ radikallerini elimine eder (63, 65). Meyve, sebze, tahıllar ve baharatlarda bolca bulunan diyet polifenoller antioksidan ve anti-inflamatuvar etkilere sahiptir. Polifenoller $O_2^{\bullet-}$, $OH^{\bullet}$, peroksil radikalleri ($ROO^{\bullet}$) gibi ROT türlerini nötralize eder. Zhang ve Tsao, diyet polifenoller veya takviyesi tüketiminin SOD, CAT, GPx ve GR enzim aktivitelerini değiştirerek redoks homeostazını düzenlediğini, sistemik ve lokalize inflamasyonu önlediğini saptamıştır (66). Bazı antioksidanlar ve nötralize ettikleri ROT türleri Tablo 3'de özetlenmiştir (63, 65).

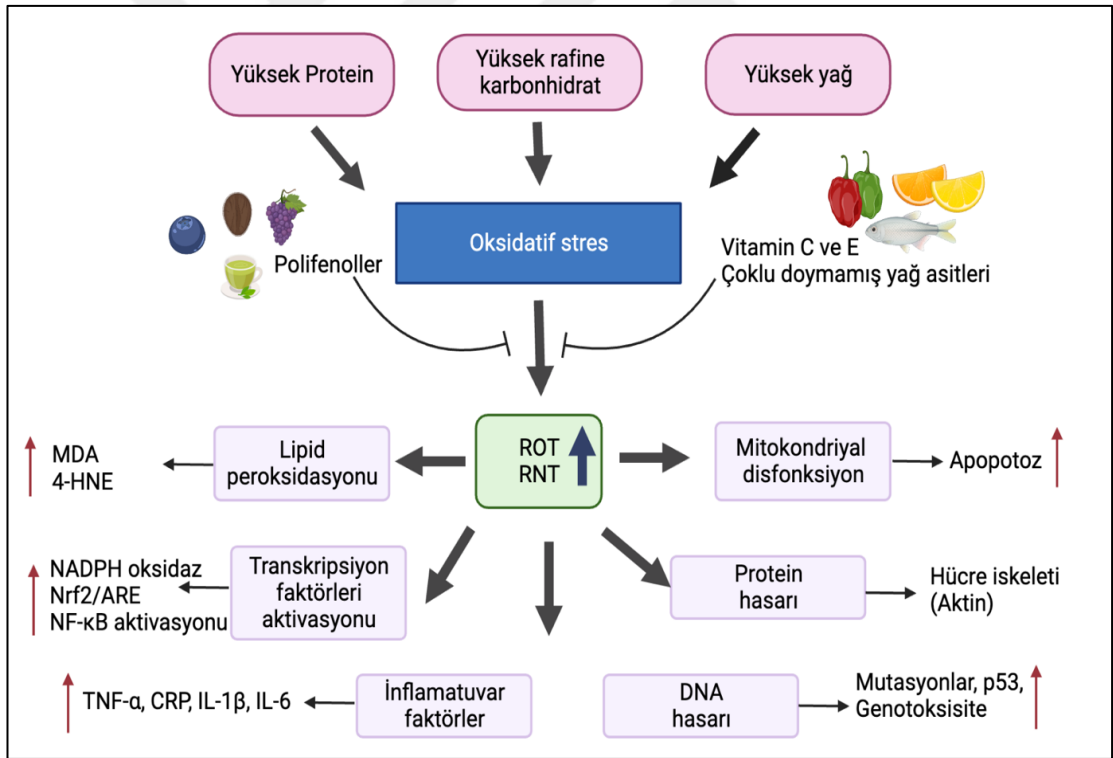
Tablo 3. Bazı antioksidanlar ve nötralize ettikleri ROT

Antioksidan	Nötralize ettikleri ROT
Ürik asit	$O_2^{\bullet-}$
Lipoik asit	$HO^{\bullet}$, 1O_2 , $HClO$
Ubikinol	$O_2^{\bullet-}$
Vitamin C	H_2O_2 , $O_2^{\bullet-}$, $HO^{\bullet}$, 1O_2
Vitamin E	1O_2 , $ROO^{\bullet}$
Karotenoidler	1O_2 , $O_2^{\bullet-}$, $ROO^{\bullet}$
Polifenoller	H_2O_2 , $O_2^{\bullet-}$

Doğal bağışıklığın önemli bir bileşeni olan inflamasyon, artan kan akışı, kılcal dilatasyon, lökosit infiltrasyonu, toksik ajanların eliminasyon ve onarımına neden olarak, hücresel hasara karşı oluşan lokal bir yanıttır (67). Vücutta oksidatif stresin

varlığı inflamasyonu tetikler. Çeşitli beslenme uygulamaları, oksidatif stres ve inflamasyona neden olur veya onları inhibe eder (62).

Batı tarzı diyetler, aşırı doymuş yağ, yüksek ve rafine karbonhidrat, hayvansal protein ve düşük bitki bazlı diyet posası tüketimi ile karakterize edilir. Yüksek yağ, protein ve basit karbonhidrat tüketimi oksidatif strese neden olur. Mitokondriyal disfonksiyon, protein yapısında bozulmalar, DNA hasarı, TNF- α , C-reaktif protein (CRP), IL-1 β , IL-6 gibi inflamatuvar biyobelirteçlerin artışı, NF- κ B aktivasyonu ve lipid peroksidasyonu gelişir. Batı tarzı diyet gibi beslenme uygulamaları ile meydana gelen obezite, kronik oksidatif stres ve inflamasyon insülin direnci, dislipidemi, hipertansiyon, metabolik disfonksiyon, kanser, diyabet ve kardiyovasküler hastalıklara neden olur. Bu etki Şekil 3’de özetlenmiştir (62).



Şekil 3. Oksidatif stres ve metabolik etkileri

Öte yandan, sağlıklı beslenme uygulamaları hücre ve doku homeostazını koruma, inflamasyonu inhibe etme ve kronik metabolik hastalıkları önlemede önemli rol oynar. Bazı metabolik bozuklukları hafifletmek ve önlemek için tıbbi beslenme tedavileri

önerilir (68). Yüksek miktarda zeytinyağı, zeytin, meyve, sebze, tahıl (çoğunlukla rafine edilmemiş), baklagil ve kuruyemiş, orta miktarda balık (>2 porsiyon/hafta) ve süt ürünleri (2 porsiyon/gün) ve düşük miktarda et ve et ürünleri (≤ 2 porsiyon/hafta kırmızı et, ≤ 1 porsiyon/hafta işlenmiş et) tüketimi ile karakterize edilen Akdeniz diyeti, polifenol, diyet posası, n-3 ve D vitamini kaynakları içeriği ile inflamasyon ve oksidatif stres baskılar (69). Ayrıca, çeşitli besinlerin oksidatif stres üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Örneğin; diyet posası, vitamin, mineral, β -glukan, steroller gibi fitokimyasallardan zengin tam tahıllar ve baklagillerin Nrf2 sinyal yolağı regülasyonu yoluyla ROT'u azalttığı saptanmıştır. Ayrıca bağırsak mikrobiyotasında kısa zincirli yağ asiti fermentasyon ürünlerinin yardımcı T hücreleri, nötrofiller, makrofajlar aracılığı ile sitotoksik aktiviteyi ve inflamasyonu azaltabileceği, immün sistemi destekleyebileceği görülmüştür (70). Meyve ve sebzelerin içerdiği β -karoten, E ve C vitamini gibi antioksidan vitaminler aracılığı ile ROT'ların vücuttaki zararlı etkilerini azaltabileceği saptanmıştır. Balık yağı ve deniz ürünleri ÇDYA'den zengin olmaları nedeniyle oksidatif stres ve inflamasyonu azaltır. Balık yağında bulunan α -linoleik asidin metabolizması sonucu anti-inflamatuvar özellikte eikozanoidler ve PG'ler meydana gelir (71).

2.3 Krill Yağı ve Genel Özellikleri

Krill, özellikle Kuzey (Arktik) ve Güney (Antarktik) kutup denizlerinde bol miktarda bulunan kırmızı renkli küçük kabuklulardır (4). Krill biyokütlesi en fazla Antarktika Okyanusu'nda bulunmakla beraber, bunun tahmini 300.000 milyon ton olduğu düşünülmektedir (72). Son yıllarda krill yağı ve sağlık üzerine olan etkileri konusunda yapılan araştırmalarda belirgin artış olmuştur.

Krill yağı, krill türlerinin en büyüğü olan Antarktika *Euphausia superba*'dan elde edilir, n-3 ÇDYA kaynağıdır ve uzun zincirli ÇDYA olan EPA ve DHA'dan meydana gelir (DHA; C22: 6 n-3) (73). Krill yağı, %30 oranında EPA ve DHA, %30 oranında astaksantin, sterol, E vitamini, D vitamini ve %40 oranında fosfolipid içerir (4). Krill yağının bazı besin ögesi içeriği Tablo 4'de verilmiştir (74). Krill'in 100 gramında bulunan E ve B12 vitamini, Ca, P ve Mg mineral içeriği (dış iskeleti çıkarılmadan)

önerilen günlük alım miktarını (RDA) karşılar. Ayrıca krill, yüksek provitamin A ve folat içerir (Tou vd., 2007). Krill yağı, EPA ve DHA'nın %80'inden fazlası fosfatidilkolinden oluşan fosfolipidler açısından zengindir (4). Omega-3 yağ asitlerinin fosfatidilkolinle yaptığı bağın biyoyararlanımı arttırdığı ve krill yağının sağlık üzerine olan etkilerine katkı sağladığı düşünülmektedir (75). Literatürdeki mevcut veriler, n-3 yağ asitlerinin trigliseride kıyasla fosfatidikoline bağlanmasının kalp, karaciğer ve beyin gibi hedef organlarda n-3 emilimini arttırdığını göstermiştir (76, 77). Fosfatidilkolin ve uzun zincirli n-3 yağ asitleri arasındaki etkileşim ile yağ asidi moleküllerinin bağırsak lümenininden emilimi kolaylaşır, biyoyararlanımı artar ve vücut/dokudaki n-3:omega-6 (n-6) oranı iyileşir (78).

Tablo 4. Krill yağının bazı besin ögesi içerikleri

Lipit	Krill
Toplam lipitler (g/100 g)	1.50
DYA (%)	26.1
14:0	4.9
16:0	18.8
18:0	1.0
TDYA (%)	24.2
16:1 (n-7)	4.9
18:1 (n-9)	16.4
ÇDYA (%)	48.5
18:2 (n-6)	3.3
18:3 (n-3)	1.1
20:4 (n-6)	0.5
20:5 (n-3) EPA	17.4
22:6 (n-3) DHA	12.4
Kolesterol (mg/100 g)	66.1

Krill yağının sterol içeriği toplam lipitlerin %2.3-3.9'u arasında değişir. Krill yağında en fazla bulunan sterol türleri; kolesterol ve kolesterolün öncüsü olan desmosteroldür. Desmosterol toplam sterollerin %1.70–18.63'ünü temsil eder. İçeriğinde bulunan kolesterol miktarı ise, diğer balık yağı, ton balığı yağı ve yumurta sarısı yağı içeren hoki yağından daha yüksektir. Krill yağının potansiyel nutrasötik uygulaması, kolesterolden zengin beslenen bireylerde ateroskleroz gibi kardiyovasküler hastalıkların tetiklenme ihtimali nedeniyle endişe konusu olabilir (6). Fakat, kullanılan ekstraksiyon yöntemlerinin kolesterol içeriğini değiştirebileceği bildirilmiştir. Bruheim & Cameron'ın çalışmasında su ile karıştırmış etanol yerine saf etanol kullanıldığında krill yağının kolesterol içeriğinin azaldığı saptanmıştır (79).

Krill yağı astaksantin içermektedir. Yağda çözünen bir karotenoid olan astaksantin antioksidan özelliktedir. Astaksantin koyu kırmızımsı-turuncu renktedir ve bu sayede krill yağının pembe-kırmızı rengine katkıda bulunmaktadır. Ticari olarak üretilen krill yağında astaksantin seviyeleri v/w düzeyinde yaklaşık 100 ppm'dir (80).

Krill yağı E vitamini türevleri içerir. E vitamini, tüm tokoferoller ve tokotrienoller için kullanılan genel terimdir. Krill yağındaki tokoferollerin %90'ından fazlası α -tokoferol formunda bulunur ve antioksidan kapasitesi yüksektir. Ayrıca tokoferoller, diğer biyoaktif bileşenlerle sinerjik etkiler gösterir (81, 82).

Görme işlevine sağladığı desteğin yanı sıra, büyüme, gelişme, bağışıklık ve inflamasyon üzerine yararlı etkileri olan yağda çözünen A vitamini, krill yağında bulunur (4, 83). Diğer deniz balık yağlarıyla karşılaştırıldığında krill yağının, ton balığı ve menhaden balık yağından daha yüksek A vitamini içerdiği saptanmıştır (84). Krill yağının kimyasal yapısı 6,8-di-C-glukozil luteolin'e benzeyen bir flavonoid içerdiği bildirilmiştir. Meyve, sebze ve diğer bitkisel kaynaklı besinlerde bolca bulunan flavonoidlerin kimyasal yapısına göre birçok çeşidi bulunmakla beraber, antioksidan, anti-bakteriyal, anti-inflamatuvar ve immünomodülatör etkileri bulunmaktadır (85). Spesifik ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak, önemli düzeyde flavonoid (7 mg/100 mL) içeren bir krill özü elde edilebildiği ve cildi UV-B ışınlarına karşı koruyabileceği saptanmıştır. Literatürdeki bazı çalışmalar, krill yağında bulunan flavonoidlerin C-glikozilasyonunun antioksidan ve anti-diyabetik etkilerini iyileştirebileceği bildirirse de kanıtlar yetersiz kalmaktadır. Ayrıca, krill yağının flavonoid içeriği ile ilgili veriler sınırlıdır (6, 82).

Krill çeşitli mineraller barındırmaktadır. Tam krill, yetişkinlerde RDA düzeylerini karşılayabilecek kalsiyum (1322 mg/100 g), fosfor (1140 mg/kg) ve magnezyum (360 mg/100 g) içerir. Fakat krill yağı üretim sürecinde mineral kayıpları meydana gelir (ortalama kayıplar; >0.1 mg/100 g çinko, >0.1 mg/100 g selenyum, >0.1 mg/100 g of kalsiyum, >50 mg/100 g potasyum). Ayrıca, krill yüksek miktarda flor içeren istisnai bir deniz ürünüdür. Krill kuru maddede 2400 mg/kg flor minerali içerir (6, 74).

Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi 2008 yılında krill yağını genel olarak güvenli gıda olarak (GRAS) kabul etmiştir (86). Krill yağının teröpatik dozu 1-3 gram arasında değişmekle beraber, 500 mg/gün tüketiminin uygun olduğu bildirilmiştir (4). Deney hayvanlarında yapılan toksisite çalışmalarında yan etki gözlemlenmeyen miktar (NOAEL) %5 olarak belirlenmiş, bu değer insanda eşdeğer doza çevrildiğinde 1g/gün'e denk gelmektedir (87).

2.3.1 Krill yağı uygulamaları

Literatürdeki mevcut veriler krill yağının sağlık üzerine olan yararlı etkilerine dikkat çekmektedir. Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda krill yağının, obezite, depresyon, ülseratif kolit, obezite, romatoid artrit, miyokard enfarktüsü gibi hastalıklara karşı olumlu etkileri olduğu saptanmıştır (73). İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalarda krill yağının, kronik inflamasyon, hiperlipidemi, obezite, kardiyovasküler hastalıklar ve diyabet üzerine faydalı etkileri olduğu görülmüştür (82).

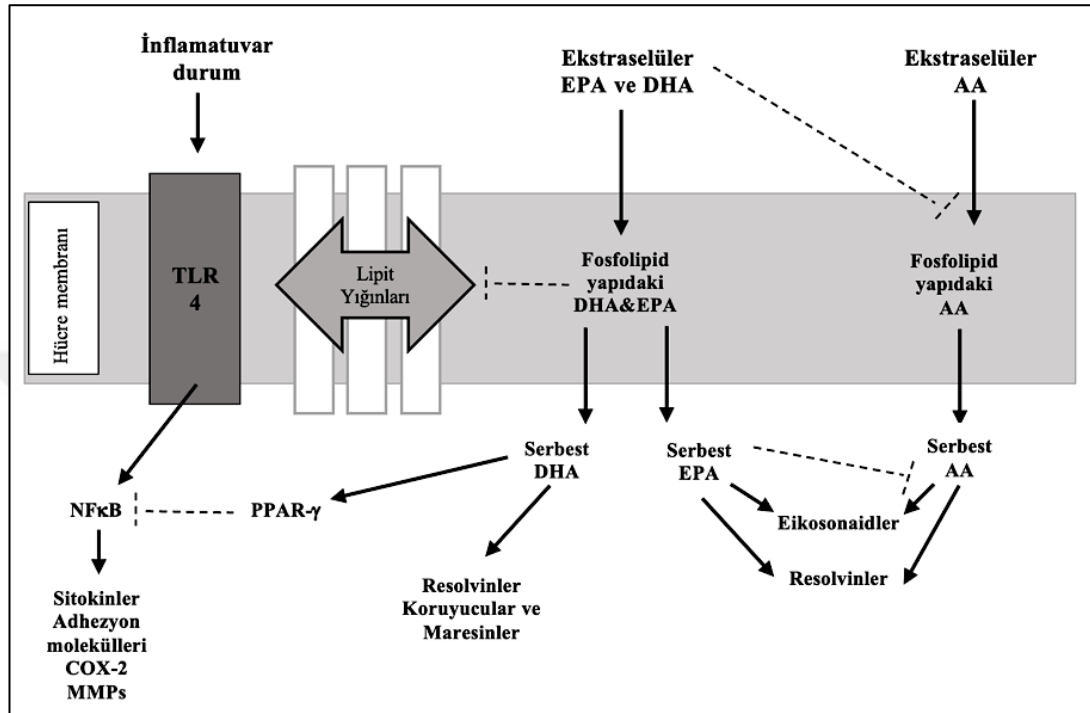
Krill yağının sağlık üzerine olan etkileri büyük oranda EPA ve DHA içeriğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Literatürdeki birçok çalışma n-3'lerin anti-trombotik, anti-inflamatuvar, anti-aterosklerotik, antioksidan özellikleri ile kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, demans, maternal ve çocuk sağlığı üzerine koruyucu ve tedavi edici etkileri üzerine yapılmıştır (88). Ayrıca, krill yağında bulunan fosfatidilkolinin VLDL oluşumunu baskılayarak yağlı karaciğer hastalığına karşı yararlı etkileri olduğu görülmüştür (89). Krill yağındaki astaksantin ve diğer vitaminler hastalıklara karşı koruyucu ve tedavi edici etkilerine destek sunar (4, 73). Astaksantin ORAC (serbest radikalleri absorbans kapasitesi) değerinin diğer antioksidanlarla karşılaştırıldığında balık yağından 48 kat, koenzim Q10'dan (CoQ10) 34 kat daha yüksek olduğu bulunmuştur (90).

2.3.2 Krill yağı ve oksidatif stres ilişkisi

Yapılan çalışmalar, içerdiği besin öğeleri aracılığıyla krill yağının inflamasyon ve oksidatif stresi azaltmada etkili olduğunu göstermektedir. Dekstran sülfat sodyum ile indüklenen ülseratif kolit modelinde, 4 hafta süreyle %5 oranında krill yağı takviyesinin sıçanlarda kolon uzunluğunu önemli ölçüde koruduğu ve inflamasyonla ilişkili IL ve PG seviyelerini iyileştirdiği saptanmıştır. Ayrıca krill yağı NF- κ B aktivitesi ve sitokin üretimini baskılamıştır (91). Deutsch ve ark. tarafından kronik inflamasyonu olan bireylerde yapılan çalışmada, 300g/gün krill yağı takviyesinin 7-14 gün içerisinde serum CRP seviyelerini anlamlı ölçüde azalttığı saptanmıştır (92). Demir yüklemesi yapılan sıçanlarda 8 hafta süreyle 40mg/kg krill yağı takviyesinin karaciğer ve dalakta TBARS ve GSH seviyelerini iyileştirerek, oksidatif stresi azalttığı görülmüştür (93). Deneysel nefrotoksisite modeli oluşturulmuş sıçanlarda 7 gün süreyle 500 mg/kg krill yağı takviyesinin plazma MDA seviyelerini iyileştirdiği ve histopatolojik düzeyde iyileşmelere neden olduğu bildirilmiştir (94). Kürek sporcularında yapılan çalışmada 1g/gün krill yağı takviyesinin egzersiz sonrası iyileşmeyi hızlandırdığı ve oksidatif stresi azalttığı saptanmıştır (95).

Hem krill hem de balık yağının içeriğinde mevcut olan EPA ve DHA anti-inflamatuvar özelliktedir. Anti-inflamatuvar etki; araşidonik asitten eikosanoid türevlerinin üretimi, lökosit kemotaksik faktör oluşumu, adhezyon molekülü ekspresyonu, NF- κ B yolağı aracılığıyla indüklenen pro-inflamatuvar sitokinlerin ve diğer pro-inflamatuvar proteinlerin üretimini azaltarak, lökosit-endotel adhezyon etkileşimini inhibe ederek, EPA'dan anti-inflamatuvar özellikteki eikosanooid türevlerinin üretimini arttırarak gerçekleştirir. EPA ve DHA'nın inflamatuvar süreçler üzerindeki etkisine hücre zarının yağ asidi kompozisyonundaki değişiklikler aracılık eder. Yağ asidi bileşimindeki değişiklikler, glikosfingolipid ve kolesterolden zengin lipit yığınlarının oluşumunu, değişen gen ekspresyonuna yol açan hücre sinyallerini ve eikosanoidler, resolvinler gibi lipit mediyatörlerinin oluşumunu etkileyebilir. İnflamatuvar yanıt sırasında hücreler n-6 yağ asidi olan araşidonik asitten (AA) zengindir ve konsantrasyonları EPA ve DHA uygulaması ile değişebilir. EPA ve DHA, resolvinleri, DHA ise anti-inflamatuvar koruyucuları ve maresinleri meydana getirir.

Membran içeriğinde artan EPA/DHA ve azalan AA içeriği, eikosanoidler, resolvinler ve koruyucuların üretiminde olumlu değişikliğe neden olur. Bu yollar Şekil 4’de özetlenmiştir. Şekil 4’de bulunan noktalı çizgiler inhibisyonu göstermektedir (96, 97).



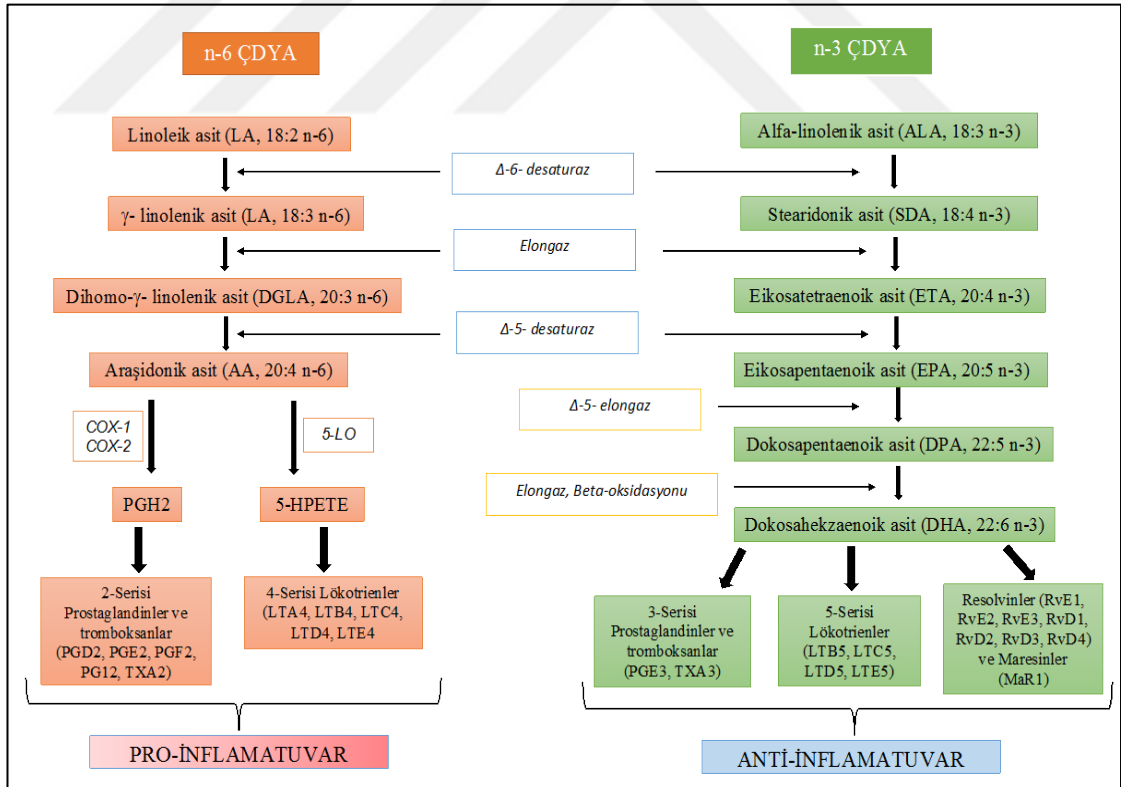
AA, araşidonik asit; COX, siklooksijenaz; DHA, dokosaheksaenoik asit; EPA, eikosapentaenoik asit; MMP, matris metalloproteinaz; NF- κ B, nükleer faktör κ B; PPAR, peroksizom proliferatörü ile aktive olan reseptör.

Şekil 4. Omega-3 yağ asitlerinin temel anti-inflamatuvar etkileri

2.4 Balık Yağı ve Genel Özellikleri

Balık yağı, yağlı balıkların dokularından elde edilir. Balık yağında bulunan ve inflamasyonu baskılayan eikosanoidlerin öncüleri olan n-3 yağ asitleri, EPA ve DHA içeriği nedeniyle sağlığın korunması ve sürdürülmesi için önerilir. Literatürdeki mevcut kanıtlar balık yağı tüketiminin, diyabet, kanser, astım ve kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu ve tedaviyi destekleyici etkileri olduğunu, inflamasyonu azalttığını, çocuklarda beyin ve retina gelişimini desteklediğini göstermektedir (98).

ÇDYA'den özellikle n-3 yağ asitlerine olan ilgi sağlığın geliştirilmesi ve hastalık riskinin azaltılması üzerindeki etkileri nedeni ile son yıllarda giderek artmaktadır (88). Yağ asidi molekülünde birden fazla çift bağ bulunduran ÇDYA'lar n-3 ve n-6 yağ asitleridir. ÇDYA vücutta sentezlenemediği için elzem yağ asitleridir, diyetle dışarıdan mutlaka alınması gerekmektedir (99). İnsan beslenmesi açısından elzem yağ asitleri, özellikle bulunan n-6 türevi olan linoleik asit (LA) (18:2) ve n-3 türevi olan α -linolenik asit (ALA) (18:3)'tir. n-3 ÇDYA, ALA, stearidonik asit (SDA; 18:4 n-3), EPA (20:5 n-3), dokosapentaenoik asit (DPA; 22:5 n-3) ve DHA (22:6 n-3) olarak sınıflandırılır (88). Elzem yağ asitlerinin metabolizması Şekil 5'de özetlenmiştir (14). Başlıca n-3 yağ asitleri; ALA, EPA ve DHA'dır. Bitkiden türetilmiş n-3 yağ asidi ALA keten tohumu, kolza tohumu yağı ve cevizde bolca bulunurken, EPA ve DHA'nın en önemli besin kaynakları sardalya, ringa balığı, uskumru, menhaden balığı, somon gibi yağlı balıkların etleri, morina karaciğeri, fok ve balina gibi deniz ürünleridir (100, 101).



Şekil 5. Elzem yağ asitleri metabolizması

Sağlığın korunması, sürdürülmesi ve elzem yağ asitlerinin yararlarından faydalanabilmek için diyetle n-6 ve n-3 alımının dengeli olması gerekir. Diyetteki n-6/n-3 oranlarının 5-10/1 olmalıdır. Türkiye'ye Özgü Beslenme Rehberi'ne (TÜBER) göre toplam yağ alımında enerjinin %5-10'u n-6 (LA), %0,6-1,2'si ise n-3 (ALA) yağ asitlerinden sağlanmalıdır (102). Amerikan Kalp Derneği (AHA) tarafından, tüm yetişkinlerin haftada en az 2 kez balık (özellikle yağlı olan türlerinden) tüketmesi önerilir. Ayrıca AHA, tanı almış koroner kalp hastalığı olan bireylerin günlük 1 g EPA+DHA takviyesi almasını tavsiye etmektedir. Bu miktarın yağlı balıklardan veya n-3 yağ asidi kapsüllerinden sağlanabileceğini belirtilmiştir. AHA, hiperlipidemisi olan hastalarda 2-4 g EPA+DHA takviyesinin, trigliserid seviyelerinin %20-40 oranında düşürebileceğini bildirmiştir (103). TÜBER'e göre ise, yetişkinlere günlük 250 mg EPA+DHA alımı önerilmektedir (102).

2.4.1 Balık yağı uygulamaları

Literatürdeki mevcut çalışmalar, balık yağının çeşitli hastalıklara dair tedavi edici ve koruyucu etkilerinin olduğuna dikkat çekmektedir. Bu yararlı etkilerinin içerdiği EPA ve DHA'dan kaynaklı olduğu düşünülmektedir (104).

Bitkilerde 15-desaturaz yardımıyla LA ve ALA sentezlenir. Bunun aksine 15-desaturaz enzimi insan vücudunda bulunmadığı için insanlarda ALA sentezi gerçekleşmez. Vücutta meydana gelen bir dizi fizyolojik süreç sonrası ALA'dan, EPA ve sonrasında DHA meydana gelir. Bu yağ asitlerinin metabolizması sonucu meydana gelen PG, tromboksan ve lökotrienler gibi eikozanoidler genellikle anti-inflamatuvar etki gösterir. Buna ek olarak AA'dan (n-6) sentezlenen eikozanoidler trombosit agregasyonu ile inflamasyona yol açmakta ve vazokonstriktör etki göstermektedir (88). Bu nedenle, eikozanoidlerin kaynağı fizyolojik fonksiyonda önemli bir rol oynamakta ve bunlar arasında meydana gelen dengesizlik tromboz, inflamasyon, astım ve inflamatuvar bağırsak hastalığı gibi çeşitli hastalıklara yol açmaktadır (105).

Yapılan birçok çalışmada n-3 yağ asitlerinin kardiyovasküler hastalıklarda yararlı etkileri bildirilmiştir. Mevcut verilere göre n-3 yağ asitleri; aritmi riskini, trombosit

agregasyonunu, plazma trigliserit düzeylerini, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) partikül boyutunu ve kan basıncını azaltmakta, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) kolesterol düzeylerini arttırmaktadır (106). Lee ve ark. 32.000 katılımcının dahil olduğu bir çalışmada n-3 takviyesi ile kardiyovasküler olaylarda %19-45 oranında azalma olduğunu göstermiştir (107). Yakın zamanda yapılan bir meta-analizde n-3 takviyesi, kardiyak mortalite, kardiyovasküler olaylar ve miyokard enfarktüsü riskinde azalma ile ilişkilendirilmiştir (108). Bazı çalışmalarda n-3 takviyesinin fetal gelişim, obezite, diyabet, metabolik sendrom, kanser, gastrointestinal ve nörodejeneratif hastalıklar üzerine yararlı etkileri olduğu gözlenmiştir (104, 106, 109).

2.4.2 Balık yağı ve oksidatif stres ilişkisi

Balık yağında bulunan n-3 yağ asitlerinin anti-inflamatuvar ve antioksidan etkileri üzerine birkaç muhtemel mekanizma tanımlanmıştır. Omega-3 yağ asitleri, AA'dan üretilen ve pro-inflamatuvar özellikleriyle bilinen eikozanoidlerin inflamatuvar etkilerini azaltır. Ayrıca, EPA ve DHA türevi olan anti-inflamatuvar eikozanoidleri artırır, NF- κ B aktivasyonunu azaltarak ve PPAR- γ aktivasyonunu sağlayarak TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8 gibi inflamatuvar sitokinlerin üretimini baskılar. Buna ek olarak, n-3'ler adezyon molekülleri ve ROT üretimini baskılayarak oksidatif stres ve inflamasyonu azaltır. Balık yağında bulunan n-3 ÇDYA ve muhtemel anti-inflamatuvar etki mekanizmaları Tablo 5'de özetlenmiştir (105).

İnsan nötrofillerinde ROT üretimi üzerine omega-3 takviyesinin etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, farklı dozlarda EPA+DHA takviyesinin ROT üretimini %30-55 oranında azalttığı görülmüştür (110, 111). Fisher ve ark. çalışmasında 6 g/gün EPA+DHA takviyesinin monositlerde H₂O₂ üretimini azalttığı saptanırken, başka bir çalışmada 3.8 g/gün EPA+DHA takviyesi monositlerde H₂O₂ düzeylerini anlamlı ölçüde değiştirmemiştir (112, 113). Yakın zamanda yapılan ve n-3 takviyesinin oksidatif stres parametreleri üzerine etkisinin incelendiği bir meta-analiz çalışmasında, n-3 takviyesiyle total antioksidan kapasite ve GPx aktivitesinin anlamlı ölçüde arttığı ve serum MDA seviyelerinin azaldığı görülmüştür. Bu çalışmada n-3 takviyesinin NO, GSH, SOD ve CAT seviyeleri üzerinde etkisi olmadığı saptanmıştır (114).

Tablo 5. Uzun zincirli n-3 yağ asitlerinin anti-inflamatuvar etkileri ve muhtemel etki mekanizmaları

Anti-inflamatuvar etki	Muhtemel etki mekanizması
Araşidonik asitten türetilen pro-inflamatuvar etkiye sahip eikozanoidlerin üretiminde azalma	Hücre zarı fosfolipidlerinde araşidonik asitin azalması. Araşidonik asit metabolizması inhibisyonu COX-2, 5-LOX ve 5-LOX aktive eden proteinlerinin azalmış inhibisyonu
Birçoğu anti-inflamatuvar etkiye sahip EPA kaynaklı eikozanoidlerin üretiminde artış	Hücre zarı fosfolipidlerinde EPA artışı
EPA ve DHA kaynaklı anti-inflamatuvar etkiye sahip resolvin üretiminde artış	Hücre zarı fosfolipidlerinde EPA ve DHA artışı
TNF-a, IL-1B, IL-6, IL-8 gibi inflamatuvar sitokin üretiminde azalma	NF-κB aktivasyonunda azalma. PPAR-γ aktivasyonunda artış.
Adezyon molekülleri ekspresyonunda azalma	Fosforilasyonu azaltarak NF-κB aktivasyonunda azalma. Diğer transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonunda değişiklikler.
Lökosit kemotaksisinde azalma	Çok net olmamakla beraber, bazı kemoatraktanların reseptör ekspresyonunda azalma
ROT üretiminde azalma	Çok net olmamakla beraber, sinyal sürecini etkileyen hücre zarı bileşiminde değişiklikler

Balık yağı ile gastrointestinal sistem hastalıkları arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar mevcuttur. Nemati ve ark. gastrik kanser hastalarında kemoterapi sırasında 3 g/gün n-3 takviyesinin MDA seviyelerinde azalma sağladığını saptamıştır (115). İndometazinle indüklenen gastrik ülser modelinde, DHA takviyesinin ülserle karşı koruyucu etkileri olduğu bildirilmiştir (52). Bhattacharya ve ark. çalışmasında aspirin, soğuk kısıtlama stresi, pilor ligasyonu ve etanol olmak üzere farklı ajanlarla indüklenen gastrik ülser deneysel modellerinde balık yağı takviyesinin etkilerini araştırmış, balık yağı takviyesinin yoğun asit-pepsin sekresyonunu azalttığı, koruyucu nitelikteki mukus ve mukozal hücrelerin yaşam sürelerinin arttığını göstermiştir. Ayrıca, n-3 uygulamaları CAT ve GPx aktivitesini önemli ölçüde artırırken, lipid peroksidasyonunu azalttığı bildirilmiştir (16).

2.5 Krill Yağı ve Balık Yağı Karşılaştırması

Her ikisinin temel kaynağı deniz ürünleri olduğu için, literatürde balık yağı ve krill yağının farklılıklarını inceleyen çalışmalar mevcuttur. Balık yağı krill yağından

farklı olarak, triaçilgliserol formunda n-3 yağ asitleri içerir. Balık yağının DHA içeriği krill yağıyla benzer iken, EPA içeriği daha düşüktür (4, 98).

Literatürde balık yağı ve krill yağı biyoyararlanımlarının farklarını inceleyen çalışma sonuçları tutarsızdır. Maki ve ark. çalışması biyoyararlanım arasında fark bildirmezken (116), bazı çalışmalar krill yağının biyoyararlanımının daha yüksek olduğu saptamıştır (75, 117). Schuchardt ve ark. tarafından yapılan çalışmada trigliserid form balık yağı, etil-ester form balık yağı ve krill yağının biyoyararlanımı araştırılmış ve krill yağı ile balık yağı arasında anlamlı fark olmadığı görülmüştür. Fakat bu çalışmanın örneklem büyüklüğünün küçük olması nedeniyle, daha fazla çalışma ve daha fazla örneklem sayısına ihtiyaç duyulduğu vurgulanmıştır (118).

Literatürdeki bazı çalışmalar, krill yağının sağlık üzerine olan etkinliğinin balık yağına göre daha üstün olduğunu işaret etmektedir (119, 120). Bu durum genellikle krill yağının, fosfatidil formunda olan EPA ve DHA'nın biyoyararlanımına bağlanmıştır. Fakat çalışmaların çoğunda krill ve balık yağı aynı dozlarda kullanılmış ve içeriklerinde barındırdıkları biyoaktif madde farklılıkları göz önüne alınmamıştır (6).

Deneysel artrit modelinde yapılan bir çalışmada, 68 gün süreyle DBA/1 farelerine 0.44 g/100 g krill veya balık yağı takviyesi yapılmıştır. Krill yağının artritlerde şişkinliği ve artrit hastalık skorunu daha fazla azalttığı görülmüştür. Fakat balık yağı ile beslenen artritli farelerde serum IL-1 α ve IL-13 seviyeleri krill yağı ve kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur (121). Anti-inflamatuvar ve anti-analjezik etkilerini değerlendirmek amacıyla deney hayvanlarında yapılan in vivo çalışmada, Neptune krill yağının balık yağına kıyasla ağrı ve inflamasyonu baskılamada daha etkili olduğu görülmüştür (122). Dislipidemisi olan 120 hastada yapılan bir çalışmada 3 ay süreyle krill ve balık yağı takviyesinin lipid parametrelerinde iyileşme sağlarken, krill yağı takviyesi alan grupta LDL ve total kolesterol seviyelerinde daha fazla düşüş olduğu saptanmıştır (119).

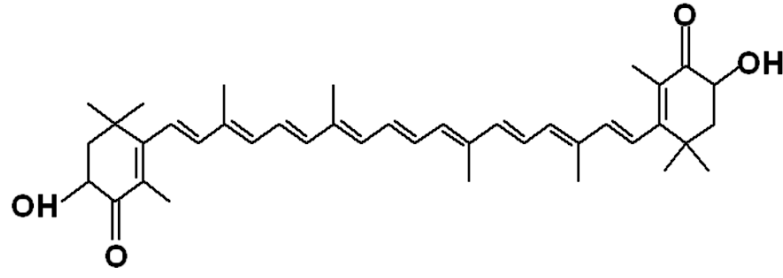
2.6 Astaksantin ve Genel Özellikleri

Astaksantin, çeşitli mikroorganizmalarda ve deniz hayvanlarında bulunan, lipitte çözünen ve A vitamini öncüsü özelliği olan bir ksantofil karotenoiddir. Astaksantin öncelikle mikroalgler, fitoplankton, maya ve bakteriler tarafından biyosentezlenir, daha sonra zooplankton, kabuklular ve balıklarda birikir. Astaksantin, yosun, karides, krill, ıstakoz, alabalık, kırmızı çipura ve somon gibi çeşitli deniz canlılarından veya *Haematococcus pluvialis* isimli yeşil bir mikroalgden elde edilir (123-125). Astaksantin doğal kaynakları Tablo 6'da verilmiştir (126). Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), astaksantin diyet takviyesi amacıyla kullanımını 1999 yılında, bir renklendirici olarak kabuklu ve alabalık yetiştiriciliği için yem endüstrisinde kullanımını 1987 yılında onaylanmıştır (127).

Tablo 6. Bazı doğal kaynakların astaksantin içeriği

Doğal Kaynakları	Astaksantin Konsantrasyonu (milyon başına)
Somon	5
Plankton	60
Krill	120
Kutup Karidesi (<i>P. borealis</i>)	1200
Phafia Mayası	10000
<i>Haematococcus pluvialis</i>	40000

Astaksantin, her iyonon halkası üzerinde yüksek antioksidan özelliklere sahip olan hidroksil ve keto parçaları bulunduran moleküler yapıdadır. Astaksantin yapısında bulunan polien zinciri hücre zarındaki radikalleri inhibe ederken, terminal halkası hücre zarının dış ve iç kısımlarındaki radikalleri temizler (123, 128). Astaksantin moleküler yapısı Şekil 6'da gösterilmiştir (123).



Şekil 6. Astaksantin kimyasal yapısı

Astaksantin vücuttaki biyolojik aktivitesinin, mevcut formu ve gastrointestinal sistemdeki enzimlerin aktivitesi ile ilişkili olabilen absorpsiyon hızına bağlı olduğu öne sürülmektedir. Lipitte çözünen bir karoteoid olduğu için, diyetle lipit eklenmesi astaksantin biyoyararlanımını artırabilir. Yemek tüketiminden 30 dakika sonra alınan kan örneklerinde astaksantin seviyeleri, yemekten önce alınandan 2.4-3 kat daha yüksek bulunmuştur. Bu farklılık yemek tüketiminden sonra karaciğer safra sekresyonunun ve kolesterol lipazın uyarılmasından kaynaklı olabileceği öne sürülmüştür (124, 129).

Astaksantin kan-beyin ve retina bariyerlerini geçen tek karotenoiddir. Nörolojik hasarlar, görme bozuklukları ve göz sağlığı ile kardiyovasküler hastalıkları tedavi etmek için sıklıkla kullanılan bir antioksidandır (129).

2.6.1 Astaksantin ve uygulamaları

Literatürdeki mevcut kanıtlar astaksantin, antioksidan, anti-kanser, immünomodülatör, kardiyovasküler hastalıklara, *H. pylori* enfeksiyonu, peptik ülser, pankreatit, diyabetes mellitus komplikasyonlarına karşı koruyucu etkisi olduğunu göstermektedir (123-125, 130, 131). Yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda astaksantin takviyesi MPO aktivitesini azaltmakta, lipit profilini iyileştirmekte, trigliserid sentezini azaltmakta, PPAR- γ yolağındaki etkileri aracılığıyla obezite ve insülin direncini tedavi etmede etkin olduğunu göstermiştir. Gentamisin ile indüklenen nefropatik sıçanlarda yapılan bir çalışmada, 15 gün süreyle 50 mg/kg/gün astaksantin

uygulamasının SOD aktivitesini arttırıp, NF-κB ve AP-1 inhibisyonunu sağlayarak kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu etki gösterdiği bulunmuştur (132).

Diyabetik farelerde 6-18 hafta süreyle astaksantin takviyesinin oksidatif stresi azalttığı ve serum insülin seviyelerini arttırdığı saptanmıştır. Sağlıklı yetişkinlerde yapılan çalışmada 2 hafta süreyle astaksantin uygulamasının LDL oksidasyonunu azalttığı görülmüştür (133). Literatürdeki in vitro ve in vivo çalışmalarda MAPK aktivitesini azaltarak karaciğer insülin direncini iyileştirdiği, PPAR-γ ekspresyonunu inhibe ederek karaciğerde yağ sentezini ve karaciğer fibrozunu inhibe ettiği saptanmıştır (129).

Yapılan çalışmalarda astaksantin günlük alım dozu 4-100 mg arasında geniş bir aralıktadır (134). İnsanlarda yapılan randomize kontrollü bir çalışmada 10 gün süreyle 6 mg/gün astaksantin herhangi bir yan etki göstermediği, 6 mg/gün takviyenin güvenli doz olduğu sonucuna varılmıştır. Astaksantin takviyesi ile ciddi yan etki gözlemlenmemiştir (135).

2.6.2 Astaksantin ve oksidatif stres ilişkisi

Literatürdeki veriler astaksantin antioksidan ve anti-inflamatuvar etkilerine dikkat çekmektedir. Astaksantin bu etkileri ile nörolojik hastalıklar, diyabet, gastrointestinal hastalıklar, karaciğer ve böbrek hastalıkları, göz ve cilt bozuklukları gibi birçok hastalığa karşı koruyucu ve tedavi edici etkilerinin olduğu saptanmıştır (124). Vücutta çeşitli nedenlerle üretilen ROT türleri karotenoidler tarafından endojen ve ekzojen olarak inhibe edilir. Karotenoidler içerdikleri polien zincirleri ve uzun konjuge çift bağlar sayesinde, tekli oksijenlerin ve zincir reaksiyonları inhibe eder (123). Astaksantin, her halka yapısında iki oksijenli grup içerir ve sahip olduğu kimyasal yapı antioksidan özelliğine katkı sağlar (134). Astaksantin yapısındaki polien zinciri hücre zarındaki radikalleri yakalarken, terminal halkası hücre zarının dış ve iç kısımlarındaki serbest radikalleri temizler (123).

Naguib'in yaptığı çalışmada lutein, likopen, α -karoten ve β -karoten gibi çeşitli karotenoidlerle karşılaştırıldığında daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır (90). Yapılan başka bir çalışmada astaksantin antioksidan aktivitesi, zeaksantin, lutein, kantaksantin, β -karotenden 10 kat, α -tokoferolden 100 kat daha yüksek bulunmuştur (9).

Astaksantin anti-inflamatuvar etkileri bulunmaktadır. Pro-inflamatuvar sitokin üretimini azaltarak, NF- κ B ve MAPK yolağını inhibe ederek, inflamasyonu baskılayıcı etki gösterir (10). Ayrıca, astaksantin lipopolisakkart ile uyarılan hücrelerde NO, prostaglandin E2 (PGE2) ve TNF- α üretimini inhibe etmiş, indüklenebilir NO sentaz (iNOS) aktivitesini azaltmıştır (136). Santos ve ark. tarafından gerçekleştirilen in vivo çalışmada astaksantin uygulaması sıçan alveolar makrofajlarında O2 •-, NO ve TNF- α üretimini inhibe etmiştir (137).

Deneyisel kolit modelinde yapılan bir çalışmada, astaksantin IL-1, IL-6, COX-2 dahil olmak üzere, inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu inhibe ettiği ve kolonik mukozal ülser ve adenokarsinom oluşumunu önemli ölçüde inhibe ettiği tespit edilmiştir (12). Naksopen ile deneyisel ülser modeli oluşturularak yapılan başka bir çalışmada, 25 mg/kg astaksantin takviyesinin peptik ülserle karşı koruyucu etki oluşturduğu, mide mukozasında lipid peroksidasyonu ürünlerinin artışını inhibe ettiği ve SOD, CAT ve GPx gibi önemli antioksidan enzim aktivitelerinde artışa neden olduğu görülmüştür (13). Astaksantinin gastrik ülser üzerine olan yararlı etkilerinin ROT inhibisyonunun yanı sıra, *H. pylori* enfeksiyonu sırasında bakteri büyümesini inhibe ederek, anti-mikrobiyal aktivite göstermesiyle ilişkilendirilmektedir. Buna ek olarak astaksantin T hücresi 1 (Th1) yanıtını Th2 yanıtına kaydırarak immün fonksiyonlarının bozulmasını önlemekte ve gastrik inflamasyonu baskılamaktadır (138).

2.7 Deneyisel Mide Ülseri Modelleri

Deney hayvanlarında gastrik ülser modellemesi; etanol, asetik asit, etanol/HCl, NSAİİ gibi kimyasal ajanların yanı sıra, iskemi-perfüzyon ile indükleme yapılan

cerrahi modeller ve suda yüzdürme, kısıtlama gibi stres modelleri uygulanarak yapılmaktadır (139). Sıklıkla kullanılan gastrik ülser modelleri aşağıda açıklanmıştır.

2.7.1 Etanol ile indüklenen mide ülseri

Gastrik ülserde önemli bir risk faktörü olarak kabul edilen etanol, deneysel mide ülseri modellemesinde sıklıkla kullanılır. Özellikle etanolün hücre dışı ve/veya hücre içi oksidatif stres oluşumunda rol oynadığı düşünüldüğünde, antioksidanların mide lezyonlarının önlenmesi ve iyileşmesindeki rolü deney modellerinde araştırılmıştır (27). Etanol midedeki koruyucu mukus tabakasının çözünmesine yol açarak mukozanın asit ve pepsine maruz kalmasına neden olur. Bu durum sonucunda peptik hasar meydana gelir. Ayrıca, etanol bikarbonat salgısı ve mide mukus yapımını azaltarak gastrik ülser oluşumuna katkı sağlar. Deneysel gastrik ülser modellemesinde etanolün kullanımı ucuz ve kolay uygulanması, deney hayvanlarında ölüme yol açma olasılığının düşük olması nedeniyle avantajlıdır. Fakat lezyonlar hızlı ve kendiliğinden düzelebildiği için bir ajanın uzun dönem etkisine bakılacağı araştırmalarda kullanılması uygun değildir. Etanol ile gastrik ülser oluşturulmadan önce hayvanlar 24 saat süreyle aç bırakılmalıdır. Sonrasında 0.5 mg/100 g etanol (%95-99 konsantrasyonlarında) orogastrik yolla deney hayvanına gavaj ile uygulanır. Uygulama yapıldıktan 1 saat sonra hayvanlar sakrifiye edilir (139, 140).

2.7.2 Asetik asitle oluşturulan mide ülseri

Deney hayvanlarında oluşturulan çoğu akut gastrik ülser modellerinin aksine, asetik asit kronik ülser modelinin oluşmasını sağlamaktadır. Bu modelde asetik asit mide serozasına uygulandıktan 2-3 gün sonra ülserasyonlar başlar ve bu ülserler insanda görülen kronik mide ülseri ile benzerlik gösterir. Asetik asit ile oluşturulan gastrik ülser modeli 2-12 hafta sonra iyileşebilir. Bu model deney hayvanlarında ölüme veya genel durumda bozulmaya yol açmayan ucuz ve kolay uygulanabilen bir modeldir. Modelleme öncesi deney hayvanları 24 saat aç bırakılmalıdır. Sıçanlar anestezi altındayken cerrahi müdahale yapılarak, asetik asit midenin serozal yüzeyine

1 dakika süreyle temas ettirilir. Uygulama yapıldıktan 7 gün sonra hayvanlar sakrifiye edilir (139).

2.7.3 Non-streoid anti-inflamatuvar ilaçlar ile indüklenen mide ülseri

NSAİİ'lerin etkisinin bir sonucu olarak gastrik hasarların patofizyolojisi, COX inhibisyonu yoluyla PG üretimini azaltmasından kaynaklanır. PG'ler, bikarbonat ve mukus salgısı uyarılması, mukozanın kan akışı ve hücre yenilenmesinin düzenlenmesi yoluyla mukozal bütünlüğün modülasyonunda önemli bir role sahiptir. Mukozal bariyer bozulduktan sonra, alttaki kan damarları, kan damarı bütünlüğünü etkileyen ve kanamaya neden olabilen mide asidi ve pepsine maruz kalır, bu durum gastrik ülser ile sonuçlanır (140, 141).

Deneyisel mide ülseri modellemesinde mukozal bariyer hasarı ve ardından gastrik ülseri neden olması için indol türevi olan indometazin kullanılmaktadır. Deney hayvanları 24 saat aç bırakıldıktan sonra orogastrik tüple 40-100 mg/kg indometazin verilir, 4-8 saat sonra gastrik ülser meydana gelir. Bu uygulama kronik mide ülseri modellerinde sıklıkla kullanılır (140, 141).

2.7.4 Hidroklorik asit/Etanol (HCl/Etanol) ile indüklenen mide ülseri

Daha önce bahsedildiği gibi etanol mukus üzerindeki çözücü etkisiyle gastrik hasara neden olur. Bununla beraber HCl verildiğinde gastrik ülser oluşumunu daha fazla tetiklenir. Ayrıca etanol mide mukozasında kan akışını azaltarak mikrovasküler lezyonlara yol açar. Deney hayvanları modelleme öncesi 24 saat süreyle yemekten, 4 saat süreyle su tüketiminden mahrum bırakılır. Sonrasında gastrik ülser oluşumu için, 0.5 mL/100 g vücut ağırlığı hacminde etanol-HCl çözeltisinin intragastrik olarak uygulanmasıyla indüklenir. Bu deneysel model, insanlarda geliştirilen akut gastrik ülseri benzerdir (140).

2.7.5 Stres ile indüklenen mide ülseri

Strese bağılı olan ülser modelleri diğerk modellerin aksine, fundus ve korpus gibi midenin asit oluşturan bölgelerinde görülür. Bu modellerin oluşumundaki temel mekanizma, mide asiti artışı ve gastrik mukozal kan akışının azalmasıdır. Stres modelleri akut ve kronik olarak 2'ye ayrılmaktadır. Akut stres modellerinde kısıtlama kafesine yerleştirilerek yapılan kısıtlama stresi modeli, kısıtlama kafesine yerleştirildikten sonra 2 saat süreyle 4-7⁰C'de tutularak yapılan soğuk-kısıtlama stresi modeli ve suda yüzdürme modeli kullanılır. Akut stres modellerinde en sık kullanılan suda yüzdürme stresinde deney hayvanları 24 saat aç bırakıldıktan sonra, kısıtlama kafesine yerleştirilir, 4 saat süreyle su banyosu içerisinde tutulur. Bu stres modelleri hayvan ölümüne neden olmamakla beraber uygulanışı kolaydır. Akut stres modellerinin daha çok midede savunma mekanizmalarının zayıflamasıyla ilgili olan çalışmalarda kullanımı uygundur. Kronik stres modellemesinde; besin kısıtlama stresi, aktivite stresi ve kronik ayak şoku stresi kullanılır. Bu yöntemlerin çoğu özel ekipman gerektirir. Kronik stres modellerinin en büyük dezavantajı deney hayvanlarının ölümü ve genel durumunda bozulmaya sebep olmasıdır. En büyük avantajı ise, diğerk modellerden farklı olarak kronik stres patogenezinde yer alan sinirsel mekanizmaların araştırılmasına olanak sağlamasıdır (139, 140).

3 GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Üsküdar Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan (ÜÜ-HADYEK) etik kurul onayı almıştır (2021-08) (EK 1). Hayvan takip ve deneyleri Üsküdar Üniversitesinde, biyokimyasal ve histopatolojik deneyler Marmara Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Tıbbi Laboratuvar ve Patoloji Laboratuvar Programlarında, kan örneklerinin incelenmesi Bahçeşehir Üniversitesi Medikal Park Göztepe hastanesinde tamamlanmıştır.

3.1 Deneyde Kullanılan Besin Takviyelerinin Hazırlanması

Krill yağı seçiminde ve doz ayarında literatürdeki çalışmalar temel alındı. Bu amaçla Aker-Biomarine patentli teknolojiyi kullanan, EPA+DHA içeriği 250 mg olan (82, 91, 142) Tabilaç firmasının krill yağı kullanıldı. Kullanılan krill yağının içerik analizi Ek 2'de sunulmuştur. Deney hayvanlarına uygulanacak balık yağı (143, 144) türünün trigliserid formda olması, EPA+DHA içeriği ve IFOS sertifikalı olması dikkate alınarak, Eczacıbaşı-Kampotu firmasından temin edildi. Balık yağının içerik analizi Ek 3'de verilmiştir. Astaksantin (13) temini Donamed ilaç firmasından yapıldı. Temin edilen ürün %10 (v/w) oranında astaksantin içermekteydi. Çalışmada kullanılan astaksantin içerik analizi Ek 4'de sunulmuştur.

3.2 Deney Hayvanları Özellikleri

Deneyde kullanılan sıçanlar Üsküdar Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim Merkezi'nden temin edildi. Çalışmaya 12-16 haftalık Sprague Dawley (300-350 gr) erkek sıçanlar dahil edildi. Denekler, ortam sıcaklığı $21\pm1^{\circ}\text{C}$, 12 saat gece/12 saat gündüz ışık kontrolü sağlanmış odalarda, standart pelet yem ve yeterli su erişimi sağlanmış kafeslerde 3-4 adet olacak şekilde barındırıldı.

3.3 Canlı Ağırlık Takibi

Deney hayvanları deneyin ilk haftasından itibaren, haftanın ilk günü (Pazartesi) her hafta öğleden önce olacak şekilde 4 hafta süreyle tartıldı ve sonuçlar düzenli olarak kaydedildi. Tartımlar için hayvan tartısı (CAS-SW, CAS, Çin) kullanıldı.

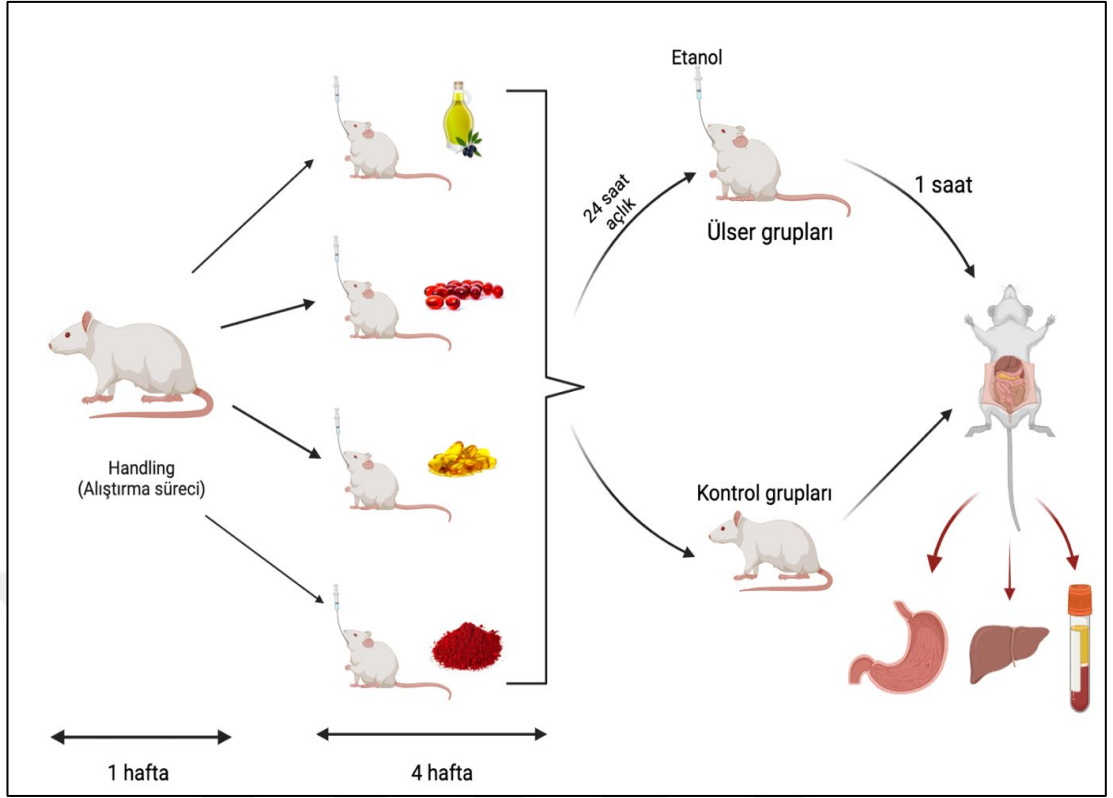
3.4 Yem ve Sıvı Tüketimi Takibi

Deney hayvanları standart pelet yem ile beslendi. Tükettikleri yem miktarları kafeste kalan yem miktarından yola çıkılarak hesaplandı, gram olarak ifade edildi. Kafeslere konulan yemler 2 gün aralıklarla yenilendi.

Deney hayvanlarına kafeste bulunan hayvan sayısına göre 500 veya 1000 ml'lik suluklar ile su desteği sağlandı. Tükettikleri su miktarları, kalan miktarlardan yola çıkılarak hesaplandı, ml olarak ifade edildi. Suluklara konulan sular 2 gün aralıklarla yenilendi.

3.5 Deney Gruplarının Oluşturulması

Deneye başlamadan 1 hafta önce hayvanlar rastgele alınarak, her gün her hayvan için 5 dakika olacak şekilde handling uygulaması yapıldı. Hayvanların 1 hafta süreyle ortam koşullarına adaptasyonu sağlandıktan sonra deney grupları planlandı. Çalışmada kullanılacak hayvanlar 8 gruba ayrıldı. Kafeslerdeki hayvan sayısı kafes boyutuna göre belirlendi. Her kafeste en fazla 4 hayvan barındırıldı. Gruplardaki hayvan sayısı referans çalışmadan örnek alınarak planlandı (n=8) (122). Deney çalışma planı Şekil 7'de görülmektedir.



Şekil 7. Deney çalışma planı

Buna göre çalışmada 8 deney grubu oluşturuldu. Gruplar ve deneyleri aşağıdaki şekilde planlandı;

- 1) **Kontrol grubu (K grubu):** Sıçanlara 4 hafta süreyle her gün aynı saat ve aynı dozda olmak üzere oral gavaj yolu ile zeytinyağı uygulaması yapıldı. Uygulanacak doz hesaplaması için hayvanların günlük yem tüketimleri (g) referans alındı. Günlük yem tüketimleri hesaplanarak, %2,5'u (v/w) oranında zeytinyağı takviyesi yapıldı. Su ve yeme ad libitum erişim sağlandı.
- 2) **Balık Yağı Kontrol Grubu (BY+K Grubu):** Sıçanlara 4 hafta süreyle her gün aynı saat ve aynı dozda olmak üzere oral gavaj yolu ile balık yağı uygulaması yapıldı. Uygulanacak doz hesaplaması için hayvanların günlük yem tüketimleri (g) referans alındı. Balık yağı 1:1 oranında zeytinyağı ile dilüe edildi. Günlük yem tüketimleri hesaplanarak, %2,5'u (v/w) oranında balık yağı takviyesi yapıldı. Kullanılan balık yağı takviyesi %42 EPA ve %22.3 DHA içermektedir. Sıçanlara ad libitum su ve yem erişimi sağlandı.

- 3) **Krill Yağı Kontrol Grubu (KY+ K Grubu):** Sıçanlara 4 hafta süreyle her gün aynı saat ve aynı dozda olmak üzere oral gavaj yolu ile krill yağı uygulaması yapıldı. Uygulanacak doz hesaplaması için hayvanların günlük yem tüketimleri (g) referans alındı. Krill yağı 1:1 oranında zeytinyağı ile dilüe edildi. Günlük yem tüketimleri hesaplanarak, %2,5'u (v/w) oranında krill yağı takviyesi yapıldı. Kullanılan krill yağının EPA ve DHA içeriği sırasıyla 17g/100 g ve 9g/100 g idi. Sıçanlara ad libitum su ve yem erişimi sağlandı.
- 4) **Astaksantin Kontrol Grubu (ASTA+K Grubu):** Sıçanlara 4 hafta süreyle her gün aynı saat ve aynı dozda olmak üzere oral gavaj yolu ile astaksantin uygulaması yapıldı. Uygulanacak doz hesaplaması için hayvanların günlük yem tüketimleri (g) referans alındı. Günlük yem tüketimleri hesaplanarak, %2,5'u (v/w) oranında astaksantin takviyesi yapıldı. Kullanılan astaksantin takviyesi %10 oranında astaksantin içeriyordu. Doz hesaplamasında orana dikkat edildi. Sıçanlara ad libitum su ve yem erişimi sağlandı.
- 5) **Ülser grubu (Ü Grubu):** Diğer gruplara yağ takviyeleri yapıldığı için sıçanlara 4 hafta süreyle her gün aynı saat ve aynı dozda olmak üzere oral gavaj yolu ile zeytinyağı uygulaması yapıldı. Uygulanacak doz hesaplaması için hayvanların günlük yem tüketimleri (g) referans alındı. Günlük yem tüketimleri hesaplanarak, %2,5'u (v/w) oranında zeytinyağı takviyesi yapıldı. Su ve yeme ad libitum erişim sağlandı. Sıçanlara etanol ile indüklenen deneysel ülser modeli oluşturuldu. Sıçanlara 24 saatlik açlık sonrasında, etanol (5 ml/kg) oral gavaj yoluyla uygulandı. Etanol uygulamasından 1 saat sonra hayvanlar kurban edildi.
- 6) **Balık Yağı Ülser Grubu (BY+Ü Grubu):** Sıçanlara 4 hafta süreyle her gün aynı saat ve aynı dozda olmak üzere oral gavaj yolu ile balık yağı uygulaması yapıldı. Uygulanacak doz hesaplaması için hayvanların günlük yem tüketimleri (g) referans alındı. Balık yağı 1:1 oranında zeytinyağı ile dilüe edildi. Günlük yem tüketimleri hesaplanarak, %2,5'u (v/w) oranında balık yağı takviyesi yapıldı. Kullanılan balık yağı takviyesi %42 EPA ve %22.3 DHA içermekteydi. Su ve yeme ad libitum erişim sağlandı. Sıçanlara etanol ile indüklenen deneysel ülser modeli oluşturuldu. Sıçanlara 24 saatlik açlık

sonrasında, etanol (5 ml/kg) oral gavaj yoluyla uygulandı. Etanol uygulamasından 1 saat sonra hayvanlar sakrifiye edildi.

7) Krill Yağı Ülser Grubu (KY+Ü Grubu): Sıçanlara 4 hafta süreyle her gün aynı saat ve aynı dozda olmak üzere oral gavaj yolu ile krill yağı uygulaması yapıldı. Uygulanacak doz hesaplaması için hayvanların günlük yem tüketimleri (g) referans alındı. Krill yağı 1:1 oranında zeytinyağı ile dilüe edildi. Günlük yem tüketimleri hesaplanarak, %2,5'u (v/w) oranında krill yağı takviyesi yapıldı. Kullanılan krill yağının EPA ve DHA içeriği sırasıyla 17g/100 g ve 9g/100 g idi. Su ve yeme ad libitum erişim sağlandı. Sıçanlara etanol ile indüklenen deneysel ülser modeli oluşturuldu. Sıçanlara 24 saatlik açlık sonrasında, etanol (5 ml/kg) oral gavaj yoluyla uygulandı. Etanol uygulamasından 1 saat sonra hayvanlar sakrifiye edildi.

8) Astaksantin Ülser Grubu (ASTA+Ü Grubu): Sıçanlara 4 hafta süreyle her gün aynı saat ve aynı dozda olmak üzere oral gavaj yoluyla astaksantin uygulaması yapıldı. Uygulanacak doz hesaplaması için hayvanların günlük yem tüketimleri (g) referans alındı. Günlük yem tüketimleri hesaplanarak, %2,5'u (v/w) oranında astaksantin takviyesi yapıldı. Kullanılan astaksantin takviyesi %10 oranında astaksantin içeriyordu. Doz hesaplamasında orana dikkat edildi. Su ve yeme ad libitum erişim sağlandı. Sıçanlara etanol ile indüklenen deneysel ülser modeli oluşturuldu. Sıçanlara 24 saatlik açlık sonrasında, etanol (5 ml/kg) oral gavaj yoluyla uygulandı. Etanol uygulamasından 1 saat sonra hayvanlar sakrifiye edildi.

Deney gruplarına 4 hafta süreyle yukarıda belirtilen uygulamalar yapıldı. Oral gavaj uygulamaları Resim 1'de gösterilmiştir.



Resim 1. Oral gavaj uygulaması

3.6 DeneySEL Ülser Modelinin Oluşturulması

Deney hayvanlarında mide ülseri oluşturmak için etanol kullanıldı. Etanol, mide mukusundan kolayca geçerek, doğrudan toksik etkisi ile mide mukozasında nekrotik lezyonlar oluşturur. Etanol; mide mukus içeriği üretimini, bikarbonat salgısını ve gastrik mukozal kan akışını azaltarak, inflamatuvar medyatörlerin ekspresyonunu, damar geçirgenliğini, HCl ve pepsine maruziyeti arttırarak, mide mukozasında harabiyeti arttırır ve peptik ülser oluşumunu tetikler (140, 145). Özellikle akut mide ülseri modeli oluşturmada sıklıkla kullanılan etanol, uygulamanın kolay ve ülser oluşturmada etkin olması nedeni ile çalışmamıza uygun olduğuna karar verildi. Etanol ile indüklenen gastrik ülser modeli oluşturmak için, sıçanlara 24 saatlik açlık sonrasında, etanol (5 ml/kg; Merck, Darmstadt, Almanya) oral gavaj yoluyla verildi. Sıçanlara ülser indüksiyonundan 1 saat sonra ötenazi yapıldı.

3.7 Deneyin Sonlandırılması

Tüm hayvanlar anestezi altında (ketamin 100mg/kg ve ksilazin 10 mg/kg) kalplerinden kan örnekleri alındıktan sonra sakrifiye edildi. Mide ve karaciğer dokuları çıkartılarak histolojik ve biyokimyasal analizler için ayrıldı. Mide ve karaciğer örneklerin bir kısmı histolojik analizler için %10'luk tamponlu formole alındı. Kalpten alınan kan örnekleri 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra serumları ayrıldı. Serumlar ve biyokimyasal analizler için ayrılan dokular analiz süresine kadar -80°C derin dondurucuda saklandı.

3.8 Mide Dokusunun Makroskopik İncelenmesi

Deney hayvanları sakrifiye edildikten sonra çıkarılan mide dokuları büyük kurvartur hizasından açıldı, serum fizyolojik (SF) ile yıkandı. Midede oluşan ülserasyonlar cetvel yardımıyla mm olarak ölçüldü. Ölçülen ülserasyonlara göre lezyon skorlaması Tablo 7'de gösterilmiştir (146).

Tablo 7. Mide dokusu makroskopik lezyon skorlaması

Lezyon boyutu	Skorlama
Hasar yok	0
Lümeninde kan varlığı	1
Nokta tipi erozyonlar ;	2
1-5 adet küçük erozyon (<2 mm);	3
>5 adet küçük erozyon;	4
Büyük erozyonlar (>2 mm);	5
>3 adet büyük erozyon	6

3.9 Biyokimyasal İncelemeler

3.9.1 Doku MDA düzeyi tayini

Dokuda oluşan serbest radikal hasarının oluşturduğu ilk hasar hücre zarı fosfolipidleri üzerinedir. Doku MDA seviyesi, lipid peroksidasyonu son ürünlerinin göstergesi olup, oksidatif stres ölçümü için kullanıldı. Mide veya karaciğer dokuları

tartıldıktan sonra tüplere alındı. Her 1 gr doku için 10 ml TCA (%10 v/v) eklenerek homojenize edildi. Homojenizasyon sonrası dokular 4.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlar %0.67 TBA hacim (1:1) ile 15 dakika kaynatıldı. Reaksiyon sonucunda oluşan pembe renk spektrofotometrede 532 nm dalga boyunda okundu (Beckman DU730 UV/Vis, USA). Sonuçlar nmol/g doku olarak ifade edildi.

3.9.2 Doku GSH düzeyi tayini

GSH dokuda bulunan non-enzimatik antioksidan sistemlerden birini oluşturmaktadır. Antioksidan gücün değerlendirilmesinde doku GSH ölçümlerinden yararlanıldı. Ölçüm için %10 TCA ile muamele edilen mide veya karaciğer doku örnekleri santrifüjlendikten sonra 0.3 M Na₂HPO₄ ve Ellman ayırıcı ile karıştırıldı. Tüpler 15 dakika süreyle ışık görmeyen karanlık ortamda saklandı. Reaksiyon sonrası oluşan sarı renk 412 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak okundu (Beckman DU730 UV/Vis, USA). Sonuçlar µmol/g doku olarak ifade edildi.

3.9.3 Doku MPO aktivitesi tayini

Mide veya karaciğer doku örnekleri 0.25-0.30 g olacak şekilde tartıldı, tüplere alındı. Hazırlanan soğuk potasyum fosfat tamponu mide veya karaciğer dokularının üzerine kendi ağırlıklarının 9 katı olacak şekilde eklenerek, 20-25 saniye süreyle homojenize edildi. Sonrasında 4°C'de 12.000 rpm'de 10 dakika süre ile santrifüj edildi. Süpernatant kısmı uzaklaştırıldıktan sonra pelet kısımları ayrı tüplere alındı. Peletin üzerine KPi tamponu (pH:6) eklendi. Sonrasında her tüp 10 saniye homojenize edildi, işlem sırasında tüpler buzda bekletildi. Bu aşamadan sonraki süreç su banyosunda 37°C'de gerçekleştirildi. O-dianizidin.2 HCl'nin (Sigma) 50 mg'ı 2.5 ml distile suda çözdürüldü. Ayrıca 2.5 ml distile suda 50 mg sodyum azit (Sigma) hazırlandı. Su banyosundaki tüplere KPi, O-dianizidin ve H₂O₂ eklendi, 30 saniye aralıklarla tüplere 50 µl örnek eklenerek, reaksiyon başlatıldı. Tüpler 3 dakika süreyle 37°C'de inkübe edildi. Reaksiyon 30 µl %2'lik sodyum azid ile durdurulduktan sonra ependorf tüplere alındı. Tüpler 12.000 rpm'de 4°C'de 2 dakika santrifüj edildi.

Süpernatantlar 460 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak okundu (Beckman DU730 UV/Vis, USA). Sonuçlar U/gr doku olarak ifade edildi.

3.9.4 Doku KL ölçümü

Dokudan salınan serbest radikaller mikrosaniye ile ifade edilen yarı ömürlere sahiptir. KL yöntemi ile spesifik problemler kullanılarak, serbest radikallerin görünür/ölçülür olmasını sağlar. Ölçüm için 2 mL PBS + HEPES (0.5 M PBS ve 20 mM HEPES) tamponu kullanıldı. Mide veya karaciğer dokuları önce 25-30 mg'lık küçük parçalara ayrılarak PBS + HEPES tamponu içeren sayım tüplerine aktarıldı. KL ölçümleri luminometrede luminol veya lusigenin problemleri kullanılarak yapıldı. Lusigenin aracılı ölçüm ile süperoksit radikali saptanırken, luminol aracılı ölçüm ile hidroksil, hidrojen peroksit, hipoklorit ve hidroperoksil radikalleri saptanmaktadır. Dokuların eklendiği tüplere luminol (0.2 mM) veya lusigenin (0.2 mM) eklenerek, 1 dakikalık aralıklarla 5 dakika süreyle luminometrede (MiniLumat, Berthold, Bad Wildbad, Almanya) ölçüm yapıldı. Ölçüm sonunda dokular sayım tüplerinden çıkarıldı, sıvıları filtre kağıdına emdirildikten sonra kuru ağırlıkları alındı. Nitrik oksit ölçümü için luminol-Na tuzu- hidrojen peroksit sistemi kullanıldı. Bu amaçla, 2 mL PBS + HEPES tamponu içine alınan dokuların üzerine sırasıyla K_2CO_3 (0.4 mM), desferal (60 μ M), H_2O_2 (4 mM) ve luminol-Na tuzu (3.6 μ M) eklenerek, 1 dakikalık aralıklarla 5 dakika süreyle sayım gerçekleştirildi. Peroksinitrit farkının ortaya konması için NO ölçüm ortamına karboksi-PTIO eklendi, 10 dak inkübe edildi ve ölçüm tekrar edildi. Aradaki fark peroksinitrit değeri olarak hesaplandı (147, 148, 149, 150).

Luminometre ile elde edilen ölçümlerin tamamı eğri altı alan (AUC: Area Under Curve) hesaplanarak, doku ağırlığına orantılandı ve rlu/mg (relative light unite/mg doku ağırlığı) olarak ifade edildi.

3.9.5 Serum biyokimya ölçümleri

Deney hayvanları kan örneklerinden elde edilen serumlarda lipit parametrelerinden total kolesterol (mg/dL), trigliserid (mg/dL), LDL-kolesterol (mg/dL) ve HDL-kolesterol tayini yapıldı. Karaciğer fonksiyonlarının değerlendirilmesi için serum örneklerinden ALT (U/L), AST (U/L), ALP (U/L) ve GGT (U/L) ölçümleri yapıldı. İnflamasyon değerlendirilmesi için serum C-reaktif protein (CRP) (mg/dL) düzeyleri ölçüldü. Bu işlemler otomasyon sistemi (Abbott Architect ci8200, USA) kullanılarak, gerçekleştirildi.

3.10 Histopatolojik İncelemeler

Sıçanların mide veya karaciğer dokuları hücresel değişimlerin izlenmesi için histopatolojik olarak incelendi. Mide dokularında oluşan ülser, perforasyon, infiltrasyon ve hücresel lezyonlar ile karaciğer dokularında hepatositlerde oluşan vaküolizasyon/piknotik hepatosit nukleuslar, sinüzoidlerde genişleme/ konjesyon ve Kupffer hücre infiltrasyonları yönünden incelendi. Sıçan mide veya karaciğer dokuları %10 tamponlu formalinde fikse edildi ve doku takip işlemine geçildi. Bu işlemde; dokular dehidrasyon amacıyla %70, %96 ve absölü etanol serilerinden geçirildi, şeffaflandırma amacıyla iki ayrı ksilende bekletildi. Takip işleminin ardından dokular parafine gömüldü ve mikrotomda (Leica, RM2125RT) 3µm kalınlığında kesitler alındı. Histomorfolojik inceleme için Hematoksilen ve Eozin ile boyandı, ışık mikroskopunda (Olympus BX51, Tokyo, Japonya) semikantitatif olarak değerlendirildi. Mide dokusu incelemeleri yüzey epitel deskuamasyonu, hemoraji, glandüler düzensizlikler ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu hasar belirteci olarak kullanıldı. Bulgulara ait skorelama şu şekilde yapıldı: 0=hasar yok, 1=hafif hasar, 2=orta hasar, 3=ağır hasar. Her dokunun skorlamasında en az beş mikroskobik alan incelendi ve her bir kriter için toplam hasar skoru 12 olarak belirlendi (151).

Karaciğer dokuları semikantitatif değerlendirilmesi için skorelama dokulardaki her bir hasar parametresi 0- 3 arasında değerlendirildi (0=yok, 1=hafif, 2=orta, 3=ciddi). Tüm dokular için maksimum skor 9 idi (152).

3.11 İstatistiksel Değerlendirme

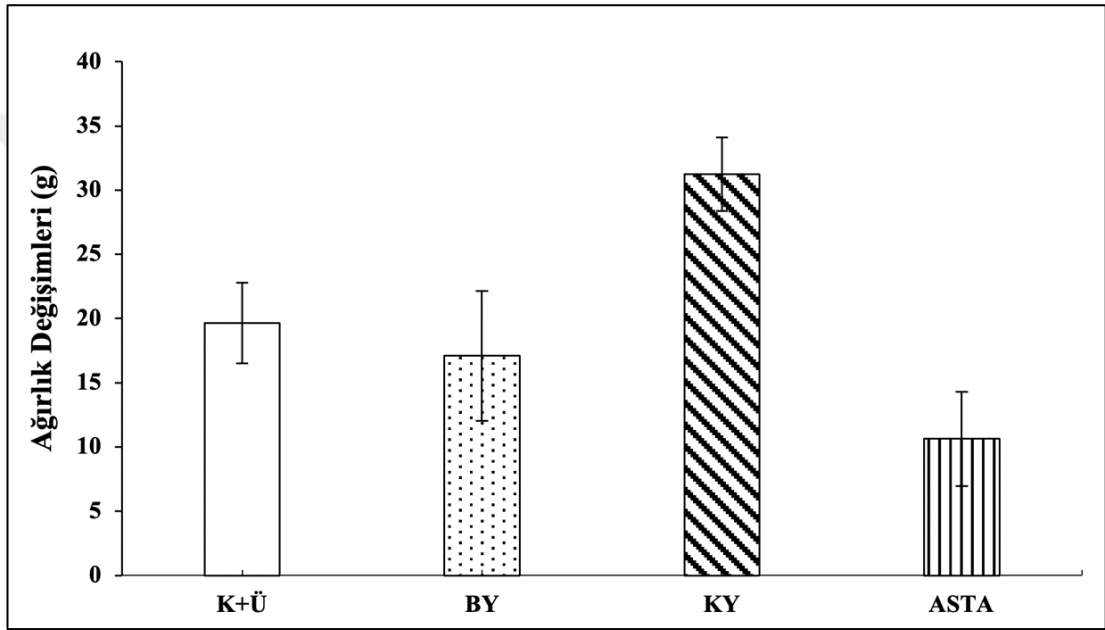
Çalışmadan elde edilen tüm veriler GraphPad InStat 3.10 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) programında analiz edildi (153). Deney grupları arası farklılıkları belirlemek için tek bağımlı değişkene bakarken tek yönlü varyans analizi (Oneway ANOVA) kullanıldı. Grupların karşılaştırması için ANOVA sonrası Tukey-Kramer çoklu testi uygulandı. Tüm veriler ortalama standart hata olarak ifade edildi ve p değerinin 0.05'den küçük olması ($p < 0.05$) istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



4 BULGULAR

4.1 Deney Hayvanlarının Ağırlık Değişimleri

Tüm gruptaki deney hayvanlarının ağırlıkları deney süresi boyunca takip edildi ve 7 gün aralıklarla aç karnına tartımları gerçekleştirildi. Dört haftalık uygulama sonucunda deney hayvanlarındaki ağırlık değişimleri Şekil 8’de görülmektedir.



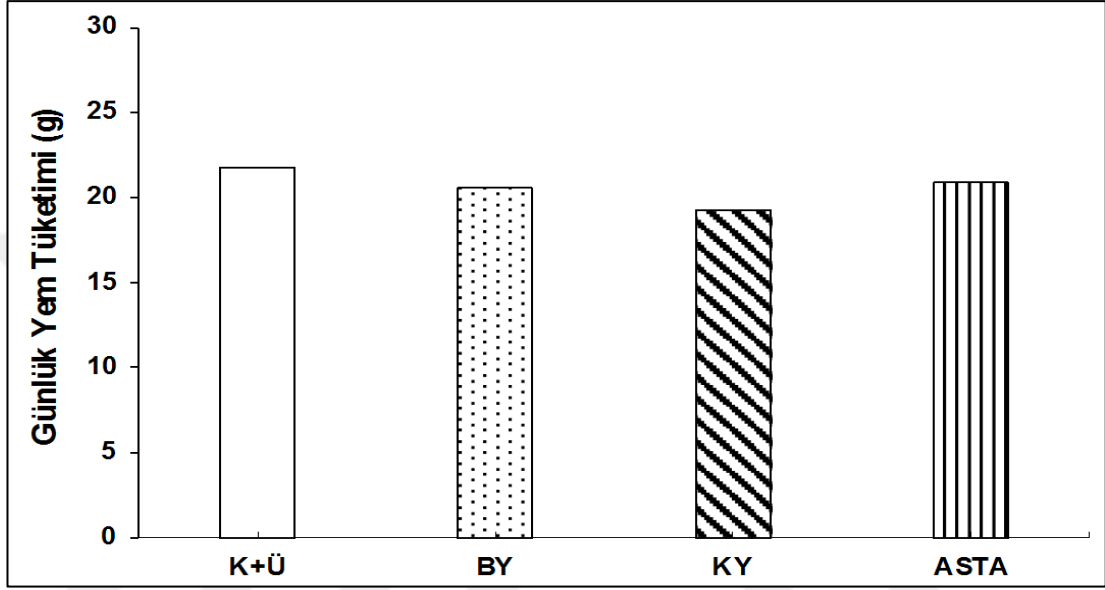
K+Ü, Kontrol ve Ülser grubu; BY, Balık yağı+Kontrol grubu ve Balık Yağı+Ülser grubu; KY, Krill yağı+Kontrol grubu ve Krill yağı+Ülser grubu; ASTA, Astaksantin+Kontrol grubu ve Astaksantin + Ülser grubu ($p>0.05$)

Şekil 8. Dört hafta süreyle takviye alan sıçanların ağırlık değişimleri

Tüm gruptaki hayvanların kilo aldığı belirlendi. Buna göre kontrol ve ülser gruplarındaki hayvanların deney süresi boyunca ortalama ağırlık değişimleri 19.64 ± 3.14 g, balık yağı takviyesi alan ülser ve kontrol gruplarında 17.09 ± 5.05 g, krill yağı takviyesi alan ülser ve kontrol gruplarında 31.25 ± 2.87 g, astaksantin takviyesi alan kontrol ve ülser gruplarında ise 10.64 ± 3.67 g olarak saptandı. Gruplar arasındaki ağırlık değişimleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0.05$).

4.2 Deney Hayvanların Yem ve Su tüketimi

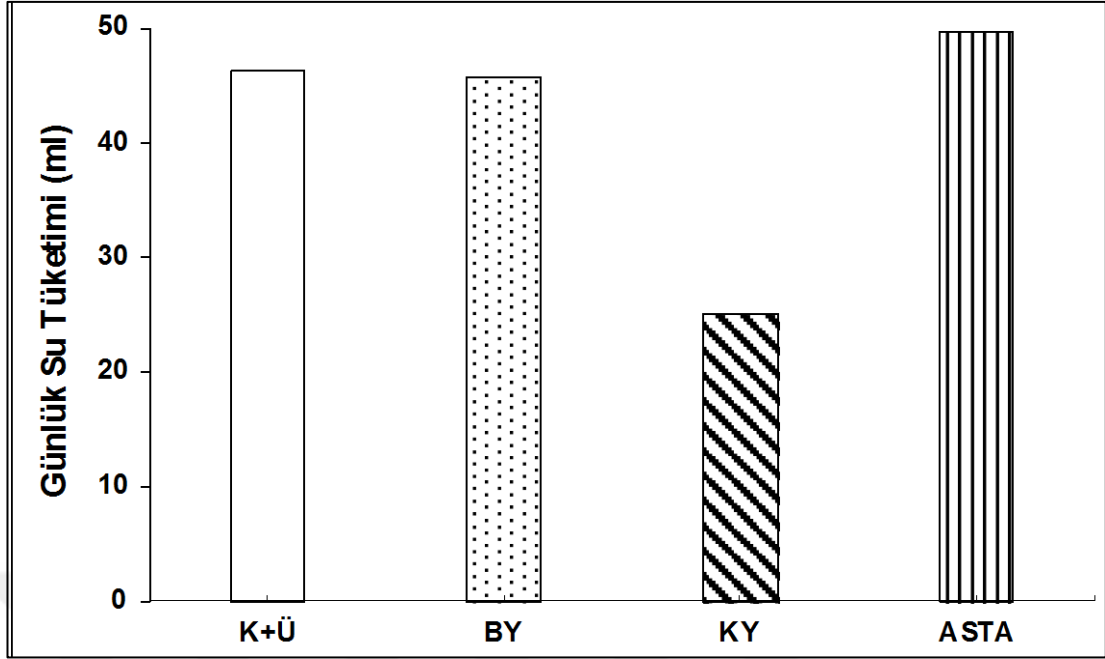
Tüm gruptaki deney hayvanlarının yem ve su tüketimleri deney süresi boyunca günlük olarak takip edildi. Buna göre günlük ortalama yem tüketimi Şekil 9’da görülmektedir.



K+Ü, Kontrol ve Ülser grubu; BY, Balık yağı+Kontrol grubu ve Balık Yağı+Ülser grubu; KY, Krill yağı+Kontrol grubu ve Krill yağı+Ülser grubu; ASTA, Astaksantin+Kontrol grubu ve Astaksantin + Ülser grubu ($p>0.05$)

Şekil 9. Dört hafta süreyle takviye alan günlük yem tüketimi

Kontrol ve ülser grubundaki hayvanların günlük ortalama yem tüketimi 21.8 g bulundu. Günlük yem tüketimleri balık yağı takviyesi alan grupta 20.5 g, krill yağı takviyesi alanlarda 19,2 g ve astaksantin uygulaması yapılan grupta 20.9 g olarak saptandı. Gruplar arası yem tüketimlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$).



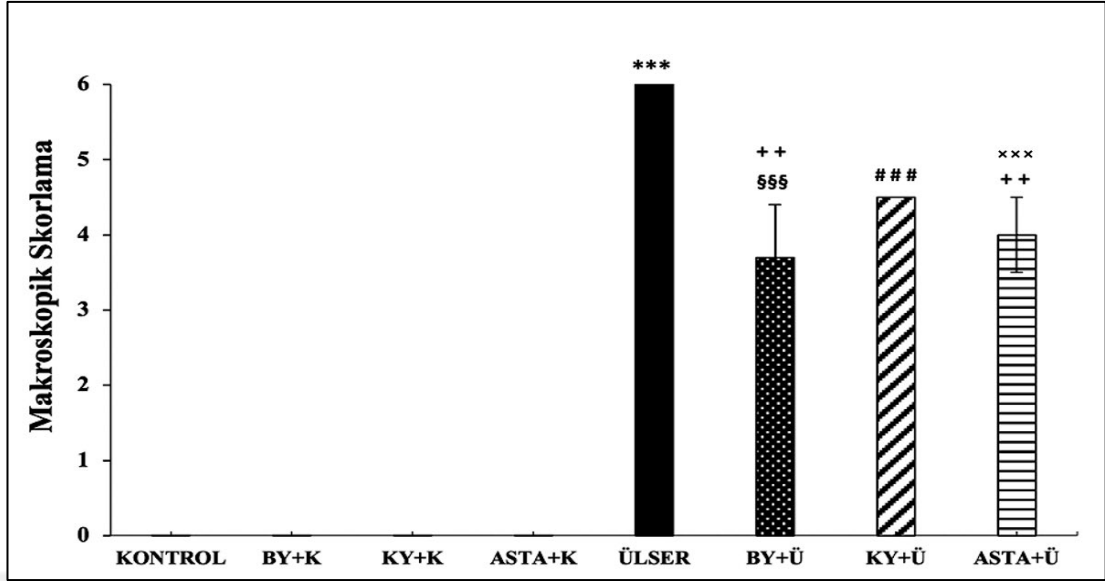
K+Ü, Kontrol ve Ülser grubu; BY, Balık yağı+Kontrol grubu ve Balık Yağı+Ülser grubu; KY, Krill yağı+Kontrol grubu ve Krill yağı+Ülser grubu; ASTA, Astaksantin+Kontrol grubu ve Astaksantin + Ülser grubu ($p>0.05$)

Şekil 10. Dört hafta süreyle takviye alan sıçanların günlük ortalama su tüketimi

Deney hayvanların günlük su tüketimine ilişkin veriler Şekil 10'da gösterilmiştir. Kontrol ve ülser grubundaki hayvanların günlük ortalama su tüketimi 46.28 ml bulundu. Günlük su tüketimleri balık yağı takviyesi alan gruplarda 45.65 ml g, krill yağı takviyesi alanlarda 25.09 ml ve astaksantin uygulaması yapılan gruplarda 49,64 ml olarak saptandı.

4.3 Mide Dokusu Makroskopik Skorlama Sonuçları

Deney sonucunda elde edilen mide dokuları makroskopik olarak incelendi. Makroskopik inceleme sonuçları Şekil 11'de izlenmektedir.



BY+K, Balık yağı+Kontrol grubu; KY+K, Krill yağı+Kontrol grubu; ASTA+K, Astaksantin+Kontrol grubu; BY+Ü, Balık yağı+Ülser grubu; KY+Ü, Krill yağı+Ülser grubu; ASTA+Ü, Astaksantin+Ülser grubu.

İstatistiksel değerlendirme sonuçlarına göre *** $p<0.001$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; ++ $p<0.01$ ülser grubu ile karşılaştırıldığında; \$\$\$ $p<0.001$ BY+K ile karşılaştırıldığında; ### $p<0.001$; KY+K ile karşılaştırıldığında; xxx $p<0.001$ ASTA+K ile karşılaştırıldığında.

Şekil 11. Mide dokusu makroskopik değerlendirme sonuçları

Mide dokuları incelendiğinde kontrol gruplarının normal anatomik görünümde olduğu gözlenirken, etanol ile indüklenen ülser gruplarında belirgin ülserasyonlar saptandı ($p<0.001$).

Krill yağı uygulaması yapılan kontrol grubunda (0 ± 0), krill yağı ve ülser uygulaması yapılan gruba (4.5 ± 0) göre makroskopik skorlarda belirgin derecede düşük skorlar saptandı ($p<0.001$).

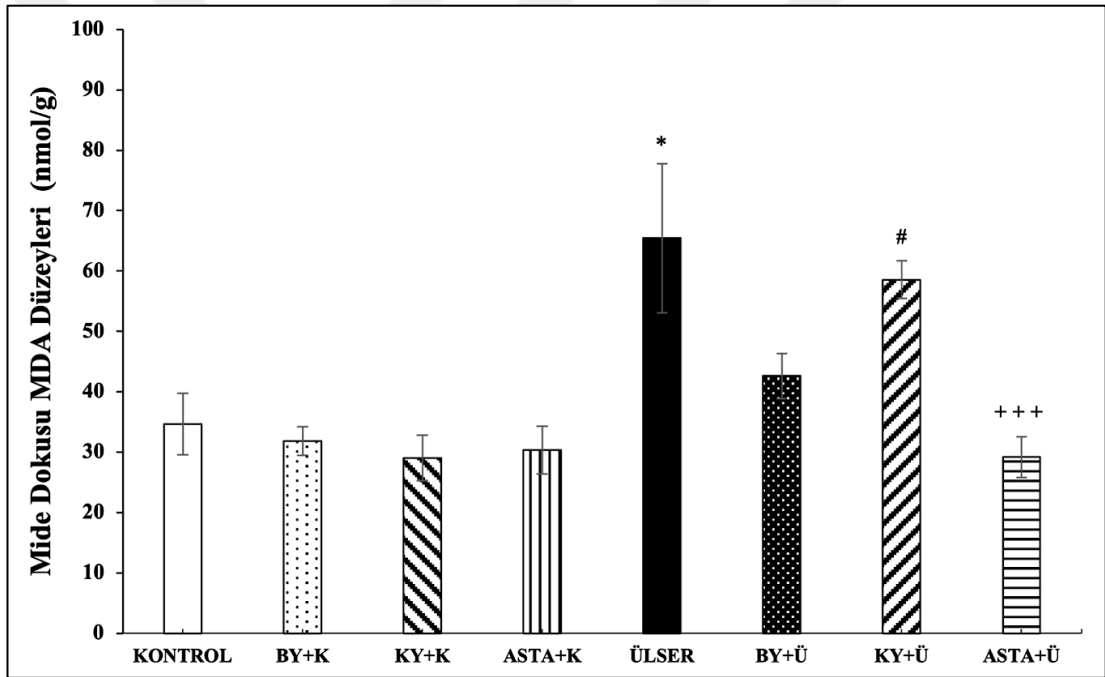
Balık yağı (3.7 ± 0.7) ve astaksantin (4 ± 0.5) takviyesi alan ülser gruplarında, ülsere (6 ± 0) kıyasla anlamlı derecede daha düşük makroskopik skorlar belirlendi ($p<0.01$).

Balık yağı uygulaması yapılan kontrol grubunda (0 ± 0), balık yağı ve ülser uygulaması yapılan gruba (3.7 ± 0.7) göre makroskopik skorlarda belirgin derecede düşük skorlar saptandı ($p<0.001$).

Astaksantin ve ülser uygulaması (4 ± 0.5) yapılan grupta, sadece astaksantin uygulaması yapılan kontrol grubuna (0 ± 0) göre makroskopik skorlarda belirgin derecede yüksek skorlar saptandı ($p<0.001$).

4.4 Mide Dokusu MDA, GSH ve MPO ölçümleri

Deney gruplarına ait mide dokularının MDA, GSH ve MPO ölçümlerinin istatistiksel değerlendirmeleri aşağıda gösterilmiştir. Mide dokusu MDA düzeylerin nmol/g cinsinden ifade edilmiş olup, Şekil 12’de tüm gruplara ait sonuçlar gösterilmiştir.



BY+K, Balık yağı+Kontrol grubu; KY+K, Krill yağı+Kontrol grubu; ASTA+K, Astaksantin+Kontrol grubu, BY+Ü, Balık yağı+Ülser grubu; KY+Ü, Krill yağı+Ülser grubu; ASTA+Ü, Astaksantin+Ülser grubu.

İstatistiksel değerlendirme sonuçlarına göre; * $p<0.05$, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; +++ $p<0.001$, ülser grubu ile karşılaştırıldığında; # $p<0.05$, krill yağı uygulaması yapılan kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

Şekil 12. Mide dokusu MDA düzeyi sonuçları

Deney gruplarının mide dokularının MDA düzeyleri değerlendirildiğinde ülser grubunun (65.44 ± 12.37 nmol/g doku) kontrole (34.67 ± 5.11 nmol/g doku) göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptandı ($p < 0.05$).

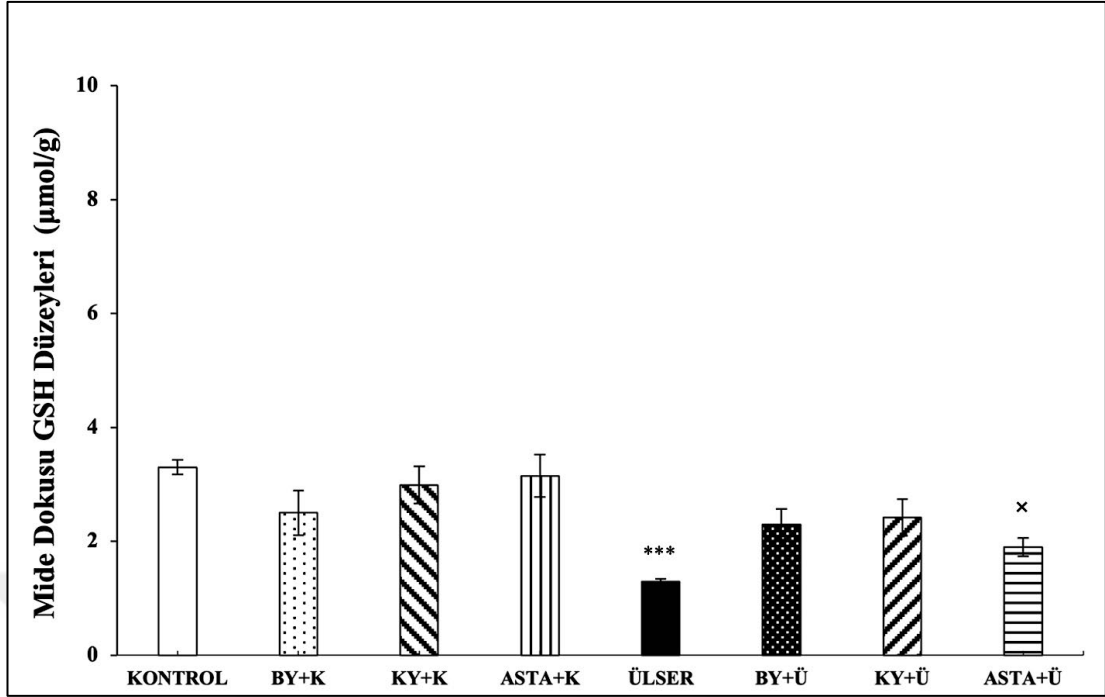
Balık yağı, krill yağı ve astaksantin uygulaması yapılan kontrol gruplarının MDA düzeyleri ile hiçbir takviye almayan kontrol grubu arasında farklılık bulunmadı ($p > 0.05$).

Krill yağı takviyesi alan ülser grubunda (58.55 ± 3.11 nmol/g doku) krill yağı takviyesi alan kontrol grubuna (29.03 ± 3.77 nmol/g doku) göre MDA düzeyleri anlamlı derecede yüksekti ($p < 0.05$).

Ülser oluşturulan takviye alan gruplar ile ülser grubu arasındaki MDA düzeyleri değerlendirildi. Balık yağı (42.62 ± 3.75 nmol/g doku) ve krill yağı (58.55 ± 3.11 nmol/g doku) takviyesi alan ülser grubu ile takviye yapılmayan ülser grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p > 0.05$). Astaksantin uygulaması yapılan ülser grubunda MDA düzeyleri 29.19 ± 3.38 nmol/g doku olarak bulundu ve ülser grubuna göre belirgin derecede düşük olduğu saptandı ($p < 0.001$).

Balık yağı takviyesi alan kontrol grubu (31.86 ± 2.37 nmol/g doku) ile balık yağı takviyesi alan ülser grubu (42.62 ± 3.75 nmol/g doku) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p > 0.05$). Benzer şekilde, astaksantin takviyesi alan kontrol grubu (30.35 ± 3.92 nmol/g doku) ile astaksantin takviyesi alan ülser grubu (29.19 ± 3.38 nmol/g doku) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p > 0.05$).

Tüm deney gruplarından elde edilen mide dokularının GSH düzeyleri değerlendirilmiştir. Değerlendirmenin sonucu Şekil 13'te özetlenmiştir.



BY+K, Balık yağı+Kontrol grubu; KY+K, Krill yağı+Kontrol grubu; ASTA+K, Astaksantin+Kontrol grubu; BY+Ü, Balık yağı+Ülser grubu; KY+Ü, Krill yağı+Ülser grubu; ASTA+Ü, Astaksantin+Ülser grubu.

İstatistiksel değerlendirme sonuçlarına göre; *** $p < 0.001$, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; × $p < 0.05$ astaksantin uygulaması yapılan kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

Şekil 13. Mide dokusu GSH düzeyi sonuçları

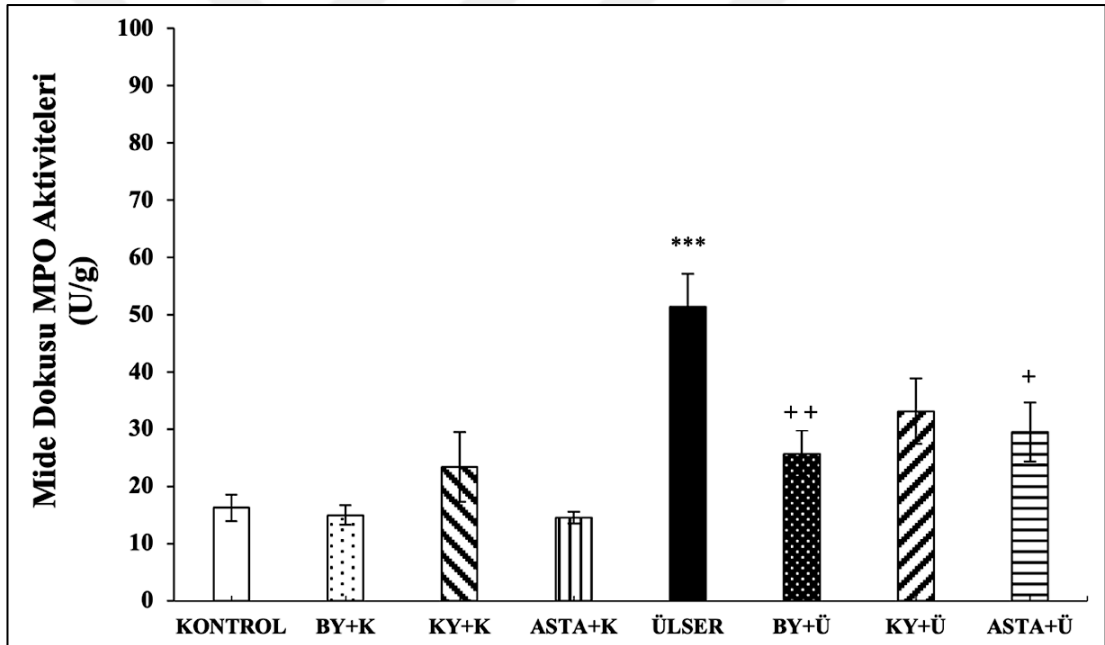
Mide dokusundaki GSH düzeylerinin ülser grubunda ($3.30 \pm 0.13 \mu\text{mol/g}$ doku) kontrol grubuna ($1.29 \pm 0.05 \mu\text{mol/g}$ doku) göre belirgin derecede daha düşük olduğu görüldü ($p < 0.001$).

Doku GSH düzeyleri balık yağı uygulaması yapılan kontrol grubunda $2.50 \pm 0.39 \mu\text{mol/g}$ doku, krill yağı takviyesi yapılan kontrol grubunda $2.99 \pm 0.33 \mu\text{mol/g}$ doku ve astaksantin uygulaması yapılan kontrol grubunda $3.15 \pm 0.37 \mu\text{mol/g}$ doku olarak saptanırken, takviye almayan kontrol grubu ile arasında farklılık bulunmadı ($p > 0.05$).

Krill yağı ($2.42 \pm 0.32 \mu\text{mol/g}$), balık yağı ($2.30 \pm 0.27 \mu\text{mol/g}$) ve astaksantin ($1.90 \pm 0.16 \mu\text{mol/g}$) takviyesi yapılan ülser grupları ile takviye yapılmayan ülser grubunun GSH düzeyleri arasında anlamlı farklılık yoktu ($p > 0.05$).

Takviye yapılan ülser grupları ile takviye yapılan kontrol gruplarının GSH düzeyleri değerlendirildiğinde, krill yağı ve balık yağı gruplarında istatistiksel olarak farklılık saptanmadı ($p>0.05$). Astaksantin takviyesi yapılan kontrol grubunda (3.15 ± 0.37 $\mu\text{mol/g}$), astaksantin takviyesi yapılan ülser grubuna (1.90 ± 0.16 $\mu\text{mol/g}$) kıyasla GSH düzeyleri yüksekti ($p<0.05$).

Deney gruplarına ait mide dokusu MPO aktiviteleri değerlendirildi ve sonuçlar Şekil 14’de sunuldu. Deney gruplarına ait mide dokularındaki MPO aktiviteleri ölçüldüğünde, etanol ile indüklenen ülser grubunda (51.33 ± 5.83 U/g doku), kontrole (16.29 ± 2.32 U/g doku) kıyasla belirgin şekilde MPO aktivitelerinin yüksek olduğu bulundu ($p<0.001$).



BY+K, Balık yağı+Kontrol grubu; KY+K, Krill yağı+Kontrol grubu; ASTA+K, Astaksantin+Kontrol grubu, BY+Ü, Balık yağı+Ülser grubu; KY+Ü, Krill yağı+Ülser grubu; ASTA+Ü, Astaksantin+Ülser grubu.

İstatistiksel değerlendirme sonuçlarına göre; *** $p<0.001$, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; + $p<0.05$, ülser grubu ile karşılaştırıldığında; ++ $p<0.01$, ülser grubu ile karşılaştırıldığında.

Şekil 14. Mide dokusu MPO aktivitesi sonuçları

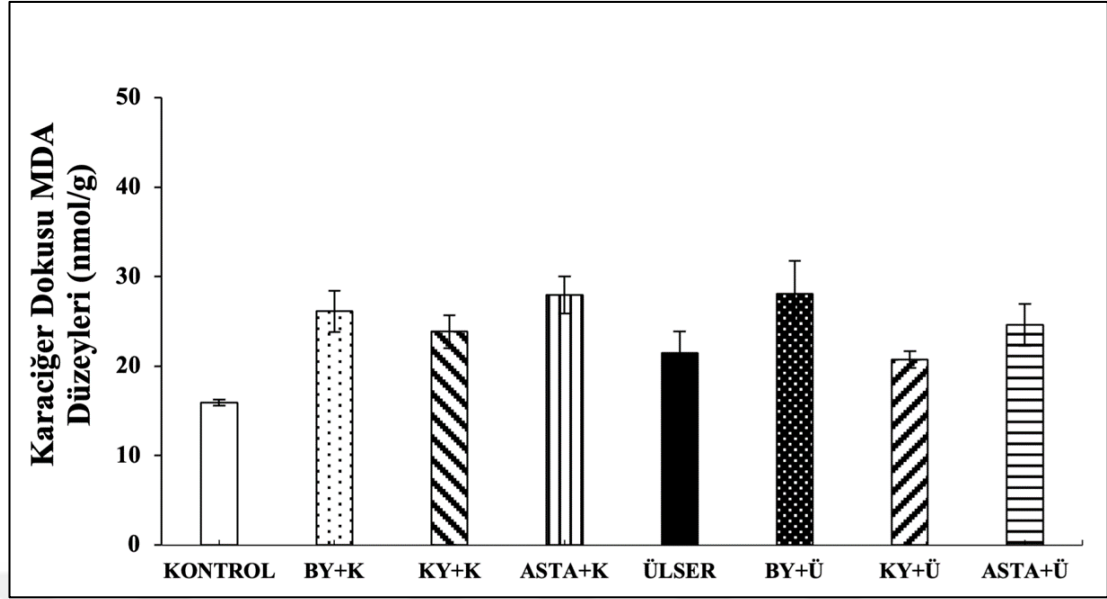
Doku MPO aktiviteleri krill yağı takviyesi yapılan kontrol grubunda 23.42 ± 6.12 U/g doku, astaksantin takviyesi yapılan kontrol grubunda 14.57 ± 1.04 U/g ve balık yağı takviyesi yapılan kontrol grubunda 15.00 ± 1.69 U/g doku olarak saptandı. Bu gruplar ile kontrol grubunun MPO aktiviteleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p > 0.05$).

Krill yağı takviyesi alan ülser grubu (33.14 ± 5.75 U/g doku) ile takviye almayan ülser grubunun MPO aktivitesi arasında anlamlı farklılık görülmedi ($p > 0.05$). Balık yağı takviyesi yapılan ülser grubunda MPO aktivitesi (25.71 ± 4.08 U/g doku) ülser grubuna göre anlamlı derecede düşüktü ($p < 0.01$). Bunun aksine, astaksantin takviyesi alan ülser grubunda mide dokusu MPO aktivitesi (29.50 ± 5.11 U/g doku), ülserle kıyasla düşüktü ($p < 0.05$).

Krill yağı uygulaması yapılan ülser (33.14 ± 5.75 U/g doku) ve kontrol grupları (23.42 ± 6.12 U/g doku) arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0.05$). Benzer şekilde balık yağı uygulaması yapılan ülser (25.71 ± 4.08 U/g doku) ve kontrol grupları (15.00 ± 1.69 U/g doku) arasında anlamlı farklılık bulunamadı ($p > 0.05$). Astaksantin takviyesi yapılan kontrol (14.57 ± 1.04 U/g doku) ve ülser gruplarının (29.50 ± 5.11 U/g doku) mide dokusu MPO aktivitesi arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p > 0.05$).

4.5 Karaciğer Dokusu MDA, GSH ve MPO ölçümleri

Deney gruplarına ait karaciğer dokularının MDA, GSH ve MPO ölçümlerinin istatistiksel değerlendirmeleri aşağıdaki şekillerde sırasıyla gösterilmiştir.



BY+K, Balık yağı+Kontrol grubu; KY+K, Krill yağı+Kontrol grubu; ASTA+K, Astaksantin+Kontrol grubu, BY+Ü, Balık yağı+Ülser grubu; KY+Ü, Krill yağı+Ülser grubu; ASTA+Ü, Astaksantin+Ülser grubu.

Şekil 15. Karaciğer dokusu MDA düzeyi sonuçları

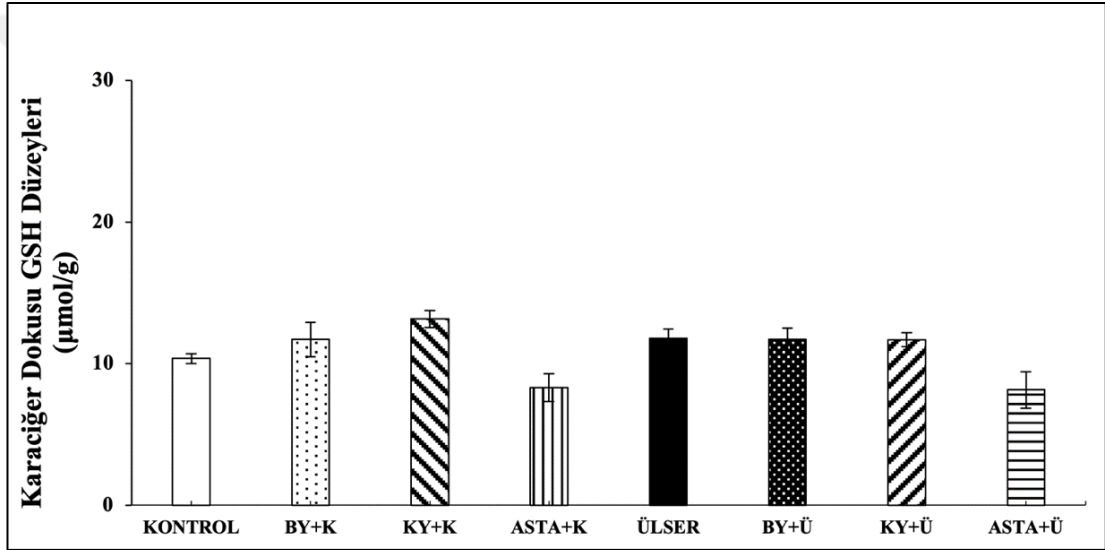
Karaciğer dokusu MDA düzeyleri sonuçları Şekil 15'te özetlenmiştir. Lipit peroksidasyonu biyobelirteci olan MDA düzeyleri değerlendirildiğinde ülser (21.45 ± 2.44 nmol/g doku) ve kontrol grubu (15.92 ± 0.35 nmol/g doku) arasında anlamlı fark görülmedi ($p > 0.05$). Krill yağı ve balık yağı uygulaması yapılan kontrol grupları ile takviye almayan kontrol grubu arasında MDA düzeyleri arasında farklılık yoktu ($p > 0.05$). MDA düzeyleri astaksantin takviyesi alan kontrol grubunda 27.94 ± 2.1 nmol/g doku iken, kontrol grubunda 15.92 ± 0.35 nmol/g doku olarak bulundu. Astaksantin uygulaması yapılan kontrol grubu ile hiçbir takviye almayan kontrol grubu arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0.05$).

Krill yağı, balık yağı ve astaksantin uygulaması yapılan ülser gruplarında, ülser grubuna kıyasla MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0.05$).

Krill yağı takviyesi alan ülser grubu (20.7 ± 0.94 nmol/g doku) ile krill yağı takviyesi alan kontrol grubunda (23.84 ± 1.83 nmol/g doku) arasında anlamlı farklılık

bulunmadı ($p>0.05$). Astaksantin uygulanan kontrol grubunda, astaksantin uygulaması yapılan ülser grubuna kıyasla anlamlı farklılık saptanmadı (sırasıyla 27.94 ± 2.1 nmol/g doku, 24.6 ± 2.37 nmol/g doku; $p>0.05$). Balık yağı takviyesi alan kontrol grubunda doku MDA düzeyleri 26.11 ± 2.31 nmol/g doku iken balık yağı takviyesi alan ülser grubunda 28.10 ± 3.66 nmol/g doku idi. Bu gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

Deney gruplarından elde edilen karaciğer dokularında GSH düzeyleri ölçülmüştür. Ölçüm sonuçları Şekil 16’da verilmiştir.



BY+K, Balık yağı+Kontrol grubu; KY+K, Krill yağı+Kontrol grubu; ASTA+K, Astaksantin+Kontrol grubu, BY+Ü, Balık yağı+Ülser grubu; KY+Ü, Krill yağı+Ülser grubu; ASTA+Ü, Astaksantin+Ülser grubu.

Şekil 16. Karaciğer dokusu GSH düzeyi sonuçları

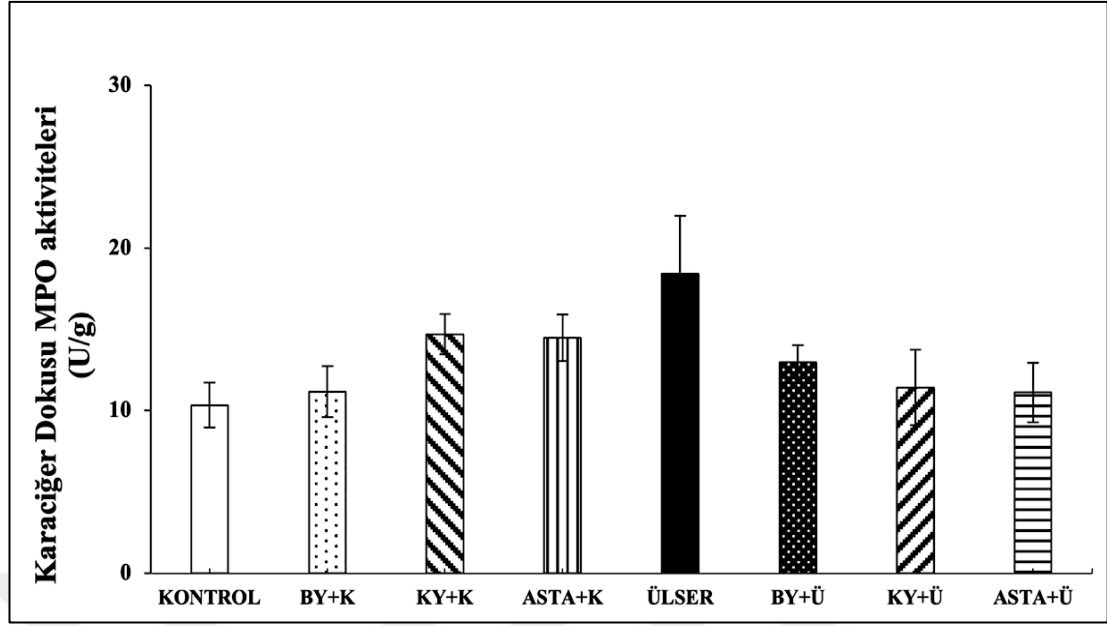
Dokudaki enzimatik olmayan antioksidan sistemlerden biri olan GSH düzeyleri karaciğer dokuları için değerlendirildiğinde, ülser (11.80 ± 0.66 µmol/g doku) ve kontrol grubu (10.36 ± 0.33 µmol/g doku) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı saptandı ($p>0.05$).

Karaciğer dokusu GSH düzeyleri krill yağı takviyesi alan kontrol grubunda 13.16 ± 0.60 $\mu\text{mol/g}$ doku, balık yağı takviyesi alan kontrol grubunda 11.71 ± 1.22 $\mu\text{mol/g}$ doku, ve astaksantin uygulaması yapılan kontrol grubunda 8.3 ± 0.97 $\mu\text{mol/g}$ doku bulundu. Kontrol grubuna kıyasla bu değerler istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0.05$).

Krill yağı takviyesi alan ülser grubunda karaciğer dokusu GSH düzeyleri 11.70 ± 0.48 $\mu\text{mol/g}$ doku ve astaksantin takviyesi yapılan ülser grubunda 8.15 ± 1.28 $\mu\text{mol/g}$ doku ve balık yağı uygulaması yapılan ülser grubunda 11.73 ± 0.77 $\mu\text{mol/g}$ doku olarak saptandı. Bu değerler ile ülser grubu arasındaki farklılık anlamlı değildi ($p > 0.05$).

Takviye yapılan kontrol grupları ile ülser grupları arasındaki doku GSH düzeyleri incelendi. Krill yağı uygulaması yapılan ülser ile kontrol grubu arasında, balık yağı takviyesi yapılan ülser ile kontrol grubu arasında ve astaksantin takviyesi yapılan ülser ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılık bulunmadı ($p > 0.05$).

Deney gruplarından elde edilen karaciğer dokularında MPO aktiviteleri ölçülmüştür. Ölçüm sonuçları Şekil 17’de sunulmuştur.



BY+K, Balık yağı+Kontrol grubu; KY+K, Krill yağı+Kontrol grubu; ASTA+K, Astaksantin+Kontrol grubu, BY+Ü, Balık yağı+Ülser grubu; KY+Ü, Krill yağı+Ülser grubu; ASTA+Ü, Astaksantin+Ülser grubu.

Şekil 17. Karaciğer dokusu MPO aktivitesi sonuçları

Deney gruplarımızın karaciğer dokusu MPO aktiviteleri incelendiğinde sırasıyla, kontrol grubunda 10.36 ± 0.33 U/g doku, ülser grubunda 11.80 ± 0.66 U/g doku, krill yağı takviyesi yapılan kontrol grubunda 13.16 ± 0.60 U/g doku, krill yağı takviyesi yapılan ülser grubunda 11.70 ± 0.48 U/g doku, astaksantin takviyesi yapılan kontrol grubunda 8.3 ± 0.97 U/g doku ve astaksantin takviyesi yapılan ülser grubunda 8.15 ± 1.28 U/g doku, balık yağı uygulaması yapılan kontrol grubunda 11.71 ± 1.22 U/g doku, balık yağı uygulaması yapılan ülser grubunda 11.73 ± 0.77 U/g doku olarak bulundu. Deney grupları arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0.05$).

4.6 Mide Dokusu KL ölçümleri

Deney gruplarına ait mide dokularının KL ölçümlerinin istatistiksel değerlendirmeleri aşağıdaki tabloda (Tablo 8) gösterilmiştir.

Tablo 8. Mide dokusu KL ölçümü sonuçları

Mide	Kontrol	BY+K	KY+K	ASTA+K	Ülser	BY+Ü	KY+Ü	ASTA+Ü
Luminol KL (rlu/mg)	74.05±1.99	53.76±2.41	64.87±5.64	28.16±1.34	122.33±4.18***	102.86±2.84 ⁺⁺	94.17±3.15 ⁺⁺⁺	33.86±3.13 ⁺⁺⁺
Lusigenin KL (rlu/mg)	54.33±0.96	55.07±6.51	52.29±4.55	17.32±1.34	140.29±13.97**	91.49±4.71 ⁺⁺⁺	99.0±26.91 ⁺⁺⁺	31.05±1.01 ⁺⁺⁺
NO Salınımı (rlu/mg)	62.40±2.35	51.90±6.30	49.59±2.58	24.27±2.29	147.54±10.61 ^{**} *	97.64±3.68 ⁺⁺⁺	89.10±5.13 ⁺⁺⁺	24.62±3.34 ⁺⁺⁺
Peroksinitrit Salınımı (rlu/mg)	60.13±1.33	36.18±1.19	57.63±4.67	17.80±0.27	125.35±4.67***	97.83±1.57 ⁺⁺⁺	90.45±4.48 ⁺⁺⁺	21.58±0.95 ⁺⁺⁺

BY+K, Balık yağı+Kontrol grubu; KY+K, Krill yağı+Kontrol grubu; ASTA+K, Astaksantin+Kontrol grubu, BY+Ü, Balık yağı+Ülser grubu; KY+Ü, Krill yağı+Ülser grubu; ASTA+Ü, Astaksantin+Ülser grubu.

İstatistiksel değerlendirme sonuçlarına göre; *** p<0.001, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; ⁺⁺p<0.01, ülser grubu ile karşılaştırıldığında; ⁺⁺⁺p<0.001, ülser grubu ile karşılaştırıldığında.

Luminol aracılı KL sonuçları değerlendirildiğinde, etanol ile indüklenen ülser grubunun kontrol grubuna göre belirgin derece yüksek olduğu saptandı ($p<0.001$). Krill uygulaması yapılan kontrol grubunda, hiç takviye almayan kontrollere göre luminol KL değerleri arasında fark yoktu ($p>0.05$). Balık yağı ve astaksantin uygulaması yapılan kontrol gruplarının, hiç takviye almayan kontrol grubuna göre luminol KL değerleri belirgin derecede düşüktü (sırasıyla $p<0.01$, $p<0.001$).

Ülser grupları arası luminol aracılı KL sonuçları incelendiğinde, krill yağı ve astaksantin takviyesi yapılan gruplarda belirgin derece azalma olmakla beraber ($p<0.001$), balık yağı takviyesi alan ülser grubunda da ülserle kıyasla düşüş olduğu görüldü ($p<0.01$).

Takviye yapılan kontrol ve ülser grupları arası luminol aracılı KL sonuçları değerlendirilmiştir. Krill yağı ve balık yağı takviyesi yapılan ülser gruplarında, takviye alan kontrol grubuna kıyasla belirgin derecede yüksek bulundu ($p<0.001$). Astaksantin takviyesi alan ülser ve kontrol gruplarının luminol aracılı KL değerlerinde farklılık yoktu ($p>0.05$).

Lusigenin aracılı KL sonuçları değerlendirildiğinde, ülser grubuna kıyasla kontrol grubuna göre belirgin derece yüksek olduğu saptandı ($p<0.001$). Krill yağı ve balık yağı uygulaması yapılan kontrol gruplarında, hiç takviye almayan kontrollere göre lusigenin KL değerleri arasında fark yoktu ($p>0.05$). Astaksantin uygulaması yapılan kontrol grubunda, hiç takviye yapılmayan kontrol grubuna göre lusigenin aracılı KL değerleri belirgin derecede düşüktü ($p<0.001$).

Ülser grupları arası lusigenin aracılı KL sonuçları incelendiğinde, krill yağı, astaksantin veya balık yağı takviyesi yapılan gruplarda belirgin derece azalma olduğu görüldü ($p<0.001$).

Takviye yapılan kontrol ve ülser grupları arası lusigenin aracılı KL sonuçları değerlendirildi. Krill yağı ve balık yağı takviyesi yapılan ülser gruplarında, takviye alan kontrol grubuna kıyasla yüksek bulundu (sırasıyla $p<0.001$ ve $p<0.01$).

Astaksantin takviyesi alan ülser ve kontrol gruplarının lusigenin aracılı KL değerlerinde farklılık yoktu ($p>0.05$).

KL ölçümü ile mide dokusundan NO salınımı değerlendirildi. Etanol ile indüklenen ülser grubunda NO salınımı kontrol grubuna göre belirgin derece yüksekti ($p<0.001$). Krill yağı ve balık yağı uygulaması yapılan kontrol gruplarında, hiç takviye almayan kontrollere göre NO salınımı değerleri arasında fark yoktu ($p>0.05$). Astaksantin uygulaması yapılan kontrol grubunda, hiç takviye almayan kontrol grubuna göre NO salınımı belirgin derecede düşüktü ($p<0.001$).

Ülser grupları arası NO salınımı incelendiğinde, takviye yapılan ülser gruplarında ülsere göre belirgin derece azalma olduğu görüldü ($p<0.01$).

Takviye yapılan kontrol ve ülser grupları arası NO salınımı KL sonuçları değerlendirildi. Krill yağı ve balık yağı takviyesi yapılan ülser gruplarında, takviye alan kontrol grubuna kıyasla belirgin derecede yüksek bulundu ($p<0.001$). Astaksantin takviyesi alan ülser ve kontrol gruplarının NO salınımında anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$).

Mide dokusundan peroksinitrit salınımı değerlendirildiğinde etanol ile indüklenen ülser grubunda kontrol grubuna göre belirgin derece yüksekti ($p<0.001$). Krill yağı uygulaması yapılan kontrol grubunda, hiç takviye almayan kontrollere göre peroksinitrit salınımı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$). Astaksantin ve balık yağı uygulaması yapılan kontrol gruplarında, hiç takviye almayan kontrol grubuna göre peroksinitrit salınımı belirgin derecede düşüktü ($p<0.001$).

Ülser grupları arası peroksinitrit salınımı incelendiğinde, takviye yapılan ülser gruplarında ülsere göre belirgin derece azalma olduğu görüldü ($p<0.01$).

Takviye yapılan kontrol ve ülser grupları arasında peroksinitrit salınımı KL sonuçları değerlendirildi. Krill yağı ve balık yağı takviyesi yapılan ülser gruplarında, takviye alan kontrol grubuna kıyasla belirgin derecede yüksek bulundu ($p<0.001$).

Astaksantin takviyesi alan ülser ve kontrol gruplarının NO salınımında anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$).

4.7 Karaciğer Dokusu KL ölçümleri

Deney gruplarına ait karaciğer dokularının KL ölçümlerinin istatistiksel değerlendirmeleri aşağıdaki Tablo 9’da gösterilmiştir.



Tablo 9. Karaciğer dokusu KL ölçümü sonuçları

Karaciğer	Kontrol	BY+K	KY+K	ASTA+K	Ülser	BY+Ü	KY+Ü	ASTA+Ü
Luminol KL (rlu/mg)	20.40±1.36	19.68±1.03	17.96± 0.67	20.29±1.01	23.60±2.85	17.30±1.06	18.60±1.69	19.26±2.48
Lusigenin KL (rlu/mg)	19.53±1.62	20.03±3.22	19.30± 1.12	17.94±0.89	21.64±0.88	17.74±0.65	21.33±1.04	20.26±0.75
NO Salınımı (rlu/mg)	15.43±0.62	17.63±0.64	17.75±1.08	14.55±0.45	22.05±1.15***	18.90±0.75	17.50±0.98 ⁺⁺	14.58±0.31 ⁺⁺⁺
Peroksinitrit Salınımı (rlu/mg)	15.83±0.47	13.43±0.46	17.78±0.90	12.83±0.56	19.75±1.03 ^{**}	15.25±0.94 ⁺⁺⁺	16.08±0.52 ⁺	14.70±0.53 ⁺⁺⁺

BY+K, Balık yağı+Kontrol grubu; KY+K, Krill yağı+Kontrol grubu; ASTA+K, Astaksantin+Kontrol grubu, BY+Ü, Balık yağı+Ülser grubu; KY+Ü, Krill yağı+Ülser grubu; ASTA+Ü, Astaksantin+Ülser grubu.

İstatistiksel değerlendirme sonuçlarına göre; *** p<0.001, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; ** p<0.01, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; +p<0.05, ülser grubu ile karşılaştırıldığında; ++p<0.01, ülser grubu ile karşılaştırıldığında; +++p<0.001, ülser grubu ile karşılaştırıldığında.

Karaciğer dokusunda luminol ve lusigenin aracılı KL sonuçları değerlendirildiğinde, gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0.05$). KL ölçümü ile karaciğer dokusundan NO salınımı değerlendirildi. Etanol ile indüklenen ülser grubunda NO salınımı kontrol grubuna göre belirgin derece yüksekti ($p<0.001$). Krill yağı, astaksantin ve balık yağı uygulaması yapılan kontrol gruplarında, hiç takviye almayan kontrollere göre NO salınımı değerleri arasında fark yoktu ($p>0.05$).

Ülser grupları arası NO salınımı incelendiğinde, krill yağı ve astaksantin uygulaması yapılan ülser gruplarında ülsere göre belirgin derece azalma olduğu görüldü (sırasıyla $p<0.01$, $p<0.001$).

Krill yağı, astaksantin ve balık yağı uygulaması yapılan kontrol ve ülser grupları arasında NO salınımında anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$).

Karaciğer dokusundan peroksinitrit salınımı değerlendirildiğinde ülser grubunda kontrol grubuna göre derece yüksek olduğu saptandı ($p<0.01$). Krill yağı, astaksantin ve balık yağı uygulaması yapılan kontrol gruplarında, hiç takviye almayan kontrollere göre NO salınımı değerleri arasında fark yoktu ($p>0.05$).

Ülser grupları arası peroksinitrit salınımı incelendiğinde krill yağı uygulaması yapılan ülser grubunda hiçbir takviye yapılmayan ülsere kıyasla peroksinitrit salınımı düşüktü ($p<0.05$). Benzer şekilde astaksantin ve balık yağı takviyesi yapılan ülser gruplarında ülsere göre belirgin derece azalma olduğu görüldü ($p<0.001$).

Takviye yapılan kontrol ve ülser grupları arasında peroksinitrit salınımı KL sonuçları değerlendirildi. Krill yağı, astaksantin ve balık yağı takviyesi alan ülser ve kontrol gruplarının peroksinitrit salınımında anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$).

4.8 Serum Ölçümleri Sonuçları

Deney sonunda tüm gruptaki hayvanlardan alınan serum örnekleri analiz edildi. Elde edilen bulgular aşağıdaki Tablo 10’da gösterilmiştir.

Tablo 10. Krill yağı, balık yağı ve astaksantin takviyesinin bazı biyokimyasal parametrelere etkisinin sonuçları

Lipit Parametreleri	K+Ü	KY	BY	ASTA
Total Kolesterol (mg/dL)	54.77±4.77	49.57±2.37	37.69±2.23***	52.25±1.44
Trigliserid (mg/dL)	55.00±4.25	49.56±5.40	40.08±3.16	59.85±4.98
LDL-Kolesterol (mg/dL)	10.73±1.15	9.34±0.69	6.21±0.46***	10.62±0.60
HDL-Kolesterol (mg/dL)	42.95±4.11	37.63±1.89	28.93±1.90**	40.26±1.54
Karaciğer Fonksiyon Testleri				
ALT (U/L)	40.23±3.04	41.79±3.53	44.538±3.34	38.75±2.32
AST (U/L)	88.23±9.50	119.17±7.01*	82.500±3.30	94.75±8.90
ALP (U/L)	89.00±5.01	104.57±6.65	90.92±3.92	62.67±1.97**

Kc: Karaciğer; K+Ü, Kontrol ve Ülser grubu; BY, Balık yağı+Kontrol grubu ve Balık Yağı+Ülser grubu; KY, Krill yağı+Kontrol grubu ve Krill yağı+Ülser grubu; ASTA, Astaksantin+Kontrol grubu ve Astaksantin + Ülser grubu.

İstatistiksel değerlendirme sonuçlarına göre; *p<0.05, K+Ü grubu ile karşılaştırıldığında; **p<0.01, K+Ü grubu ile karşılaştırıldığında; ***p<0.001, K+Ü grubu ile karşılaştırıldığında.

Hayvanların total kolesterol düzeyleri balık yağı takviyesi (37.69±2.23 mg/dL) alan grupta en düşük olmakla beraber, hiçbir takviye uygulanmayan (54.77±4.77 mg/dL) gruplara göre belirgin derecede daha düşüktü (p<0.001). Buna ek olarak, balık yağı uygulaması yapılan gruplarda (37.69±2.23 mg/dL) krill yağı takviyesi alan gruplara (49.57±2.37 mg/dL) göre total kolesterol düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu (p<0.05) Benzer şekilde, astaksantin takviyesi yapılan gruplarda (52.25±1.44 mg/dL) balık yağı takviyesi yapılan gruplara göre total kolesterol düzeyleri daha yüksekti (p<0.01).

Deney gruplarına ait trigliserid düzeyleri değerlendirildiğinde en düşük trigliserid düzeyinin balık yağı takviyesi (49.56 ± 5.40 mg/dL) alan gruplarda olduğu saptanırken, bu fark sadece astaksantin uygulaması (59.85 ± 4.98 mg/dL) yapılan gruplara göre anlamlıydı ($p < 0.05$).

Deney gruplarının LDL-kolesterol düzeyleri incelendiğinde, balık yağı takviyesi yapılan gruplarda (6.21 ± 0.46 mg/dL) hiçbir takviye yapılmayan gruplara (10.73 ± 1.15 mg/dL) göre belirgin derecede daha düşük olduğu bulundu ($p < 0.001$). Krill yağı takviyesi yapılan gruplarda, balık yağı takviyesi yapılan gruplara göre LDL-kolesterol düzeylerinin daha yüksek olduğu saptandı ($p < 0.05$). Astaksantin takviyesi yapılan gruplarda (10.62 ± 0.60 mg/dL) LDL-kolesterol düzeyi balık yağı uygulaması (6.21 ± 0.46 mg/dL) yapılan gruplara göre belirgin derecede daha yüksekti ($p < 0.001$).

Deney gruplarının HDL-kolesterol düzeyleri incelendiğinde, balık yağı uygulaması yapılan gruplarda (28.93 ± 1.90 mg/dL) hiçbir takviye yapılmayan K+Ü gruplarına (42.95 ± 4.11 mg/dL) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük olduğu bulundu ($p < 0.01$). Benzer şekilde, astaksantin takviyesi yapılan gruplarda (40.26 ± 1.54 mg/dL) HDL-kolesterol düzeyleri balık yağı takviyesi yapılan gruplara (28.93 ± 1.90 mg/dL) kıyasla istatistiksel olarak daha yüksekti ($p < 0.01$).

Deney hayvanlarına ait ALT düzeylerinin gruplar arasında anlamlı farklılık göstermediği saptandı ($p > 0.05$).

Serum biyokimyasal sonuçları incelendiğinde hiçbir takviye almayan K+Ü grubunun (88.23 ± 9.50 U/L) AST düzeylerinin krill yağı uygulaması yapılan gruplara (119.17 ± 7.01 U/L) kıyasla anlamlı derecede düşük olduğu görüldü ($p < 0.05$). Krill yağı takviyesi yapılan kontrol ve ülser gruplarında (119.17 ± 7.01 U/L), balık yağı takviyesi alan gruplara göre (82.50 ± 3.30 U/L) AST düzeylerinin anlamlı derecede yüksekti ($p < 0.01$).

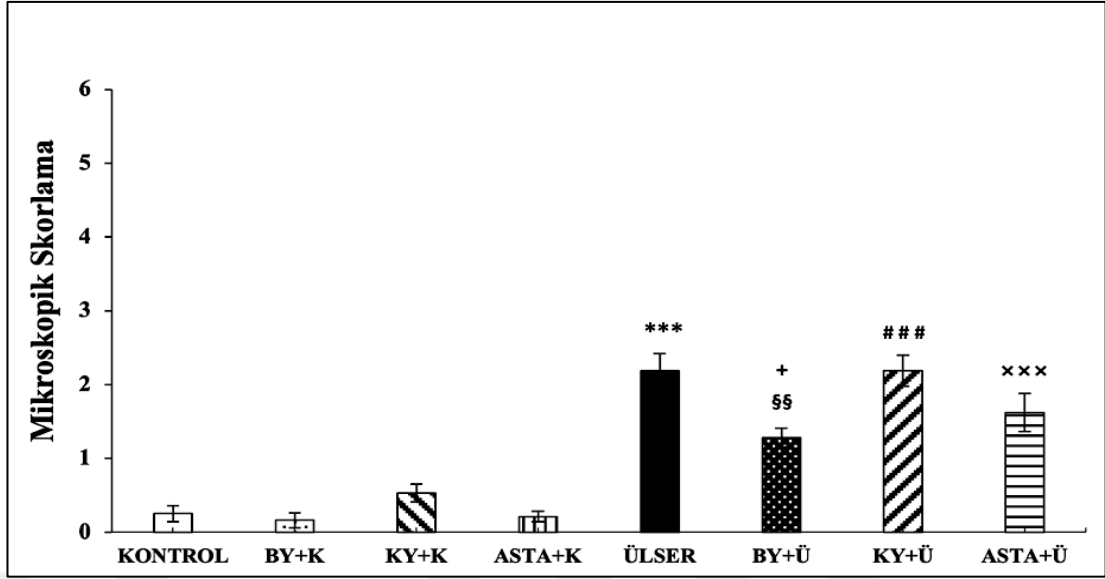
Karaciğer enzim fonksiyonu biyobelirteçlerinden biri olan ALP düzeyleri incelendiğinde, astaksantin uygulaması yapılan gruplarda (62.67 ± 1.97 U/L), krill yağı (104.57 ± 6.65 U/L) ve balık yağı (90.92 ± 3.92 U/L) takviyesi alan gruplara kıyasla belirgin derecede düşük olduğu görüldü ($p < 0.001$). Benzer şekilde astaksantin takviyesi yapılan gruplarda ALP düzeyleri hiçbir takviye yapılmayan gruplara göre (89 ± 5.01 U/L) daha düşüktü ($p < 0.01$).

İnflamasyon biyobelirteci olan serum CRP düzeyleri değerlendirildiğinde, gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü ($p > 0.05$).

Karaciğer fonksiyon biyobelirteci olan GGT düzeylerinin de gruplar arasında değişiklik göstermediği saptandı ($p > 0.05$).

4.9 Mide Dokuları Mikroskopik Skorlama

Deney hayvanlarından elde edilen mide dokuları mikroskopik olarak incelendi. Bu incelemeler Şekil ... gösterilmiştir. Mide dokuları yüzey epitel deskuamasyonu, hemoraji, glandüler hasar, inflamatuvar hücre infiltrasyonuna göre mikroskopik olarak incelendiğinde, kontrol gruplarının normal anatomik görünümde olduğu gözlemlenirken, etanol ile indüklenen ülser gruplarında belirgin ülserasyonlar saptandı ($p < 0.001$).



BY+K, Balık yağı+Kontrol grubu; KY+K, Krill yağı+Kontrol grubu; ASTA+K, Astaksantin+Kontrol grubu; BY+Ü, Balık yağı+Ülser grubu; KY+Ü, Krill yağı+Ülser grubu; ASTA+Ü, Astaksantin+Ülser grubu.

İstatistiksel değerlendirme sonuçlarına göre; *** $p<0.001$, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; ** $p<0.01$, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; + $p<0.05$ ülser grubu ile karşılaştırıldığında; ++ $p<0.01$ ülser grubu ile karşılaştırıldığında; +++ $p<0.001$ ülser grubu ile karşılaştırıldığında; §§ $p<0.01$ balık yağı uygulaması yapılan kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; ### $p<0.001$, krill yağı uygulaması yapılan kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; xxx $p<0.001$ astaksantin uygulaması yapılan kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

Şekil 18. Mide dokusu mikroskopik skorum sonuçları

Krill yağı ve astaksantin takviyesi alan ülser gruplarında, mide dokusu mikroskopik skorlarının ülser grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişmediği saptandı ($p>0.05$). Balık yağı uygulaması yapılan ülser grubunda (1.28 ± 0.13), ülser grubuna (2.19 ± 0.23) kıyasla anlamlı derecede daha düşük mikroskopik skorları olduğu belirlendi ($p<0.05$).

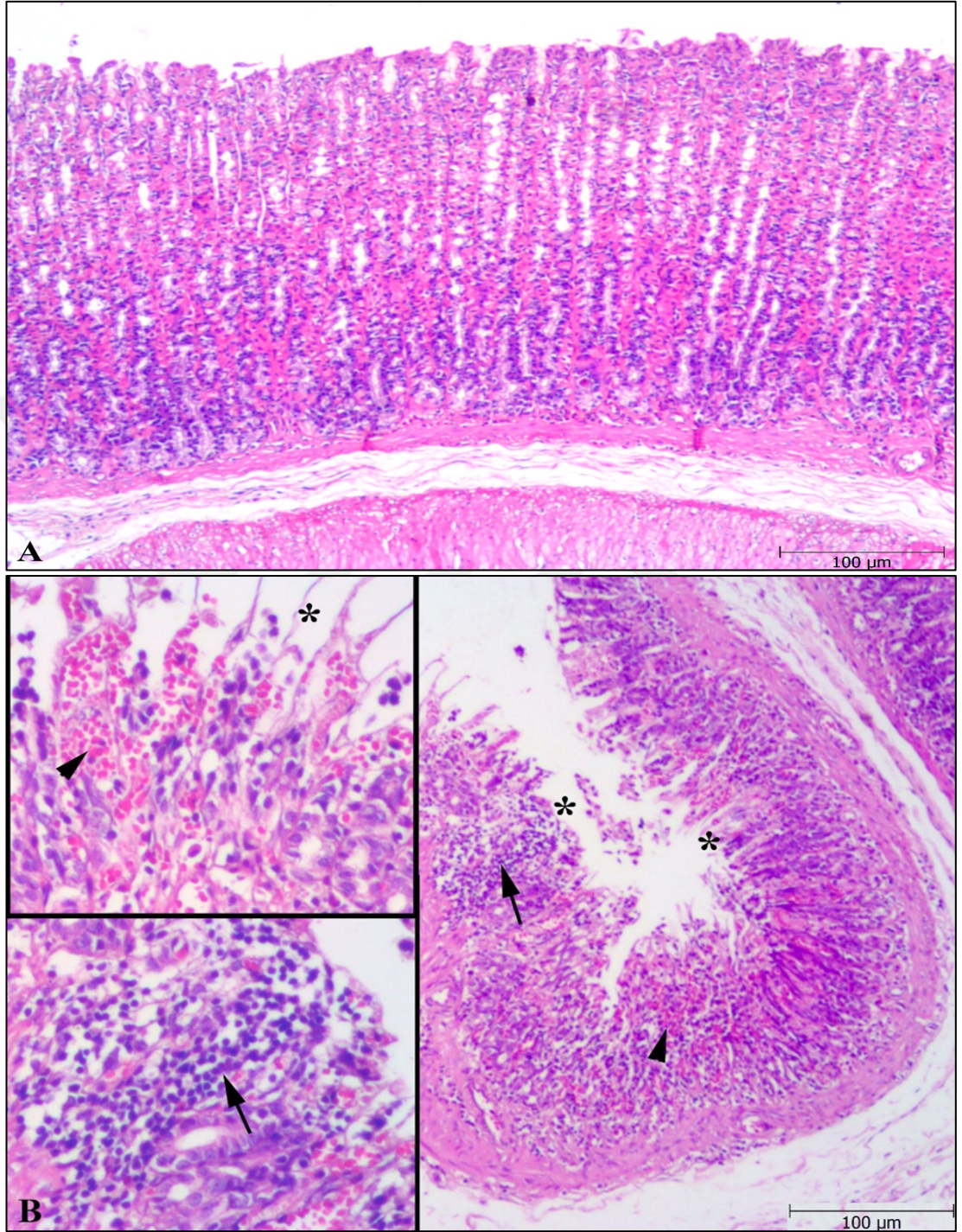
Krill yağı takviyesi alan ülser gruplarında (2.19 ± 0.21), krill yağı takviyesi alan kontrol gruplarına (0.53 ± 0.12) göre mikroskopik skorların belirgin derecede daha yüksek olduğu görüldü ($p<0.001$). Astaksantin takviyesi alan ülser grubunda (1.62 ± 0.26), astaksantin takviyesi alan kontrol grubuna (0.21 ± 0.07) göre mikroskopik skorlar belirgin derecede daha yüksekti ($p<0.001$). Balık yağı takviyesi alan ülser

gruplarında (1.28 ± 0.13), balık yağı takviyesi alan kontrol gruplarına (0.16 ± 0.10) göre mikroskopik skorlar anlamlı derecede daha yüksekti ($p < 0.01$).

Krill yağı, astaksantin ve balık yağı uygulaması yapılan kontrol grupları ile hiçbir takviye almayan kontrol grubunun mikroskopik skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p > 0.05$).

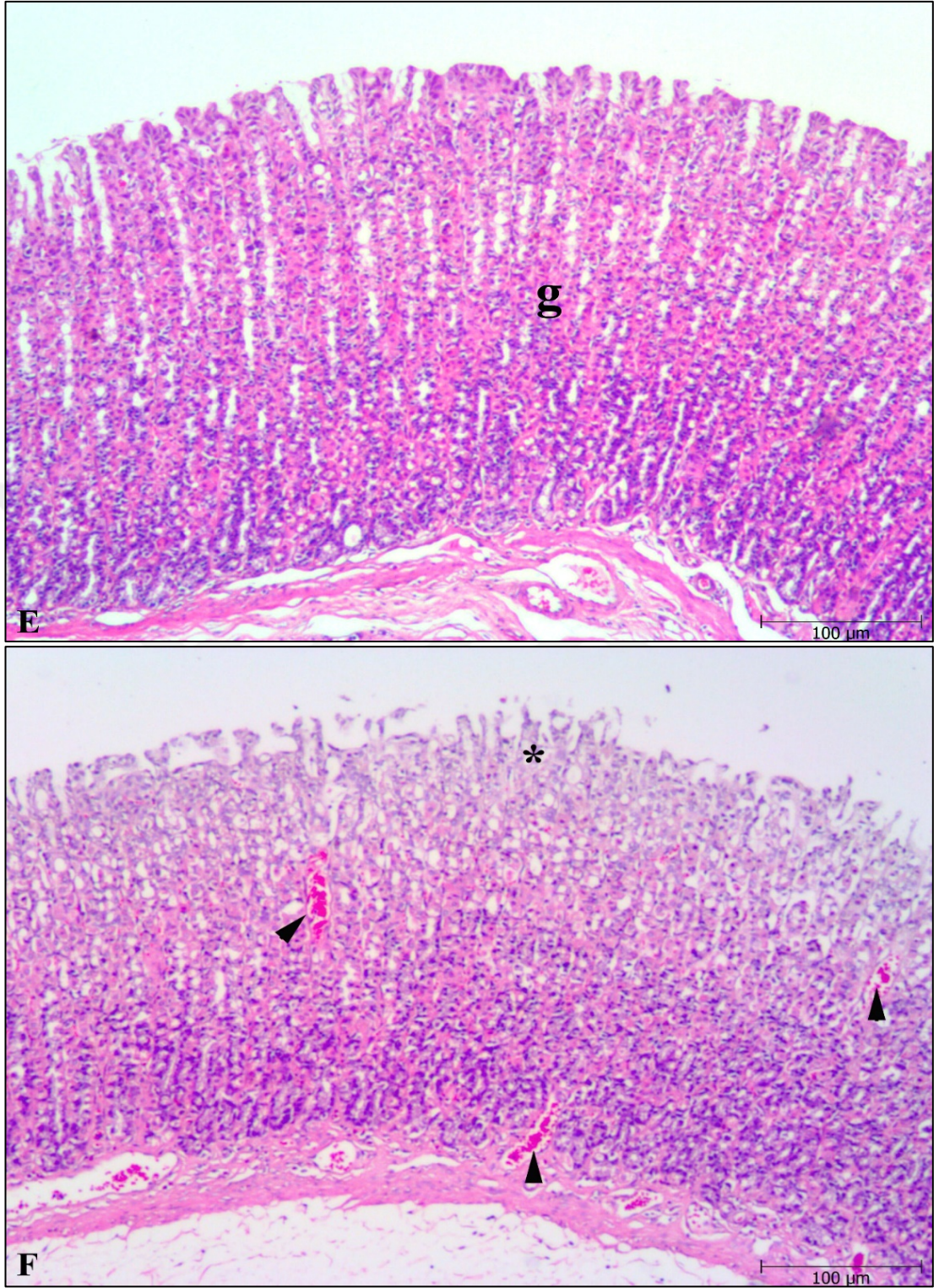


4.10 Mide Dokusu Histolojik Bulgular



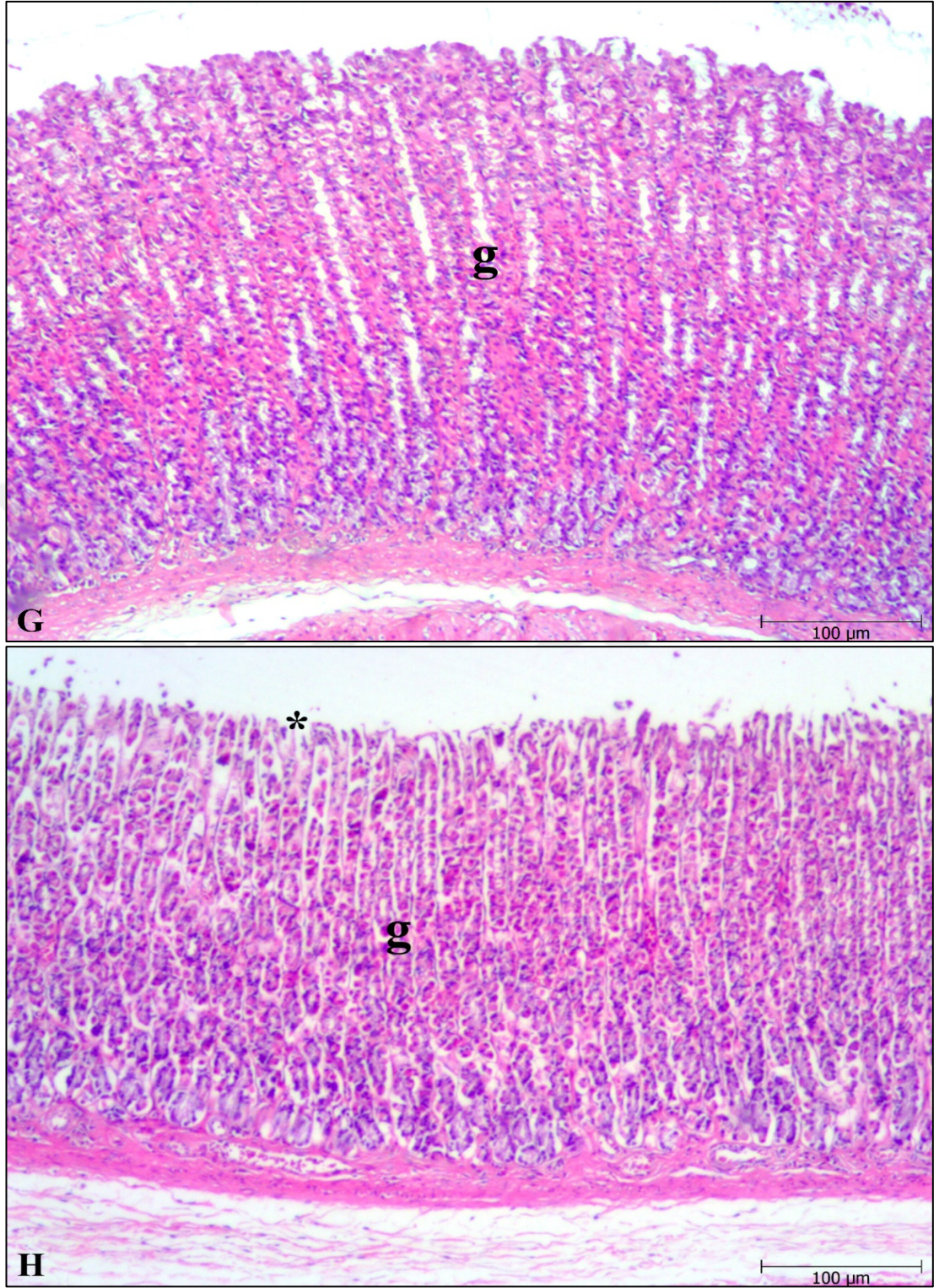
A. Kontrol grubunda düzenli gastrik mukozaya ait yüzey epiteli ve glandüler hücreler. **B.** Ülser grubunda, yüzey epitelinde (*) ve glandüler hücrelerde yoğun hasar, inflamatuvar hücre infiltrasyonu (ok) ve hemoraji (ok başı). H&E boyası.

Resim 2. Kontrol ve ülser gruplarına ait mide dokusu histolojik bulguları



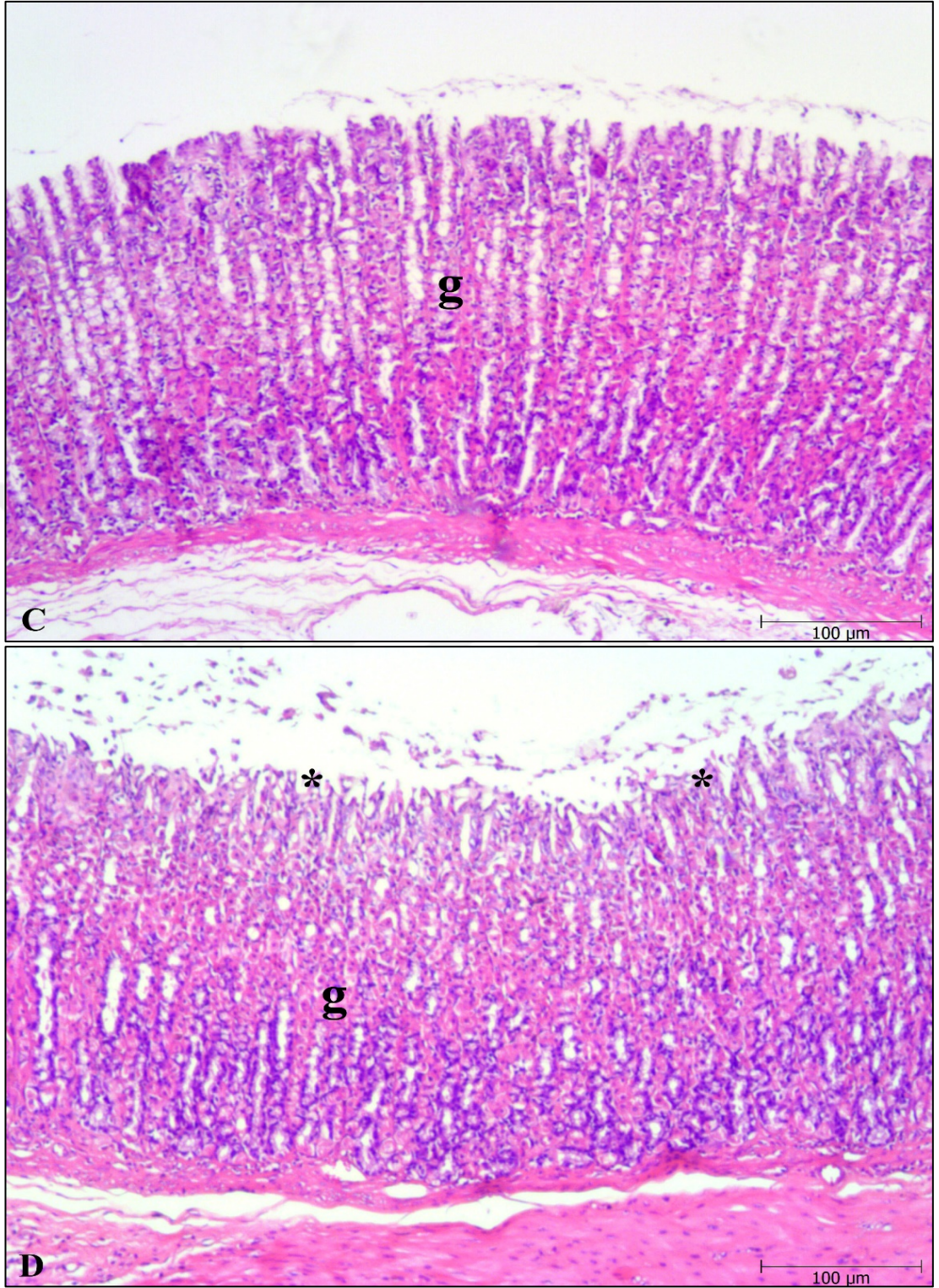
E. Krill yağı uygulanan kontrol grubunda düzenli yüzey epiteli ve glandüler hücre (g) yapısı. **F.** Krill yağı uygulanan ülser grubunda yüzey epitelinde belirgin hasar (*), glandüler hücre yapısında düzensizlik ve hemoraji (*). H&E boyası.

Resim 3. Krill yağı uygulaması yapılan gruplara ait mide dokusu histolojik bulguları



G. Astaksantin verilen kontrol grubunda düzenli yüzey epiteli ve glandüler hücre (g) yapısı. **H.** Astaksantin verilen ülser grubunda yüzey epitelinde yer yer hafif düzensizlik (*), glandüler hücrelerde hafif hasar. H&E boyası.

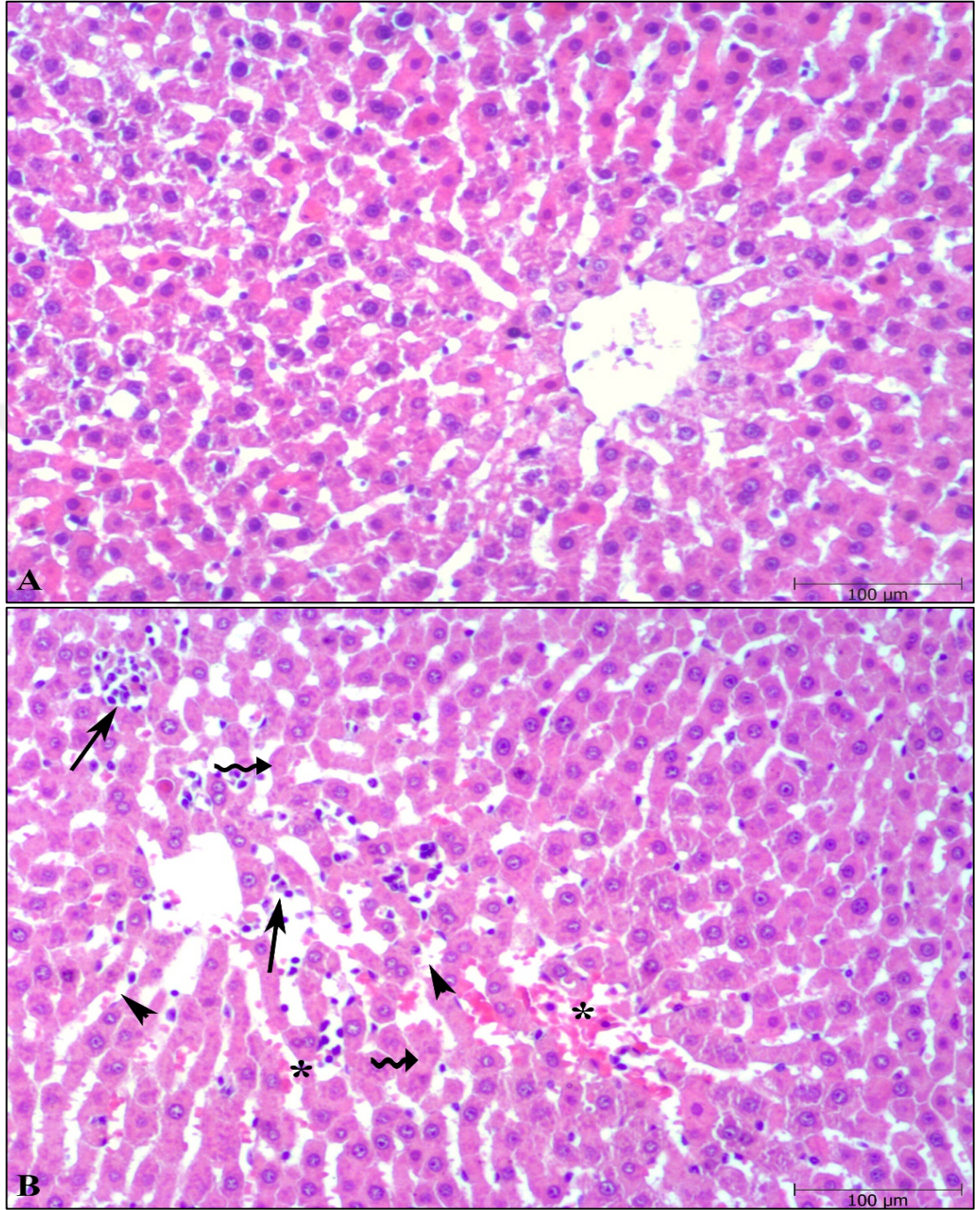
Resim 4. Astaksantin uygulaması yapılan gruplara ait mide dokusu histolojik bulguları



C. Balık yağı uygulanan kontrol grubunda düzenli yüzey epiteli ve glandüler hücre yapısı (g). **D.** Balık yağı uygulanan ülser grubunda düzenli gastrik mukoza ve glandüler hücre yapısı (g), yüzey epitelinde yer yer hafif hasar (*). H&E boyama.

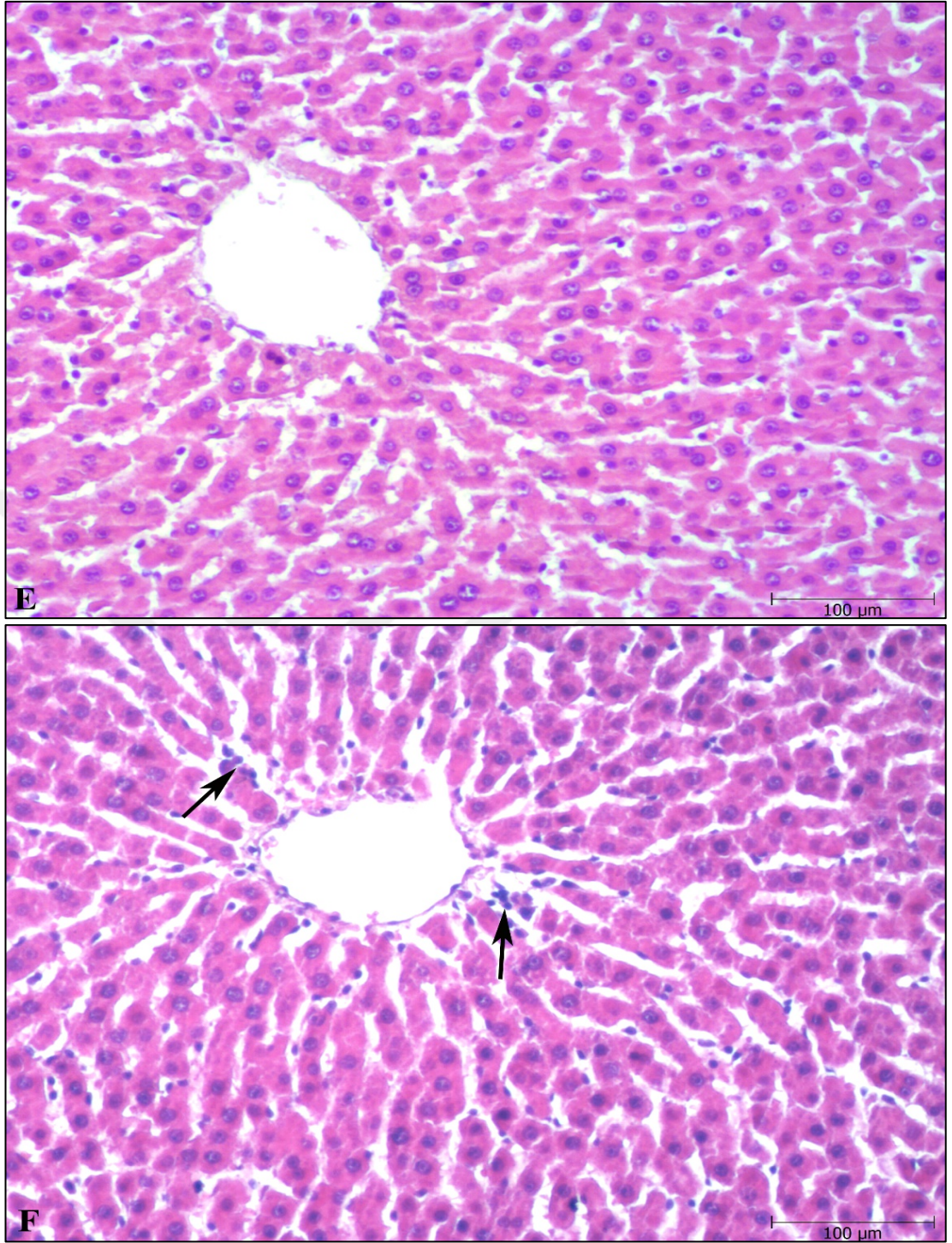
Resim 5. Balık yağı uygulaması yapılan gruplara ait mide dokusu histolojik bulguları

4.11 Karaciğer Dokusu Histolojik Bulgular



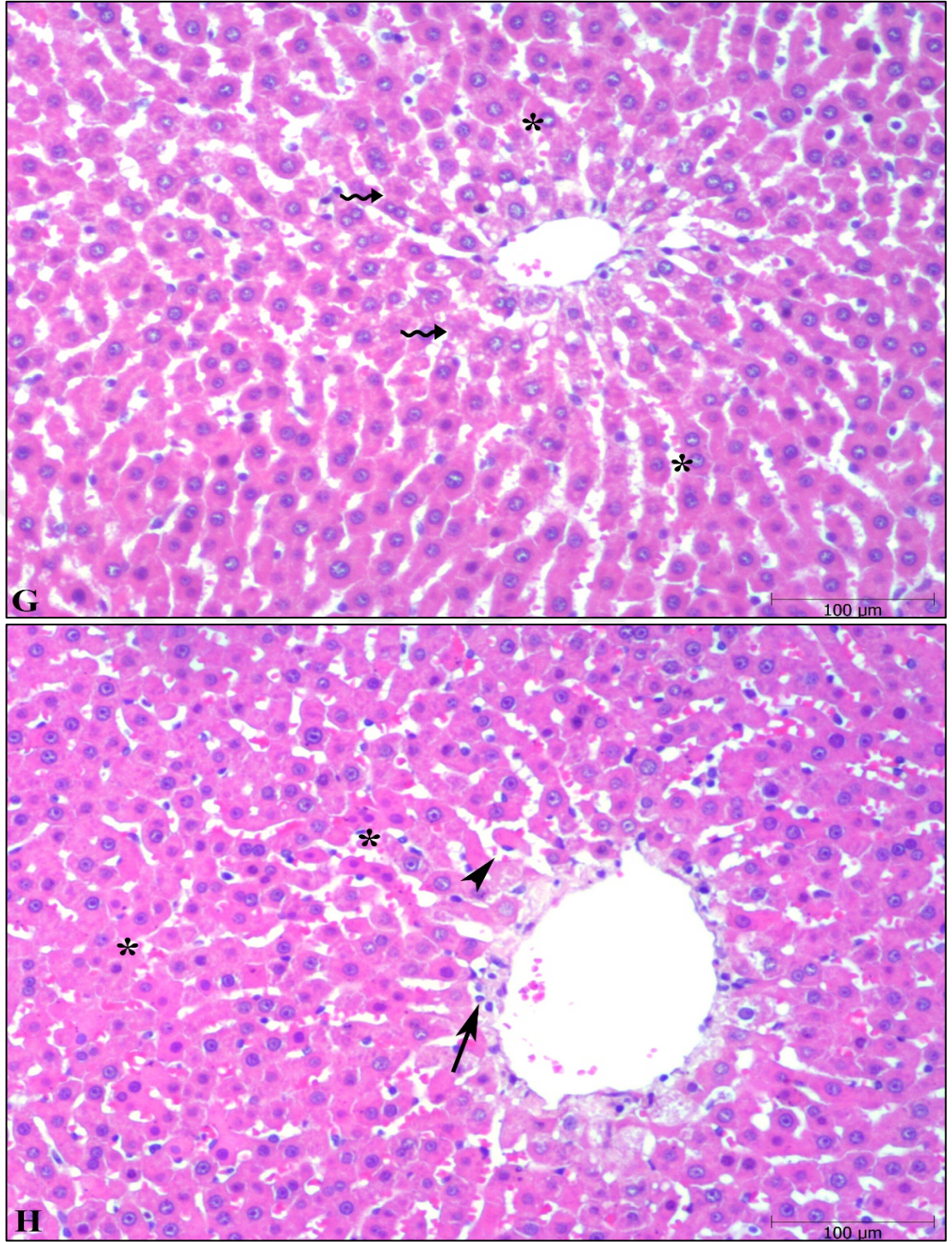
A. Kontrol grubunda düzenli karaciğer parenkimi. **B.** Ülser grubu karaciğer dokusunda hepatositlerde dejenerasyon (dalgalı ok), sinüzoidlerde genişleme (ok başı), sinüzoidal konjesyon (*), inflamatuvar hücre infiltrasyonu (ok). H&E boyama, X10.

Resim 6. Kontrol ve ülser gruplarına ait karaciğer dokusu histolojik bulguları



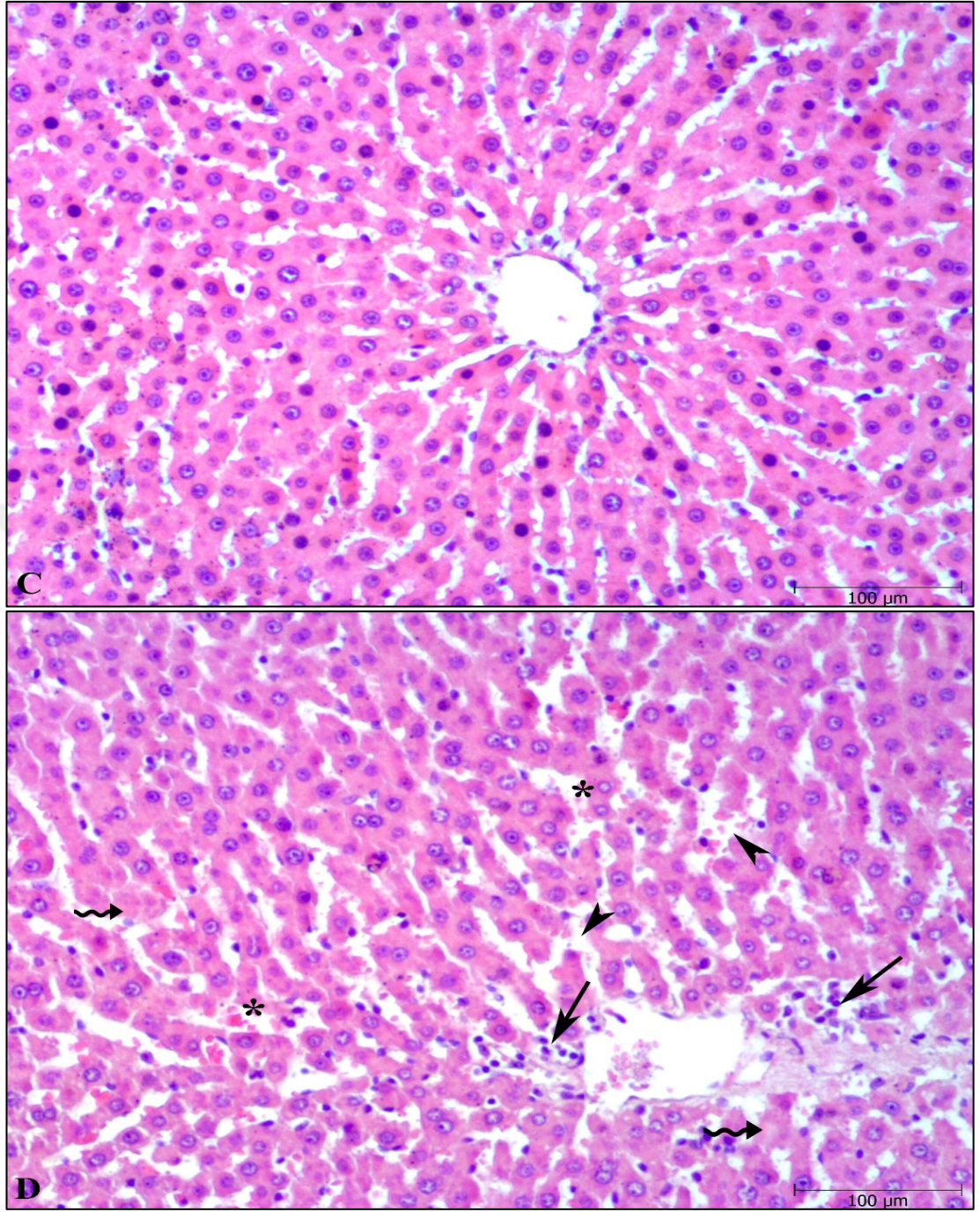
E. Krill yağı verilen kontrol grubunda düzenli yapıda karaciğer dokusu. **F.** Krill yağı verilen ülser grubu karaciğer dokusunda hepatosit dejenerasyonunda gerileme ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunda azalma (ok). H&E boyama, X10.

Resim 7. Krill yağı uygulaması yapılan gruplara ait karaciğer dokusu histolojik bulguları



G. Astaksantin verilen kontrol grubu karaciğer dokusunda yer yer hepatosit dejenerasyonu (dalgalı ok) ve sinüzoidal konjesyon (*). **H.** Astaksantin verilen ülser grubu karaciğer dokusunda sinüzoidal konjesyonda (*) ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunda azalma (ok). H&E boyası, X10.

Resim 8. Astaksantin uygulaması yapılan gruplara ait karaciğer dokusu histolojik bulguları

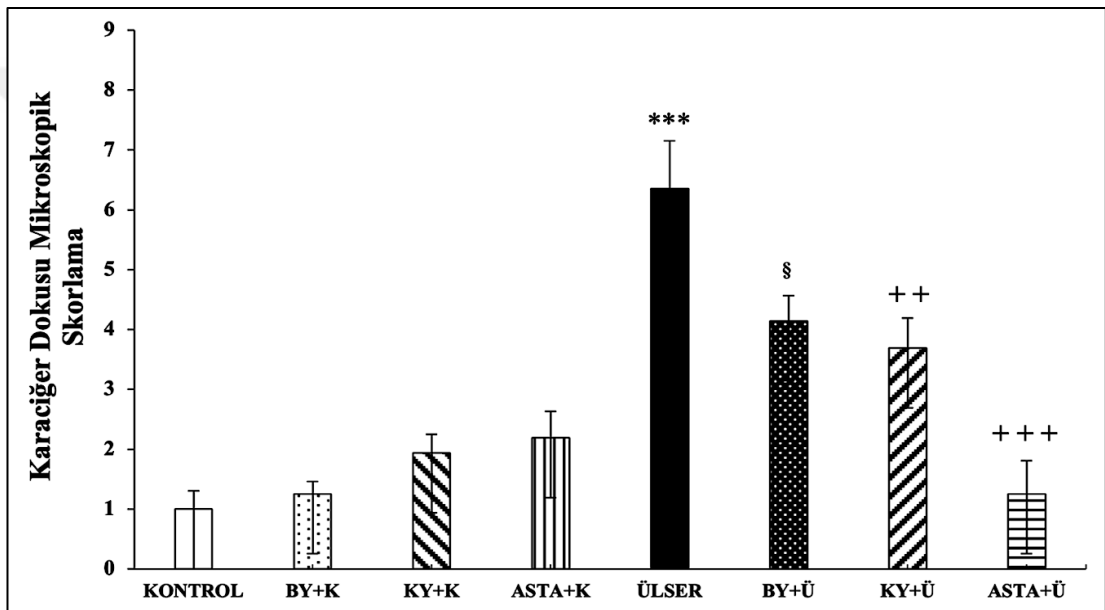


C. Balık yağı verilen kontrol grubu karaciğer dokusunda düzenli yapıda santral ven ve hepatosit görünümü. D. Balık yağı verilen ülser grubuna ait karaciğer dokusunda, ülser grubuna benzer dejenerasyon bulguları: hepatosit dejenerasyonu (dalgalı ok), sinüzoidlerde genişleme (ok başı), sinüzoidal konjesyon (*), inflamatuvar hücre infiltrasyonu (ok). H&E boyama, X10.

Resim 9. Balık yağı uygulaması yapılan gruplara ait karaciğer dokusu histolojik bulguları

4.12 Karaciğer Dokuları Mikroskopik Skorlama

Deney hayvanlarından elde edilen karaciğer dokuları histolojik olarak incelendi. Bu incelemeler Şekil 19'da gösterilmiştir. Karaciğer hepatositlerde vaküolizasyon/piknotik hepatosit nükleusu, sinüzoidlerde genişleme/ konjesyon ve Kupffer hücre infiltrasyonuna göre histolojik olarak incelendiğinde, kontrol gruplarının (1 ± 0.3) normal anatomik görünümde olduğu gözlemlenirken, etanol ile indüklenen ülser gruplarında (6.35 ± 0.8) belirgin ülserasyonlar saptandı ($p<0.001$).



BY+K, Balık yağı+Kontrol grubu; KY+K, Krill yağı+Kontrol grubu; ASTA+K, Astaksantin+Kontrol grubu, BY+Ü, Balık yağı+Ülser grubu; KY+Ü, Krill yağı+Ülser grubu; ASTA+Ü, Astaksantin+Ülser grubu.

İstatistiksel değerlendirme sonuçlarına göre; *** $p<0.001$, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; ++ $p<0.01$ ülser grubu ile karşılaştırıldığında; +++ $p<0.001$ ülser grubu ile karşılaştırıldığında; § $p<0.05$ balık yağı uygulaması yapılan kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

Şekil 19. Karaciğer dokusu mikroskopik skorlama sonuçları

Krill yağı (1.94 ± 0.3), astaksantin (2.19 ± 0.4) ve balık yağı (1.25 ± 0.2) uygulaması yapılan kontrol grupları ile hiçbir takviye almayan kontrol grubu karaciğer dokularının histolojik skorlamasında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0.05$).

Krill yağı takviyesi alan ülser grubunun mikroskopik skorları (3.69 ± 0.5) ülser grubuna kıyasla anlamlı derecede düşüktü ($p < 0.01$). Astaksantin uygulaması yapılan ülser grubunun mikroskopik skorları 1.25 ± 0.6 idi ve ülser grubuna göre belirgin derecede düşüktü ($p < 0.001$). Balık yağı uygulaması yapılan (4.14 ± 0.4) ve yapılmayan ülser grupları (6.35 ± 0.8) arasında anlamlı farklılık görülmedi ($p > 0.05$).

Krill yağı uygulaması yapılan kontrol (1.94 ± 0.3) ve ülser gruplarının (3.69 ± 0.5) mikroskopik skorları arasında anlamlı farklılık bulunmadı ($p > 0.05$).

Astaksantin takviyesi alan ülser ve kontrol grupları arasında anlamlı farklılık bulunmadı ($p > 0.05$). Fakat, diğer gruplardan farklı olarak astaksantin takviyesi alan ülser grubunda (1.25 ± 0.6), astaksantin takviyesi alan kontrol grubuna (2.19 ± 0.4) göre karaciğer dokusu hasar skoru daha düşüktü ($p < 0.001$).

Balık yağı takviyesi alan kontrol grubunda (1.25 ± 0.2), balık yağı takviyesi alan ülser grubuna (4.14 ± 0.4) kıyasla mikroskopik skorları anlamlı derecede düşüktü ($p < 0.05$).

5 TARTIŞMA

Çalışmamızda deney hayvanlarına dört hafta süreyle orogastrik gavaj yolu ile krill yağı, balık yağı veya astaksantin uygulanmış, ardından etanol ile oluşturulan deneysel gastrik ülser oluşturularak, takviyelerin olası etkinlikleri doku oksidatif stres parametreleri, histopatolojik incelemeler ve serum belirteçleri analiz edilerek ortaya konmuştur.

Güney (Antarktika) ve kuzey (Arktik) kutup denizlerinin soğuk sularında yaşayan kırmızı karides benzeri kabuklularından krill, EPA ve DHA, astaksantin, A vitamini, E vitamini ve kolinden zengindir. İçerdiği biyoaktif bileşenler ve fosfatidilkolin yapısı sayesinde birçok çalışmada dislipidemi, romatoid artrit, kronik inflamasyon, ülseratif kolit ve nörodejenerasyona karşı koruyucu ve tedavi edici etkileri olduğu gösterilmiştir (6, 154).

Astaksantin çeşitli deniz canlılarında bol miktarda bulunan kırmızı-turuncu karotenoiddir. Astaksantin biyolojik etki mekanizması, yapısına bağlı olarak, prooksidan tekli oksijen radikallerinin uzaklaştırılması, serbest radikallerin tutulması ile zincir reaksiyonların engellenmesi ve lipit peroksidasyonunu oluşumunu azaltarak hücre zarı koruması şeklinde gelişir (123). Astaksantin oksidatif stres, kardivasküler hastalıklar, cilt hastalıkları, inflamasyon, Alzheimer hastalığı gibi birçok hastalığı tedavi edici ve önleyici etkileriyle dikkat çekmektedir (155).

Balık dokularından elde edilen balık yağı EPA ve DHA başta olmak üzere n-3 ÇDYA'dan zengindir. Omega-3 türevi olan α -linoleik asit desatüراز enzimleri sayesinde EPA ve DHA'ya dönüşmektedir. Bu reaksiyon sonucunda meydana gelen prostaglandinler ve lökotrienler anti-inflamatuvar etki göstermektedir (14). Balık yağı içeriği nedeniyle antioksidan, kardiyoprotektif, nöroprotektif ve anti-inflamatuvar etkilere sahiptir (156).

Genelde mide veya proksimal duodenumda 3-5 mm'den büyük mukozal hasar olarak tanımlanan peptik ülser, dünyada prevalansı giderek artan en yaygın

gastrointestinal hastalıklardan biridir. NSAİİ, aspirin gibi bazı ilaçların kullanımı, alkol, stres, travma ve *H. pylori* hastalığının en önemli risk faktörleridir. Mide ülserinde, bikarbonat, PG'ler, mukus üretimi gibi koruyucu faktörler ile, *H. pylori*, gastrik asit, pepsin, NSAİİ gibi hasarı tetikleyen faktörler arasında denge bozukluğu ve buna bağlı oksidatif stres ile inflamasyon görülür. Medikal tedavisi genellikle hastalıkta mevcut olan gastrik asit artışına odaklanır, bu nedenle PPI ve H2RA ajanları sıklıkla kullanılır (157). Tedavide kullanılan farmakolojik ajanlar gastrik ülserde tam iyileşme sağlanmamakla beraber, sürekli kullanımı ile aşırı duyarlılık, aritmi, hipomagnezemi ve mide kanseri riskinde artış meydana gelir. Bu nedenle hastalığının önlenmesinde ve tedavisinde güvenilir ve etkili yeni stratejilerin araştırılması önem kazanmıştır (158).

Alkol tüketimi yaygın olarak gastrit, gastrik ülseri ve mide karsinomu dahil olmak üzere gastrik mukozal lezyonlarla ilişkilendirilir. Etanol pro-inflamatuvar sitokinler, apoptoz ve ROT artışı, GPx ve total antioksidan kapasitenin azalması yoluyla oksidatif stres patogenezinde önemli rol oynar. Artmış MPO aktivitesi ile nötrofillerin mide dokusuna invaze olması, gastrik mukoza hasarına katkıda bulunur. Nötrofillerin aktivasyonu, TNF- α dahil pro-inflamatuvar sitokinlerin oluşumunu kontrol eden NF- κ B'nin gastrik dokuda artan ekspresyonu ile ilişkilidir. Bu olaylar, diğer pro-inflamatuvar medyatörleri arttırır ve IL-10 gibi anti-inflamatuvar sitokinlerin düzeyini azaltır. Böylece gastrik hasar artar. Ayrıca, etanol uygulaması PGE-2 ve NO dahil olmak üzere mukozal sitoprotektif moleküllerin düzeylerinde azalmaya neden olur (159).

Çalışmamızda deneysel etanol ülser modeli oluşturulan tüm gruplarda lezyon oluşumu makroskopik ve mikroskopik veriler ile ortaya konmuştur. Kanama odakları ve noktasal erozyonlar incelenerek elde edilen makroskopik veriler, balık yağı ve astaksantin uygulamaları ile anlamlı azalma gösterirken, krill yağı uygulaması lezyonları azaltmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır. Histopatolojik incelemeler, balık yağı uygulamasının krill yağı ve astaksantin uygulamalarına göre lezyon oluşumunu engelleme yönünde daha etkili olduğunu göstermiştir.

Bizim çalışmamıza benzer şekilde etanol ile indüklenen deneysel ülser modelinde yapılan bir çalışmada 14 gün süreyle oral gavaj yoluyla 150 mg/kg n-3 takviyesi alan grupta ülserli alanların azaldığı, mukus içeriğinin arttığı ve ülserle karşı %67.46 oranında koruyuculuk sağladığı saptanmıştır (160). Bhattacharya ve ark. farklı dozlarda 5 gün süreyle (50, 100, 200 mg/kg) balık yağı takviyesinin gastrik ülser üzerindeki etkilerini incelediği çalışmada, en düşük doz olarak verilen 50 mg/kg doz balık yağı uygulamasının bile ülser indeksi ve gastrik asit sekresyonunu azalttığını göstermiştir (16). İndometazinle indüklenen gastrik ülser modelinde yapılan farklı bir çalışmada, ülser oluşturulmadan önce farklı dozlarda (3, 10, 30 ve 100 mg/kg) oral DHA uygulamasının ülserle karşı koruyucu etkileri olduğu saptanmıştır (52). Faust ve ark. sağlıklı yetişkinler üzerinde yapmış olduğu bir çalışmada aspirin alımı öncesinde 21 gün süreyle balık yağı (180 mg EPA+120 mg DHA) takviyesinin, PGE2 ve gastrik hasarı azaltmada önemli bir etkisinin olmadığını bulmuştur (161). Bizim çalışmamızda balık yağı uygulamasının gastrik ülserasyonlarına yararlı etkileri olduğu gözlemlense de balık yağı takviyesinin etkisi doku oksidatif stres parametreleri düzeyine yansımamıştır.

Kamath ve ark. çalışmasında etanol ile indüklenen deneysel ülser modelinde 21 gün süreyle 100, 250 ve 500 µg/kg orogastrik astaksantin takviyesinin etkileri değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda 500 µg/kg astaksantin takviyesinin gastrik münin tabakasını %67 oranında koruyarak, asit oluşumunu inhibe ederek, ülser oluşumunu engellediği saptanmıştır. Bu çalışmada astaksantin H⁺/K⁺-ATPaz enzimini inhibe ederek asit oluşumunu azalttığı öne sürülmüştür (162). Murata ve ark. HCl/etanol ile indüklenen mürin gastrik ülser modeli oluşturulmadan 1 saat önce 30 veya 100 mg/kg astaksantin takviyesinin gastrik lezyonları ve ülserli alanları azalttığını göstermiştir. Bu sonuçlar astaksantin mide ülserine karşı koruyucu etkileri olduğunu desteklemekle beraber, tek doz çalışma olması nedeniyle kısıtlılıkları olduğu bildirilmiştir (163). Farklı çalışmalarda çeşitli dozlarda astaksantin takviyesinin gastrik ülser oluşumuna koruyucu etki gösterdiği saptanmıştır (13, 164). Bizim çalışmamızda sonuçlarımız, astaksantin güçlü antioksidan kapasitesi sayesinde ülser kaynaklı gelişen oksidatif stresi inhibe ettiği, lezyonlara karşı koruyucu etki gösterdiği düşünülmektedir. Çünkü astaksantin uygulanan gruplarda doku MDA ve MPO

değerleri düşmüş, GSH değeri yükselmiş bulunmuştur. Astaksantinin gastrik lezyonlara karşı koruyucu etkisi ülser patogeneğinde önemli rolü olan $H^+/K^+-ATPaz$ enzimini inhibe etme yeteneğinden kaynaklı olabildiği bildirilmiştir (162).

Dekstran sülfat sodyum ile indüklenen ülseratif kolit modelinde, 4 hafta süreyle %5 oranında krill yağı takviyesinin sıçanlarda kolon uzunluğunu önemli ölçüde koruduğu ve inflamasyonla ilişkili IL ve PG düzeylerini iyileştirdiği saptanmıştır. Buna ek olarak krill yağının NF-kB aktivitesi ve sitokin üretimini baskıladığı görülmüştür (91). Deneysel artrit modeli oluşturulmuş farelerde yapılan çalışmada, 47 gün süreyle 0.44 g EPA+DHA içeren krill yağı takviyesinin aynı dozdaki balık yağına kıyasla artrit skorlarını azaltmada ve kemik/kıkırdak erozyonlarını önlemede daha etkili olduğu bulunmuştur (121). Zhou ve ark. dekstran sodyum sülfat ile indüklenen ülseratif kolit modeli oluşturulmuş farelerde krill yağının koruyucu etkilerini değerlendirmiştir. Deney hayvanlarına 21 gün süreyle düşük (0.25 g/kg) ve yüksek dozda (0.5 g/kg) krill yağı takviyesini gavaj yolu ile uygulamıştır. Yüksek dozda krill yağı takviyesi kolon mukozal bütünlüğünü korurken, düşük dozda bu etki görülmemiştir (165). Bizim çalışmamızda krill yağı beklediğimiz koruyucu etkiyi göstermemiştir. Zhou ve ark.'nın (165) yaptığı çalışmaya benzer şekilde bizim çalışmamızda uygulanan doz yeterli olsa dahi uygulama süresinin yetersiz olduğunu düşündürmüştür.

Oksidatif stres, ROT, RNT gibi serbest radikallerin oluşumundaki artış ve/veya GSH, SOD, CAT gibi antioksidan savunma sistemlerindeki yetersizlik sonucu ortaya çıkar. Oksidatif stres sonucu ortaya çıkan serbest radikaller protein, lipid ve DNA'da hasarlara yol açarak diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, kanser, obezite gibi birçok hastalığa neden olur (166). Çalışmamızda doku oksidatif stres parametrelerinden lipid peroksidasyonu göstergesi olan MDA ve hücre içi bir antioksidan olan GSH ölçümü yapılmıştır.

Mide dokusunda yapılan ölçümler sonucunda, herhangi bir uygulama yapılmamış ülser grubunun MDA düzeylerinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur. MDA hücre zarı fosfolipidlerinin oksidatif stres

ve serbest radikaller ile karşılaştıklarında oluşan ilk hasar belirticidir. Lipit peroksidasyonu son ürünü olan MDA, hücre membranında iyon alışverişine etki eder. Bu durum da iyon geçirgenliği ve enzim aktivitelerinde değişikliğe neden olur. Zincir tepkimeler şeklinde devam eden lipit peroksidasyonu hücre zedelenmesine yol açarak, oksidatif stresi artırır (166, 167). Arab ve ark. çalışmasında, etanol uygulamasının MPO aktivitesi ile TNF- α düzeylerinde artış, GSH düzeylerinde azalmaya neden olduğu ve gastrik lezyonları arttırarak mide ülserine yol açtığı saptanmıştır (159). Yakın zamanda yapılan diğer çalışmalarda etanolün MPO ve MDA düzeylerinde artışa, NO düzeylerinde azalmaya neden olduğu bulunmuştur (168, 169). Bizim çalışmamızda da literatürü destekler nitelikte, etanol ile indüklenen gruplarda lipit peroksidasyonu son ürünü olan MDA düzeyi ile nötrofil infiltrasyonu göstergesi olan MPO aktivitelerinde artış ile enzimatik olmayan antioksidan sistemlerden biri olan GSH düzeylerinde azalma olduğu görülmüştür. Alkol, gastrik mukoza ile doğrudan etkileşime girerek mide dokusunda hasarlara yol açar (27). Etanole bağlı gelişen gastrik ülser oluşumunda koruyucu PG sentezinin azalmasının yanı sıra COX, LOX, sitokinler ve ROT artışı etkili olur (28). Etanol, midedeki koruyucu bikarbonat salgısında azalmaya, mukus tabakasında çözünmeye, mide mukozasının asit ve pepsine maruz kalmasına ve peptik hasarlara yol açar (139, 140). Bizim çalışmamızda ortaya çıkan sonuçlar literatürü destekler nitelikte olup, etanol ile indüklenen gastrik ülser sırasında artan oksidatif stresin varlığını kanıtlamaktadır.

Bu çalışmada krill veya balık yağı takviyesi alan sıçanların mide dokusu MDA düzeyleri takviye almamışlara oranla benzer bulunmuştur. Krill ve balık yağı uygulaması yapılan ülser gruplarında MDA düzeyleri ülsere göre düşük olsa da, istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Şahin ve ark. krill yağının koruyucu etkilerini araştırdığı gentamisin aracılı nefrotoksisitede modelinde, 7 gün süreyle 500 mg/kg krill yağı takviyesinin doku MDA ve total antioksidan kapasite üzerine etkisi olmadığı görülürken, histopatolojik düzeyde değişikliklere neden olduğu saptanmıştır (94). Kim ve ark. çalışmasında, bir önceki gece yüksek alkol tüketimi yapmış yetişkinlerde 1000 mg krill yağı takviyesinin MDA düzeylerini nispeten azalttığı bulunmuştur (170). Krill yağının iskemi-reperfüzyon hasarı üzerine etkileri incelendiğinde, 1 ay süreyle 0.5 ml/100g krill yağı takviyesi yapılan sıçanların serum

MDA düzeylerinde azalma olduğu saptanmıştır (171). Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda krill yağının lipit oksidasyonunu inhibe ettiği görülmüştür (73, 172). Helal&El-Kahsef'in çalışmasında karaciğer ve dalakta aşırı demir yüklemesine bağlı toksisite modelinde 8 hafta 40 mg/kg krill yağı takviyesinin, doku MDA, HO-1 düzeylerini azalttığı ve GSH düzeylerini arttırdığı saptanmıştır (93). Overiektomize edilerek oluşturulan deneysel nörodejeneratif hastalık modelinde krill yağı takviyesinin MDA düzeylerini azaltarak, nörodejeneratif hastalıklarda oksidatif stresi azalttığı gösterilmiştir (173). Sağlıklı yetişkinlerde 6 hafta süreyle 2 g/gün krill yağı takviyesinin egzersiz performansı ve bağışıklık sistemi üzerine etkileri incelendiğinde, krill yağı takviyesinin plazma TBARS, IL-6, IL-7, IFN γ düzeylerini değiştirmediği bulunmuştur (174). Çalışmamızda krill yağının EPA-DHA ve astaksantin içeriği nedeni ile balık yağı ve astaksantin takviyelerine göre daha üstün nitelikli olacağı beklenmesine rağmen, MDA ve MPO düzeylerini takviye almayan gruplara göre anlamlı olarak düşürmediği ve GSH düzeyini yükseltmediği belirlenmiştir. Yukarıda da görüldüğü üzere farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bu durum krill yağının uygulama süresinin, uygulama dozunun ve dokular üzerine etki şeklinin farklı moleküler yollar üzerinden gerçekleştiğini düşündürmüştür.

Literatürde çeşitli çalışmalarda balık yağı uygulamalarının lipit peroksidasyonu ve oksidatif stres üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Shaaban ve ark. çalışması hepatik fibroz oluşturulmuş sıçanlarda 12 hafta süreyle farklı dozlarda (75 ve 150 mg/kg) oral omega-3 takviyesinin serum MDA düzeylerini belirgin derecede azalttığını göstermiştir (175). Akut soğuk kısıtlama stresi ile indüklenen karaciğer hasarı modeli oluşturulan sıçanlara 4 hafta süreyle oral gavaj yoluyla 0.4 g/kg n-3 takviyesinin hepatik MDA düzeylerinde anlamlı düşüş sağladığı saptanmıştır (176). Yorulmaz ve ark. TNBS ile indüklenen kolit modelinde 3 gün süreyle rektal yoldan 2 ml balık yağı uygulamasının serum ve doku MDA düzeylerinde iyileşme sağlansa da istatistiksel olarak değişmediğini göstermiştir (177). Lima-Rocha ve ark. hiperkolesterolemik sıçanlarda, 8 hafta süreyle yüksek yağlı diyetle ek olarak 1 ml/kg balık yağı uygulamasının serum MDA düzeylerini değiştirmediğini kanıtlamıştır (178). Pooya ark. tip 2 diyabetli yetişkinlerde 2 ay süreyle 2714 mg omega-3 takviyesinin serum MDA ve CRP düzeylerini değiştirmeden homosistein düzeylerini azalttığını ortaya

koymuştur (179). Vaagenler ve ark. deney hayvanlarına 5 gün süreyle düşük (250 mg/kg/gün veya 0.5 ml/gün) ve yüksek (1500 mg/kg/gün veya 1 ml/gün) EPA ve DHA uygulaması sonucunda plazma lipit peroksidasyonunu değerlendirmiş, yüksek doz EPA ve DHA uygulamasının yağ-aıl oksidaz enzim aktivitesi artışı yoluyla serum MDA düzeylerini arttırdığını kanıtlamıştır. Düşük doz uygulamanın ise lipit peroksidasyonu ve serum MDA düzeylerinde değişiklik sağlamadığı bulunmuştur (180). Bu sonuçlar bizim çalışmamızı destekler niteliktedir. Çalışmamızda kullanılan balık yağı dozu ve uygulamaları yeterli gelmemiş olabilir. Uygulanan doz ve süre değiştirilmesi ile farklı sonuçlar ortaya konabilir.

Çalışmamızda astaksantin takviyesinin doku MDA düzeylerini azaltarak ülser oluşumunu kısmen inhibe ettiği grlmştır. *H. pylori* tanısı alan hastalarda 8 hafta süreyle 40 mg astaksantin takviyesinin inflamatuvar sitokin düzeylerini değiştirmediği fakat hümoral bağışıklığı (CD4 ekspresyonunda artış ve CD8 ekspresyonunda azalma regülasyonu yoluyla) güçlendirdiği grlmştır (181). Çeşitli ülser modellerinde uygulanan astaksantin takviyeleri sonucunda CAT, SOD ve GPx gibi antioksidan enzim aktivitelerinin ülser grubuna göre arttığı, TBARS düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir (13, 162-164). Astaksantin molekülü, her bir iyonon halkası üzerinde yüksek antioksidan özelliklerden sorumlu olan hidroksil ve keto grupları bulunduran bir yapıya sahip olup, hücre zarındaki radikalleri inhibe eder, terminal halkası hücre zarının dış ve i kısımlarındaki radikalleri temizler. Ayrıca, karotenoidlerdeki okso-fonksiyonel grup yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir (123, 128). Bizim alışmamızda literatürü destekler şekilde astaksantin uygulamasının lipit peroksidasyonu göstergesi olan MDA düzeylerini ülser grubuna kıyasla azalttığı grlmştır.

Glutasyon hücre içinde spontan olarak oluşan bir antioksidan moleküldür. DNA ve protein sentezi, enzim aktivitelerinin düzenlemesi, hücre içi ve dışı taşıma gibi birçok biyolojik rolü olan GSH antioksidan sistemle de ilişkilidir (182). Çalışmamızda ülser grubunda hücre içi GSH düzeyi düşmüş, krill yağı, balık yağı ve astaksantin takviyesi alan sıçanlarda glutasyon düzeyi anlamlı değişmemiştir. Uyguladığımız ülser yönteminde etanol uygulaması yapıldıktan sonra 1 saat beklenmiş ve deney hayvanları

sakrifiye edilmiştir. Dolayısıyla, glutatyon oluşumu için yeterli süre oluşmamıştır (183, 184). Kronik balık yağı ve krill yağı uygulamaları mide dokusu üzerine MDA azaltma ve glutatyon artırma yönünde koruyucu etki yaratamamıştır.

Nötrofil ve monositlerde bulunan MPO lizozomal enzimi, bakterisidal işlevini gerçekleştirirken oksidan özellikte olan hipokloröz asit üretir. MPO'dan kaynaklı oksidanların aşırı üretimi özellikle akut veya kronik inflamasyonla karakterize edilen hastalıkların patogenezinde doku hasarı ile ilişkilidir (185). Doku infiltrasyonunun önemli bir göstergesi olan MPO enzim aktivitesi deneysel ülser oluşturulmuş ve takviye almamış deney hayvanlarında anlamlı derecede yüksek bulunurken, balık yağı ve astaksantin uygulamalarının MPO aktivitesini ülser grubuna kıyasla anlamlı düşürdüğü tespit edilmiştir. Gastrik ülserde, hasarlı dokulara göç eden nötrofiller tarafından oluşturulan ROT üretimi ve oksidatif stres, antioksidan enzimlerin tükenmesine ve inflamasyona yol açar (186). Çalışmamızda ülser oluşturulmuş sıçanlarda MPO aktivitesi artmış, literatürle uyumlu bulgular elde edilmiştir.

Streptozotosin ile indüklenen diyabet modelinde, 8 hafta süreyle 4µg/g orogastrik yol ile balık yağı takviyesinin kardiyak MPO aktivitesini azaltırken, GSH, CAT ve SOD aktivitelerini arttırdığı görülmüştür (187). Manganez maruziyetinin neden olduğu toksisiteye karşı balık yağı etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, 14 gün süreyle 30mg/kg orogastrik yolla n-3 ÇDYA uygulamasının MPO aktivitesi, TNF-α, IL-1β düzeylerinde ve lipid peroksidasyonunda azalma sağladığı saptanmıştır (188). *H. pylori* eradikasyonu olan randomize, plasebo kontrollü bir insan çalışmasında, bireyler üçlü antibiyotik tedavisine ek olarak 12 hafta süreyle 2 gram EPA veya DHA takviyesi veya plasebo almışlar, serum IL-6 ve total antioksidan kapasite değişmezken, IL-8 ve hsCRP düzeylerinde azalma görülmüştür (189).

Han ve ark. *H. pylori* ile enfekte farelerde 7 hafta süreyle astaksantinden zengin diyetin (%0.005 astaksantin içeren), enfeksiyon etkisiyle yükselen mide dokusu MPO aktivitesini azalttığını, mukozal hasarı baskıladığını bulmuştur (190). Karbonklorür ile indüklenen karaciğer hasarı modelinde, 2 hafta süreyle intragastrik 10 mg/kg/gün astaksantin uygulamasının plazma ve karaciğer dokusunda MDA ve NO düzeylerini

azaltırken, MPO aktivitesini düşürdüğü belirlenmiştir. Ayrıca, histolojik analizlerde karaciğerde inflamasyon ve fibrozisini azalttığı saptanmıştır (191). Bu çalışmada ülser grubunda artmış mide dokusu MPO aktivitesinin 4 hafta süreyle astaksantin uygulaması ile önemli oranda azalması, astaksantin nütrofil infiltrasyonunu inhibe ettiğini göstermektedir. Bu durum astaksantin güçlü antioksidan kapasitesi ile ilişkili olduğunu düşündürmüştür.

Deutsch ve ark. kardiyovasküler hastalık/romatoid artrit/osteoartrit tanısı olan 30-75 yaş arası 90 yetişkinde yapmış olduğu çift kör, randomize, plasebo kontrollü çalışmada, 30 gün süreyle 300 mg krill yağı takviyesinin inflamasyon ve hastalık semptomları üzerindeki etkisi incelemiştir. Krill yağı takviyesinin 7. günde bile plaseboda gözlemlenen CRP artışına kıyasla, serum CRP düzeylerini %19.3 düşürdüğünü bulmuştur. Bir aylık takviye kullanımı sonrasında ağrı skorları, fonksiyonel bozulma ve serum CRP düzeyleri %30.9 oranında azalmıştır (92). Berge ve ark. 18-36 yaş arası 17 sağlıklı yetişkinde yaptığı çalışmada, 28 gün süreyle 832.5 mg/gün EPA+DHA içeren krill yağı takviyesinin serum CRP düzeylerini değiştirmedikini fakat lipit profilinde iyileşme sağladığını saptamıştır (192). Stonehouse ve ark. hafif-orta osteoartritli 40-65 yaş arası 465 yetişkinde yaptığı çok merkezli, çift kör, randomize, plasebo kontrollü çalışmada 6 ay süreyle 1 g/gün krill yağı takviyesi kullanımının etkisini değerlendirmiştir. Krill yağı kullanımı diz ağrısı skorunda azalma sağlarken, IL-6, TNF- α ve hsCRP düzeylerinde değişiklik olmadığını saptamıştır (193). Literatürdeki veriler CRP ve MPO aktivitesi arasındaki ilişkiye işaret etmektedir. İkisi de inflamasyon göstergesi olmakla beraber CRP'nin in vitro ve in vivo MPO salınımını uyardığı saptanmıştır (194). Çalışmamızda krill yağı uygulaması ile inflamasyon belirteci olan MPO aktivitesinde azalma görülmemiştir. Çalışmamızda kullanılan krill yağı dozunun ve uygulama süresinin gastrik ülser indüksiyonu sırasında artan inflamasyonu inhibe etmede yeterli gelmediği anlaşılmaktadır.

Kemilüminesans yöntemi, ROT ölçümü için uygulanabilinen non-invazif bir yöntem olup ışık şiddetinden faydalanır. ROT ölçümü için “enhancer” olarak isimlendirilen probalar kullanılır. Bunlar luminol, lusigenin, pholasin, coelenterazine

gibi çeşitli moleküllerdir. Bu moleküller mikrosaniye düzeyinde oluşan ROT ile etkileşerek, daha güçlü ölçülebilir sınırlara ulaşan ışık şiddeti oluşturur. Dolayısı ile hasarlı/hasarsız dokularda fizyolojik ve patolojik koşullarda ortaya çıkan ROT ile tepkimeye giren enhancerlar ölçülebilir sonuçlar oluşturur (195). Bu çalışmada, KL yöntemi ile luminol, lusigenin, luminol-Na ve carboxy-PTIO ile sırasıyla hidrojen peroksit, hipoklorik asit, hidroksil, süperoksit, nitrik oksit ile peroksinitrit ROT ve RNT'leri ölçüldü. Etanol ile indüklenen deneysel ülser modelinde hem inflamasyonla ilgili hem de iskemik hasarla ilişkili mitokondriyal serbest radikallerin arttığı saptandı. Şehirli ve ark.'nın etanol ile indüklenen gastrik ülserde α -lipoik asitin etkilerini araştırdığı çalışmada, etanol uygulamasının luminol ve lusigenin aracılı KL düzeylerini arttırdığı görülmüştür. Bizim çalışmamızda da ortaya çıkan bu durum etanolün neden olduğu gastrik hasarın toksik oksijen metabolitlerini oluşturduğu fikrini desteklemektedir (196).

Süperoksit anyonu, hidroksil radikalleri ve lipid peroksitlerden oluşan ROT'lar gastrik mukozal hasarın patogeneğinde önemli roller oynadığından, radikalleri temizlemenin gastrik mukozayı oksidatif hasardan korumada önemli olduğunu göstermektedir (197). Balık yağı ve krill yağı uygulanan sıçanların mide dokularında luminol ve lusigenin aracılı ROT oluşumu takviye almayan ülser grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. Astaksantin uygulamaları etanol aracılı ülser hasarının yarattığı ROT oluşumunu güçlü antioksidan etkisi ile engellemiş, ROT oluşumunu bazal düzeye indirgemıştır. Gürler ve ark.'nın akut pankreatit çalışmasında, 40 mg/kg astaksantin (og) uygulamasının luminol ve lusigenin düzeylerini azalttığı bulunmuştur (198). Etanol ile indüklenen deneysel ülser modelinde 21 gün süreyle 500 mcg/kg astaksantin takviyesinin, PPI özellikteki omeprazole kıyasla antioksidan özelliği sayesinde ülserle karşı koruyucu etki gösterdiği ve 23 kat daha fazla lipooksijenaz enzim inhibisyonu sağladığı görülmüştür (162). Çeşitli hidrofilik ve lipofilik antioksidanların (astaksantin, α - tokoferol, L-askorbik asit, α -lipoik asit, CoQ10, epigallokateşin gallta, kuersetin, sesamin, kafeik asit, resveratrol, gallik asit, kapsaisin, β -karoten, likopen, zeaksantin) incelendiği çalışmada, astaksantin en güçlü tekli oksijen tutma aktivitesine sahip molekül olduğu bulunmuştur (199). Astaksantin kimyasal yapısı sayesinde diğer birçok antioksidan molekülden daha kararludur ve

mitokondride ROT'u nötralize eder, hücre zarını oksidatif stres hasarına karşı korur (126, 200). Bu çalışmada da literatürü destekler şekilde astaksantin güçlü antioksidan potansiyeli sayesinde ROT düzeyleri anlamlı olarak azalmıştır.

Nitrik oksit sentaz aracılığı (NOS) ile sentezlenen nitrik oksit 3 ayrı şekilde sentezlenir. Bunlardan endotelial NOS (eNOS) aracılı NO endotel hücrelerinin vazodilatasyonuna neden olur, nöronal NOS (nNOS) aracılı NO nöronlarda ikinci mesajcı molekül olarak görev yapar. İndüklenebilir NOS (iNOS) aracılı NO ise lökositlerden inflamasyonu desteklemek üzere sentezlenir. Mitokondriyal süperoksit radikali başta iskemi ve inflamasyon olmak üzere mitokondriyal redoks durumu değişiminin en önemli ürünüdür. Ağır toksik koşullarda süperoksit radikali ile NO'nun birebir bulunduğu koşullarda daha toksik bir molekül olan peroksinitrit radikali oluşur (201). KL yöntemi ile NO salınımı ölçülürken, NO'nun kökeni tespit edilemez. Ancak ortama carboxy-PTIO eklenirse salınan NO tutulur ve ortamda peroksinitrit radikali oranı saptanır. Çalışmamızda etanol ülseri oluşturulmuş sıçanların mide dokusunda hem NO hem peroksinitrit radikallerinin artmış olduğu saptandı. Ülserin histopatolojik incelemeleri sonucunda oluşan hücre infiltrasyonu lökositlerin lezyon alanına göç ettiği ve ortamda artmış inflamasyon yarattığı belirlendi. Buradan elde edilen sonuç salınan NO'nun daha çok lökositler aracılı iNOS aracılı olduğunu düşündürmektedir. Asetik asit ile indüklenen kolit modelinde, asetik asit uygulamasının luminol, lusigenin, NO ve peroksinitrit KL düzeylerini arttırdığı görülmüştür (202).

Çalışmamızdaki amaçlarımızdan birisi krill yağı, balık yağı ve astaksantin kronik uygulamalarının oluşacak bu hasarı inhibe etme yeteneğini ortaya koymaktır. Bulgularımız astaksantin hariç krill yağı ve balık yağı uygulamalarının oksidatif stres açısından etanol ülseri oluşumu yönünde yeterli etki oluşturmadığını göstermiştir. Çalışmamızda gastrik ülseri önlemede astaksantin uygulamasının balık ve krill yağından daha üstün sonuçlar verdiği saptanmıştır. Bildiğimiz kadarıyla bu çalışma gastrik ülserde balık yağı, krill yağı ve astaksantin olası koruyucu etkilerini bir arada karşılaştırarak inceleyen ilk çalışmadır. Polotow ve ark. (203), n-3 ÇDYA ve astaksantin takviyesinin beyin dokusunda redoks durumu ve nöroinflamasyon üzerindeki etkileri incelemişlerdir. Sıçanlara 45 gün süreyle oral gavaj yoluyla 10

mg/kg EPA+7 mg/kg DHA veya 1 mg/kg astaksantin veya balık yağı + astaksantin (10 mg /kg EPA+7 mg/kg DHA ve 1 mg/kg astaksantin) veya krill yağı (10 mg/ kg EPA+4,7 mg/kg DHA+0,0072 mg/kg astaksantin) takviyesi yapılmıştır. Gruplar arasında beyincik dokusu TBARS düzeyi, GPx, GR, CAT ve MnSOD aktivitesinde farklılık saptanmazken, astaksantin takviyesinin enzim aktivitesini azalttığı görülmüştür. Kontrol grubuna göre, krill yağı takviyesinin GSH, GSSG, TNF- α , IL-6, IL-1 β düzeylerinde değişiklik yapmadığı saptanmıştır (203). Bu sonuçlar bizim sonuçlarımıza benzer şekilde krill yağı takviyesinin oksidatif stres ve inflamasyonda büyük ölçüde değişikliğe yol açmadığını ve astaksantin takviyesinin antioksidan özelliklerinin daha etkin olduğunu göstermektedir.

Yakın zamanda yayınlanan bir çalışmada, krill yağının gastrik ülser üzerine olan etkileri incelenmiştir. Deneysel ülser oluşturulmadan önce sıçanlara 1 ay süreyle oral gavaj yolu ile 100, 200 veya 500 mg/kg krill yağı uygulaması yapılmıştır. Deney sonucunda 500 mg/kg uygulamada krill yağı uygulamasının ülser oluşumunu inhibe ettiği, doku MDA düzeyleri ve MPO aktivitesini azalttığı görülmüştür. Ayrıca, krill yağı uygulaması ile SOD aktivitesinin arttığı, TNF- α , IL-6, IL-1 β ekspresyonlarının azaldığı saptanmıştır (204). Deney hayvanlarında yapılan toksisite çalışmalarında NOAEL değeri %5 olarak belirlenmiştir. Bu değer insanda eşdeğer doza çevrildiğinde 1g/gün'e denk gelmektedir (87). Bu çalışmada kullanılan takviye dozu hem toksisite çalışmasının hem de bizim çalışmamızdan oldukça fazladır. Ayrıca bu çalışmada kullanılan yüksek yağ tüketiminin karaciğer fonksiyonları ve serum lipid parametreleri üzerindeki etkisi de değerlendirilmemiştir.

Karaciğer, karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmasının düzenlemesinin yanı sıra, albümin, pıhtılaşma faktörleri gibi proteinler ve enzim sentezi, safra üretimi ve regülasyonu, ilaç ve toksinlerin detoksifikasyonu gibi birçok metabolik fonksiyona sahip bir organdır (205, 206). Çalışmamızda düzenli krill yağı, balık yağı ve astaksantin uygulamalarının karaciğer dokusu üzerine yaratacağı olası olumlu/olumsuz etkilerin ortaya konması için mide dokusunda çalışılan parametrelerin tamamı karaciğer dokusunda da analiz edilmiştir. Bulgularımızda takviye alan ve almayan sıçan karaciğer doku MDA, GSH düzeyleri ile MPO aktivitelerinde anlamlı

bir fark bulunmamıştır. Bu durum krill yağı, balık yağı ve astaksantin 4 hafta süreyle düzenli uygulamasının deney hayvanlarında toksik bir yan etki yaratmadığının göstergesi olarak kabul edilmiştir. Ancak deneysel ülser oluşturulan gruplarda hepatositlerde vaküolizasyon/piknotik hepatosit nukleusu, sinüzoidlerde genişleme/konjesyon ve Kupffer hücre infiltrasyonu belirlenmiştir. Ülser grubundaki mikroskopik değerlendirme kontrol grubuna göre yüksek ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu hasarın perforasyon kaynaklı meydana gelmiş olabileceğini düşündürmüştür. Peptik ülser perforasyonu, mide veya bağırsak duvarının içeriğin dışarı invaze olmasıdır. Peptik ülserin komşu organlara penetrasyonu nadir görülen bir olay olmakla beraber, genellikle pankreasta meydana gelir. Peptik ülserlerin karaciğere penetrasyonu, tam olarak anlaşılamayan nadir bir komplikasyondur (207). Yakın zamanda yapılan 40 çalışmanın araştırıldığı sistematik bir incelemede, perfore mide ülseri karaciğer tutulumu olan hastaların daha büyük ülserle sahip olduğu saptanmıştır (208). Bu durum bizim deneysel çalışmamızın mide dokusu makroskopik ve mikroskopik sonuçları ile örtüşmektedir. Karaciğer dokusu KL ölçümleri sonucunda ROT sonuçlarının anlamlı değişmediği gösterilmiştir. Ancak RNT'lerinden NO ve peroksinitrit oluşumu takviye almayan ve ülser oluşturulan grubun karaciğer dokusunda istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur. Bu durum perforasyon sonucunu gelişen oksidatif hasar ile ilişkili olabilir.

Bu çalışmada deney hayvanlarına 4 hafta süreyle krill yağı, balık yağı ve astaksantin takviyesi verilmiş sonra deneysel ülser modeli oluşturulmuştur. Takviye alan ve almayan deney hayvanlarında kan lipit parametrelerinin değişip değişmediği ve karaciğere getireceği olası yükün belirlenmesi için lipit profili analiz edilmiştir. Deneysel ülser modeli oluşturulduktan 1 saat sonra hayvanlar sakrifiye edilmiş ve bu 1 saatlik süre içerisinde etanol etkisinin özellikle karaciğer fonksiyon testlerine etkisi incelenmiştir. Krill yağı, balık yağı ve astaksantin düzenli kullanımı sonucunda trigliserit ve yağ metabolizması üzerine oluşabilecek değişikliklerin yansması kanda görülebilecektir. Bu amaçla deney hayvanlarının kan serumlarında total kolesterol, trigliserid, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol parametreleri ile karaciğer enzimlerinden ALT, AST, ALP analiz edilmiştir. Krill yağı ve balık yağı uygulamaları serum total kolesterol, trigliserid ve LDL-kolesterol düzeylerini hiç takviye almayan deneklere

göre düşürmüştür. Ancak, balık yağı uygulamalarının sonuçları istatistiksel olarak anlamlı bulunduğu halde, krill yağı uygulama sonuçları anlamlı bulunmamıştır. Krill yağı ve balık yağı uygulamaları HDL-kolesterol düzeylerini düşürdüğü halde, balık yağı uygulaması istatistiksel olarak anlamlı düşürmüştür. Astaksantin uygulamaları beklenildiği üzere lipit parametrelerini değiştirmemiştir. Obez Zucker sıçanlarında yapılan çalışmada 4 hafta süreyle standart diyete ek olarak 0.5 g EPA+DHA içeren krill veya balık yağı takviyesi sonucunda, krill yağı takviyesinin plazma LDL düzeyinde balık yağına kıyasla daha fazla azalma sağlarken trigliserid düzeyinde artışa neden olduğu saptanmıştır. Krill yağı takviyesi ek olarak, karaciğer TAG düzeyinde azalma sağlamıştır (209). Vigerust ve ark. C57BL/6hTNF- α transgenik farelerde yaptığı çalışmada 6 hafta süreyle izokalorik yüksek balık yağı (%5.9) ve krill yağı (%5.8) içeren diyetle beslenmenin, farelerde lipit profiline etkisini incelemiştir. Krill yağının triaçilgliserol düzeylerini azaltmada balık yağından üstün olduğunu saptamıştır. Aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber balık yağından zengin diyet alan grupta total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol düzeyleri daha düşük bulunmuştur (210). Yakın zamanda Kim ve ark. tarafından gerçekleştirilen 64 randomize kontrollü çalışmanın meta-analizinde, krill yağının trigliserid, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol ve total kolesterol düzeylerini düşürmede balık yağı ile benzer sonuçlar verdiği saptanmıştır (211). Ramprasath ve ark. çift kör, çapraz geçişli, plasebo kontrollü randomize çalışmasında 24 sağlıklı yetişkin bireye 4 hafta süreyle krill veya balık yağı olarak 600 mg n-3 takviyesi yapmıştır. Tedavi ile serum trigliserid ve HDL-kolesterol düzeyi değişiklik göstermezken, krill yağı uygulamasının total kolesterol ve LDL-kolesterol düzeylerini arttırdığı görülmüştür. Bu durumun, katılımcıların normolipidemik bireyler olmasından kaynaklandığı öne sürülmüştür (117). Yetişkinlerde krill yağı uygulaması bazı çalışmalarda hipolipidemik aktivite gösterse de bu etkinin hiperlipidemili katılımcılarda daha belirgin olduğu bulunmuştur (75, 116). Tillander ve ark. çalışmasında C57BL/6J farelere 6 hafta süreyle yüksek yağ (%24 yağ içeren), balık yağı (%5.8 balık yağı) veya krill yağı (%5.7 krill yağı) içeren diyet uygulanmıştır. Plazma total kolesterol, triaçilgliserol ve fosfolipidlerin balık yağı uygulamasıyla önemli ölçüde azaldığı saptanırken, krill yağının esterleşmemiş yağ asitlerini düşürdüğü görülmüştür. Yapılan ileri analizlerde, balık ve krill yağının lipit metabolizması üzerine olan etkilerinin

farklı yollar aracılığı ile olduğu saptanmıştır. Balık yağı karaciğer ve bağırsakta PPAR- α aktivasyonunu inhibe ederek etki gösterirken, krill yağı uygulaması ile yağ asidi sentaz, asetil-CoA karboksilaz, HMG-CoA redüktaz enzimlerinin ekspresyonunu ve aktivitesini azalttığı belirlenmiştir. PPAR- α aktivasyonu yağ asidi sentezinde ve TAG birikiminde eş zamanlı artışla birlikte lipojenik genlerin karaciğer ekspresyonunu arttırmaktadır. Ayrıca bu çalışmada krill yağı kolesterol ve yağ asidi sentezinde yer alan proteinlerin gen ekspresyonlarında azalma tespit edilmiştir (212). Bu etki farklılıklarının krill ve balık yağında bulunan n-3 yağ asitlerinin yapısındaki farklılıklardan olduğu düşünülmektedir (117, 212). Bu bulgular bizim sonuçlarımızı destekler niteliktedir. Balık yağının normolipidemik sıçanlarımızda lipit profilini iyileştirmede daha etkili olduğu gösterilmiştir.

Karaciğer enzimlerinden ALT ve AST hepatosellüler hasarı yansıtırken, GGT ve ALP kolestazı göstermektedir. Aminotransferaz enzimlerinden AST ve ALT, hepatosit hasarı sonucu kana karışan intrasellüler enzimlerdir. AST ve ALT enzim düzeylerinin yüksekliği karaciğer hastalığı, karaciğeri etkileyen sistemik hastalıklar, bazı ilaçlar ve karaciğer dışı doku hasarlarından kaynaklı olabilir. ALP ise karaciğer, kemik, plasenta, böbrekte bulunan bir enzimdir. Çeşitli nedenlerle intra-ekstra hepatik kolestaz kaynaklı biliyer epitel hasar meydana gelmekte ve ALP düzeyleri yükselmektedir. Karaciğer hastalığı, osteomalasi, hipertiroidizm, hiperparatiroid durumunda ALP düzeyleri artmaktadır. Hepatosit ve biliyer epitelyal hücrelerde, böbrek, pankreas, dalak, kalp ve beyinde bulunan GGT de kolestatik ve hepatosellüler karaciğer hastalıkları göstergesidir. Bunun yanı sıra, beden kütle indeksi (BKİ) artışı ($BKİ > 30 \text{ kg/m}^2$), kronik alkol ve sigara kullanımı, bazı ilaçların kullanımı ile artmaktadır (205, 206).

Yüksek yağlı diyetle beslenme insülin ve lipid metabolizmasında bozukluklara yol açabilir. Toita ve ark. çalışmasında 12 hafta süreyle yüksek yağlı diyetle beslenen C57BL/6 farelerde serum AST ve ALT düzeylerinin değişmemesine rağmen, histolojik incelemelerinde hepatik inflamasyonun artışını gözlemlemiştir (213). Çalışmamızda deney hayvanlarına n-3 türevleri takviyesi yapılmıştır. Bu nedenle krill yağı, balık yağı ve astaksantin düzenli kullanımı sonucunda karaciğer fonksiyon

enzimlerinden ALT, AST ve ALP aktiviteleri analiz edilmiştir. ALP ve mitokondriyal bir enzim olan AST aktivitesi krill yağı uygulamaları ile anlamlı olarak yükselmiştir. Sistilli ve ark. hepatik steatozda 24 hafta süreyle %30 trigliserid form n-3 (balık yağı) ve krill yağı içeren diyetle beslenen farelerde, krill yağı takviyesinin ALT düzeylerini ve hepatik steatozu azalttığını saptamıştır. Fakat AST düzeylerinde anlamlı farklılık görülmemiştir (214). Hwang ve ark. çalışmasında, 12 hafta süreyle yüksek yağlı diyetle beslenen obez farelerde metformine ek olarak oral gavaj yoluyla farklı dozlarda krill yağı uygulamasının (100 mg/kg/gün veya 200 mg/kg/gün veya 400 mg/kg/gün) ALT, AST, ALP düzeylerini azalttığını ve kan glukoz homeostazını sağladığı saptamıştır (215). Bu çalışmalar hepatik hasar veya yağlanma olan deneklerde yapılmıştır. Çalışmamızda sağlıklı karaciğerde uzun süreli yağ asidi kullanımının etkisi değerlendirilmiştir. Krill yağı uygulamasının serum AST düzeylerini yükselttiği belirlenmiştir. Bu durum krill yağının mitokondriyal enzim aktivitelerinin ekspresyonu üzerindeki etkileri ile açıklanabilir (212). Serum ALP değerlerinin astaksantin takviyesi alan gruplarda belirgin derecede düşük olduğunu görülmüştür. Roa ve ark. çalışmasında karbon tetraklorür ile indüklenen karaciğer hasarı modelinde 14 gün süreyle 100 ve 250 µg/kg/gün astaksantin takviyesinin etkileri değerlendirilmiştir. Yüksek doz astaksantin takviyesi alan grupta, karbon tetraklorür grubuna göre AST, ALT ve ALP enzim seviyelerinin belirgin azaldığı saptanmıştır (216).

6 SONUÇ

Bu çalışmada, krill yağı, balık yağı ve astaksantin takviyesinin peptik ülser üzerindeki olası korucu etkilerinin oksidatif stres parametreleri üzerinden incelenerek, inflamatuvar ve ülseratif değişiklikler, histolojik analizlerle araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla deney hayvanlarında etanol ile indüklenen gastrik ülser modeli oluşturulmuştur. Çalışma sonuçlarımız aşağıda yer almaktadır:

1. Mide dokusunda etanol ile indüklenen ülser grubunda, kontrol grubuna göre makroskopik ve mikroskopik skorları istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). Yapılan histolojik incelemeler ile ülserli mide dokusunda yüzey epitel deskuamasyonu, hemoraji, glandüler hasar, inflamatuvar hücre infiltrasyonuna bağlı belirgin lezyonlar ve kanama odakları saptanmıştır. Ülser grubunda, kontrol grubuna kıyasla mide dokusu MDA düzeyleri ve MPO aktiviteleri artmış, GSH düzeyleri azalmıştır (sırasıyla; $p<0.05$, $p<0.001$, $p<0.001$). Ülser grubunda kontrol grubuna göre luminol ve lusigenin aracılı KL düzeyleri, NO ve peroksinitrit salınımı artmıştır ($p<0.001$).
2. Astaksantin veya balık yağı takviyesi alan ülser gruplarında mide dokusu makroskopik skorları ülsere kıyasla düşük bulunurken ($p<0.01$), krill yağı uygulaması yapılan grupta anlamlı farklılık görülmemiştir ($p>0.05$).
3. Mide dokusu MDA düzeyleri incelendiğinde krill yağı ve balık yağı takviyesi alan gruplarda düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). Sadece astaksantin uygulaması yapılan ülser grubunda, takviye almayan ülser gruplarına göre belirgin düşüş olduğu bulunmuştur ($p<0.001$).
4. Mide dokusu GSH düzeyleri incelenmiş ve krill yağı, balık yağı ve astaksantin gruplarındaki GSH düzeylerinin ülser grubuna göre istatistiksel anlamlılık oluşturmayacak şekilde yükseldiği belirlenmiştir ($p>0.05$).
5. Mide dokusu MPO aktiviteleri incelenmiştir. Krill yağı grubunun MPO aktivitesi istatistiksel anlamlılık oluşturmayacak şekilde azaldığı belirlenmiştir ($p>0.05$). Sadece balık yağı ve astaksantin uygulaması yapılan gruplarda, takviye uygulanmayan ülsere kıyasla MPO aktivitelerinin azaldığı görülmüştür (sırasıyla; $p<0.001$, $p<0.05$).

6. Mide dokusunda KL analiz sonuçları değerlendirilmiştir. Krill yağı, astaksantin veya balık yağı uygulaması yapılan ülser gruplarında, takviye almayan ülser gruplarına göre NO ve peroksinitrit salınımı ile luminol ve lusigenin aracılı KL düzeylerinin belirgin derecede azaldığı görülmüştür ($p<0.001$). Fakat, astaksantin uygulaması yapılan ülser grubunda, diğer takviyelere kıyasla KL aracılı ROT düzeyinde azalma daha belirgin olarak saptanmıştır ($p<0.001$).
7. Krill yağı, astaksantin veya balık yağı takviyesi yapılan gruplar ve takviye yapılmayan ülser grupları arası mide dokusu mikroskopik skorları değerlendirilmiştir. Sadece balık yağı uygulaması yapılan ülser grubunda, takviye yapılmayan ülsere kıyasla mikroskopik skorlar anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0.05$).
8. Etanol ile indüklenen ülser grubunda, kontrol grubuna göre karaciğer dokusunda mikroskopik skorları belirgin derecede daha yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). Yapılan histolojik incelemeler ile ülserli karaciğer dokusunda hepatositlerde vaküolizasyon/piknotik hepatosit nükleusu, sinüzoidlerde genişleme/ konjesyon ve Kupffer hücre infiltrasyonuna bağlı hasarlar saptanmıştır. Karaciğer dokusu MDA, GSH düzeyleri ve MPO aktivitesinde ülser ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık görülmemiştir ($p>0.05$). Karaciğer dokusunda KL aracılı ROT ölçümü değerlendirildiğinde, ülser ve kontrol grupları arasında luminol ve lusigenin aracılı KL düzeylerinin değişmediği bulundu ($p>0.05$). Fakat, karaciğer dokusu NO ve peroksinitrit salınımının ülser grubunda anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır ($p<0.001$).
9. Krill yağı, astaksantin ve balık yağı uygulaması yapılan gruplar arası karaciğer dokusu MDA, GSH seviyeleri ve MPO aktivitesi incelenmiştir. Gruplar arasında anlamlı farklılık olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$).
10. Karaciğer dokusunda KL analiz sonuçları değerlendirilmiştir. Krill yağı, astaksantin veya balık yağı uygulaması yapılan ülser gruplarında, takviye almayan ülser gruplarına göre NO ve peroksinitrit salınımı ile luminol ve lusigenin aracılı KL düzeylerinin belirgin derecede azaldığı görülmüştür

($p<0.001$). Fakat, astaksantin uygulaması yapılan ülser grubunda, diğerlerine kıyasla KL aracılı ROT düzeyinde azalma daha belirgindir ($p<0.001$).

11. Deney sonunda sıçanlardan alınan serum örnekleri ile krill yağı, balık yağı ve astaksantin takviyelerinin lipit parametrelerine etkisi incelenmiştir. Balık yağı takviyesi yapılan gruplarda, takviye almayan gruplara kıyasla total kolesterol, LDL-kolesterol ve HDL-kolesterol düzeylerinin düşük olduğu saptanmıştır (sırasıyla; $p<0.001$, $p<0.001$ ve $p<0.01$). Fakat trigliserid düzeyleri arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$).

Balık yağı uygulaması gruplarında, krill yağı uygulaması gruplarına kıyasla total kolesterol ve LDL-kolesterol düzeyleri anlamlı derecede düşüktür ($p<0.05$). Balık yağı uygulaması yapılan gruplarda, astaksantin uygulaması yapılan gruplara kıyasla total kolesterol ($p<0.01$), trigliserid ($p<0.05$), LDL-kolesterol ($p<0.001$) ve HDL-kolesterol ($p<0.01$) düzeyleri anlamlı derecede düşüktür. Krill yağı takviyesi yapılan gruplarda, takviye almayan gruplara kıyasla lipit parametreleri düzeyleri arasında anlamlı farklılık görülmemiştir ($p>0.05$). Astaksantin uygulaması yapılan gruplarda, takviye almayan gruplara kıyasla lipit parametreleri düzeyleri arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$).

12. Deney sonunda sıçanlardan alınan serum örnekleri ile krill yağı, balık yağı ve astaksantin takviyelerinin karaciğer fonksiyonlarına etkisi incelenmiştir. Deney gruplarının serum ALT düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$). Krill yağı uygulaması yapılan gruplarda, takviye almayan gruplara kıyasla AST düzeylerinin yüksek olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). Krill yağı uygulaması yapılan gruplarda, balık yağı uygulaması yapılan gruplara kıyasla AST düzeylerinin yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.01$). Deney hayvanlarında serum ALP düzeyleri incelendiğinde, astaksantin takviyesi yapılan gruplarda takviye yapılmayan kontrol ve ülser gruplarına kıyasla anlamlı derecede düşük olduğu bulundu ($p<0.01$). Astaksantin takviyesi yapılan gruplarda, balık ve krill yağı uygulaması yapılan gruplara kıyasla serum ALP düzeylerinin belirgin derecede düşük olduğu bulundu ($p<0.001$).

Krill yağının zengin n-3 içeriği ve biyoaktif bileşenleri sayesinde çeşitli hastalıklara karşı korunmada yararlı etkileri olduğu çalışmalarla desteklenmiştir. Bildiğimiz kadarıyla literatürde krill yağı, balık yağı ve astaksantinin gastrik ülserle karşı koruyucu etkilerini karşılaştıran çalışma mevcut değildir. Bu çalışmada beklenenin aksine krill yağı takviyesinin, peptik ülserle karşı korunmada balık yağı ve astaksantinden üstün olmadığı saptanmıştır. Dokularda etanol uygulaması kaynaklı ROT artışı (MDA, GSH, MPO ve KL analiz sonuçları) ve inflamasyon (mikroskopik değerlendirme) gözlemlenmiştir. Astaksantin oksidatif stresin neden olduğu lipid peroksidasyonunu ve nötrofil infiltrasyonunu inhibe ederek, mide dokusunu ROT'ların oluşturduğu hasara karşı korumuştur. Krill yağı uygulaması ile incelenen bazı parametrelerde iyileşmeler gözlemlense de peptik ülserle karşı korunmada yeteri kadar etkin olmadığı belirlenmiştir.

7 KAYNAKÇA

1. Zhang W, Lian Y, Li Q, Sun L, Chen R, Lai X, Lai Z, Yuan E, Sun S. Preventative and Therapeutic Potential of Flavonoids in Peptic Ulcers. *Molecules*. 2020; 11;25(20):4626.
2. Woolf A, Rehman RB, Rose R. Gastric Ulcer. 2022. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan.
3. Li W, Wang X, Zhang H, He Z, Zhi W, Liu F, Wang Y, Niu X. Anti-ulcerogenic effect of cavidine against ethanol-induced acute gastric ulcer in mice and possible underlying mechanism. *Int Immunopharmacol*. 2016; 38:450-459.
4. Krill oil. *Monograph. Altern Med Rev*. 2010; 15(1):84-6.
5. Sánchez CAO, Zavaleta EB, García GRU, Solano GL, Díaz MPR. Krill oil microencapsulation: Antioxidant activity, astaxanthin retention, encapsulation efficiency, fatty acids profile, in vitro bioaccessibility and storage stability. *LWT*. 2021; 147:111476.
6. Colletti A, Cravotto G, Citi V, Martelli A, Testai L, Cicero AFG. Advances in Technologies for Highly Active Omega-3 Fatty Acids from Krill Oil: Clinical Applications. *Mar Drugs*. 2021; 19(6):306.
7. Bonaterra G, Driscoll D, Schwarzbach H, Kinscherf R. Krill oil-in-water emulsion protects against lipopolysaccharide-induced proinflammatory activation of macrophages in vitro. *Marine Drugs*. 2017;15(3):74.
8. Costanzo M, Cesi V, Prete E, Negroni A, Palone F, Cucchiara S, Oliva S, Leter B, Stronati L. Krill oil reduces intestinal inflammation by improving epithelial integrity and impairing adherent-invasive *Escherichia coli* pathogenicity. *Dig Liver Dis*. 2016; 48(1):34-42.
9. Miki W. Biological functions and activities of animal carotenoids. *Pure and Applied Chemistry*. 1991;63(1):141–6.
10. Yang Y, Kim B, Lee JY. Astaxanthin structure, metabolism, and health benefits. *J. Hum. Nutr. Food Sci*. 2013; 1:1003.
11. Kohandel Z, Farkhondeh T, Aschner M, Pourbagher-Shahri AM, Samarghandian S. Anti-inflammatory action of Astaxanthin and its use in the treatment of various diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022; 145:112179.
12. Yasui Y, Hosokawa M, Mikami N, Miyashita K, Tanaka T. Dietary astaxanthin inhibits colitis and colitis-associated colon carcinogenesis in mice via modulation of the inflammatory cytokines. *Chemico-Biological Interactions*. 2011; 193(1):79–87.
13. Kim J-H, Kim Y-S, Song G-G, Park J-J, Chang H-I. Protective effect of astaxanthin on naproxen-induced gastric antral ulceration in rats. *European Journal of Pharmacology*. 2005; 514(1):53–9.
14. Simonetto M, Infante M, Sacco RL, Rundek T, Della-Morte D. A novel anti-inflammatory role of omega-3 pufas in prevention and treatment of atherosclerosis and vascular cognitive impairment and dementia. *Nutrients*. 2019; 11(10):2279.

15. Hussein S, Abd Elazem MB, Mostafa Ali H. The potential anti-inflammatory effect of omega-3 polyunsaturated fatty acids on experimentally induced ulcerative colitis in rats. *Benha Veterinary Medical Journal*. 2019; 37(1):242–9.
16. Bhattacharya A, Ghosal S, Bhattacharya SK. Effect of fish oil on offensive and defensive factors in gastric ulceration in rats. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 2006; 74(2):109–16.
17. Dunlap JJ, Patterson S. Peptic ulcer disease. *Gastroenterology Nursing*. 2019; 42(5):451–4.
18. Lanas A, Chan FK. Peptic ulcer disease. *The Lancet*. 2017; 390(10094):613–24.
19. Mousa AM, El-Sammad NM, Hassan SK, Madboli AENA, Hashim AN, Moustafa ES, Bakry SM, Elsayed EA. Antiulcerogenic effect of *Cuphea ignea* extract against ethanol-induced gastric ulcer in rats. *BMC Complement Altern Med*. 2019; 19(1):345.
20. Xie X, Ren K, Zhou Z, Dang C, Zhang H. The global, regional and national burden of peptic ulcer disease from 1990 to 2019: A population-based study. *BMC Gastroenterology*. 2022; 22(1).
21. Ahmad AA, Kasim KF, Ma'Radzi AH, Gopinath SCB. Peptic ulcer: Current prospects of Diagnostic and nanobiotechnological trends on pathogenicity. *Process Biochemistry*. 2019; 85:51–9.
22. Kılıçarslan H, Kalyon S, Yenice N. Peptik ülser etyopatogenezi. *Okmeydanı tıp dergisi*. 2013; 27(2):65-69.
23. Proctor MJ, Deans C. Complications of peptic ulcers. *Surgery (Oxford)*. 2014; 32(11):599–607.
24. Chung KT, Shelat VG. Perforated peptic ulcer - an update. *World Journal of Gastrointestinal Surgery*. 2017; 9(1):1.
25. Kuna L, Jakab J, Smolic R, Raguz-Lucic N, Vcev A, Smolic M. Peptic ulcer disease: A brief review of conventional therapy and herbal treatment options. *Journal of Clinical Medicine*. 2019; 8(2):179.
26. Kurata JH, Nogawa AN. Meta-analysis of risk factors for peptic ulcer: nonsteroidal antiinflammatory drugs, *Helicobacter pylori*, and smoking. *Journal of clinical gastroenterology*. 1997; 24(1):2-17.
27. Chai J. Peptic Ulcer Disease [Internet]. London: IntechOpen; 2011 [cited 2022 Nov 08]. 502 p. Available from: <https://www.intechopen.com/books/225> doi: 10.5772/749
28. Li G, Zhu L, Cao Z, Wang J, Zhou F, Wang X, Li X, Nie G. A New Participant in the Pathogenesis of Alcoholic Gastritis: Pyroptosis. *Cell Physiol Biochem*. 2018; 49(1):406-418.
29. Vomero ND, Colpo E. Nutritional care in peptic ulcer. *ABCD Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)*. 2014; 27(4):298–302.
30. Kulshreshtha M, Srivastava G, Singh MP. Pathophysiological status and nutritional therapy of peptic ulcer: An update. *Environmental Disease*. 2017; 2(3):76.
31. Parmar NS, Tariq M, Ageel AM. Gastric anti-ulcer and cytoprotective effect of selenium in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1988; 92(1):122–30.
32. Kim J-H, Kim B-W, Kwon H-J, Nam S-W. Curative effect of selenium against indomethacin-induced gastric ulcers in rats. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2011; 21(4):400–4.

33. Larsson SC, Bergkvist L, Näslund I, Rutegård J, Wolk A. Vitamin A, retinol, and carotenoids and the risk of gastric cancer: A prospective cohort study. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2007; 85(2):497–503.
34. Zhang H-M, Wakisaka N, Maeda O, Yamamoto T. Vitamin C inhibits the growth of a bacterial risk factor for gastric carcinoma: *helicobacter pylori*. *Cancer*. 1997; 80(10):1897–903.
35. Aditi A, Graham DY. Vitamin C, gastritis, and gastric disease: A historical review and update. *Digestive Diseases and Sciences*. 2012; 57(10):2504–15.
36. Maity P, Biswas K, Roy S, Banerjee RK, Bandyopadhyay U. Smoking and the pathogenesis of gastroduodenal ulcer—recent mechanistic update. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2003; 253(1/2):329–38.
37. Cohen S, Booth GH. Gastric acid secretion and lower-esophageal-sphincter pressure in response to coffee and caffeine. *New England Journal of Medicine*. 1975; 293(18):897–9.
38. Shimamoto T, Yamamichi N, Kodashima S, Takahashi Y, Fujishiro M, Oka M, Mitsushima T, Koike K. No association of coffee consumption with gastric ulcer, duodenal ulcer, reflux esophagitis, and non-erosive reflux disease: a cross-sectional study of 8,013 healthy subjects in Japan. *PLoS One*. 2013; 8(6):e65996.
39. Eisig JN, Zaterka S, Massuda HK, Bettarello A. Coffee drinking in patients with duodenal ulcer and a control population. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 1989; 24(7):796–8.
40. Zaman WSWK, Loh SP, Esa NM. Coffee and gastrointestinal health: A review. *Malaysian Journal of Medicine and Health Sciences*. 2019; 15:96-103.
41. Zatorski H. Pathophysiology and risk factors in peptic ulcer disease. *Introduction to Gastrointestinal Diseases*. 2017; 2: 7–20.
42. Bak Andersen I, Jørgensen T, Bonnevie O, Grønbaek M, Sørensen TI. Smoking and alcohol intake as risk factors for bleeding and perforated peptic ulcers: A population-based Cohort Study. *Epidemiology*. 2000; 11(4):434–9.
43. Sonnenberg A. Dietary salt and gastric ulcer. *Gut*. 1986; 27(10):1138–42.
44. Lee IO, Lee KH, Pyo JH, Kim JH, Choi YJ, Lee YC. Anti-inflammatory effect of capsaicin in *helicobacter pylori*-infected gastric epithelial cells. *Helicobacter*. 2007; 12(5):510–7.
45. Saha K, Sarkar D, Khan U, Karmakar BC, Paul S, Mukhopadhyay AK, Dutta S, Bhattacharya S. Capsaicin inhibits inflammation and gastric damage during *H pylori* infection by targeting NF-KB–mirna axis. *Pathogens*. 2022; 11(6):641.
46. Lin WH, Wu CR, Fang TJ, Guo JT, Huang SY, Lee MS, Yang HL. Anti-*Helicobacter pylori* activity of fermented milk with lactic acid bacteria. *J Sci Food Agric*. 2011; 91(8):1424-31.
47. Andrianjafiarivony C, Randrianasolo F, Rajaonera AT, Samison LH. The Role of Diet and Hygiene in the Management of Digestive Haemorrhages on Peptic Ulcer Disease. *American Academic Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences*. 2020; 71(1):207-211.

48. Park JM, Jeong M, Kim EH, Han YM, Kwon SH, Hahm KB. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids Intake to Regulate Helicobacter pylori-Associated Gastric Diseases as Nonantimicrobial Dietary Approach. *Biomed Res Int*. 2015;2015:712363.
49. Correia M, Michel V, Matos AA, Carvalho P, Oliveira MJ, Ferreira RM, Dillies MA, Huerre M, Seruca R, Figueiredo C, Machado JC, Touati E. Docosahexaenoic acid inhibits Helicobacter pylori growth in vitro and mice gastric mucosa colonization. *PLoS One*. 2012; 7(4):e35072.
50. Ikezaki H, Furusyo N, Jacques PF, Shimizu M, Murata M, Schaefer EJ, Urita Y, Hayashi J. Higher dietary cholesterol and ω -3 fatty acid intakes are associated with a lower success rate of Helicobacter pylori eradication therapy in Japan. *Am J Clin Nutr*. 2017; 106(2):581-588.
51. Sakr HI, Khalifa MM, Saleh MAS, Rashed LA, Khowailed AA. The Effect of Omega-3 Therapy on Induced Hyperacidity. *J. Med. Sci. Clin. Res*. 2016; 4(2):9222-34.
52. Pineda-Peña EA, Jiménez-Andrade JM, Castañeda-Hernández G, Chávez-Piña AE. Docosahexaenoic acid, an omega-3 polyunsaturated acid protects against indomethacin-induced gastric injury. *Eur J Pharmacol*. 2012; 697(1-3):139-43.
53. Bhattacharyya A, Chattopadhyay R, Mitra S, Crowe SE. Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. *Physiol Rev*. 2014; 94(2):329-54.
54. Suzuki H, Nishizawa T, Tsugawa H, Mogami S, Hibi T. Roles of oxidative stress in stomach disorders. *J Clin Biochem Nutr*. 2012; 50(1):35-9.
55. Jung HK, Lee KE, Chu SH, Yi SY. Reactive oxygen species activity, mucosal lipoperoxidation and glutathione in Helicobacter pylori-infected gastric mucosa. *J Gastroenterol Hepatol*. 2001; 16(12):1336-40.
56. Halliwell B. Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical society transactions*. 2007; 35(5),1147-1150.
57. Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, Squadrito F, Altavilla D, Bitto A. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxid Med Cell Longev*. 2017; 2017:8416763.
58. Özcan O, Erdal H, Çakırca G, Yönden Z. Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 2015; 6(3):331-336.
59. Flieger J, Flieger W, Baj J, Maciejewski R. Antioxidants: Classification, Natural Sources, Activity/Capacity Measurements, and Usefulness for the Synthesis of Nanoparticles. *Materials (Basel)*. 2021; 14(15):4135.
60. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*. 2002; 82(1):47-95.
61. Minihane AM, Vinoy S, Russell WR, Baka A, Roche HM, Tuohy KM, Teeling JL, Blaak EE, Fenech M, Vauzour D, McArdle HJ, Kremer BH, Sterkman L, Vafeiadou K, Benedetti MM, Williams CM, Calder PC. Low-grade inflammation, diet composition and health: current research evidence and its translation. *Br J Nutr*. 2015; 114(7):999-1012.
62. Jiang S, Liu H, Li C. Dietary Regulation of Oxidative Stress in Chronic Metabolic Diseases. *Foods*. 2021; 10(8):1854.

63. Damiano S, Muscariello E, La Rosa G, Di Maro M, Mondola P, Santillo M. Dual Role of Reactive Oxygen Species in Muscle Function: Can Antioxidant Dietary Supplements Counteract Age-Related Sarcopenia? *Int J Mol Sci.* 2019; 20(15):3815.
64. Padayatty SJ, Katz A, Wang Y, Eck P, Kwon O, Lee JH, Chen S, Corpe C, Dutta A, Dutta SK, Levine M. Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *J Am Coll Nutr.* 2003; 22(1):18-35.
65. Andre C, Larondelle Y, Evers D. Dietary antioxidants and oxidative stress from a human and Plant Perspective: A Review. *Current Nutrition & Food Science.* 2010; 6(1):2–12.
66. Zhang H, Tsao R. Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Current Opinion in Food Science.* 2016; 8:33–42.
67. Calder PC, Ahluwalia N, Albers R, Bosco N, Bourdet-Sicard R, Haller D, Holgate ST, Jönsson LS, Latulippe ME, Marcos A, Moreines J, M'Rini C, Müller M, Pawelec G, van Neerven RJ, Watzl B, Zhao J. A consideration of biomarkers to be used for evaluation of inflammation in human nutritional studies. *Br J Nutr.* 2013;109 Suppl 1:S1-34.
68. Kochlik B, Grune T, Weber D. New findings of oxidative stress biomarkers in nutritional research. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2017; 20(5):349-359.
69. Di Daniele N, Noce A, Vidiri MF, Moriconi E, Marrone G, Annicchiarico-Petruzzelli M, D'Urso G, Tesaro M, Rovella V, De Lorenzo A. Impact of Mediterranean diet on metabolic syndrome, cancer and longevity. *Oncotarget.* 2017; 8(5):8947-8979.
70. Tan BL, Norhaizan ME, Liew WP. Nutrients and Oxidative Stress: Friend or Foe? *Oxid Med Cell Longev.* 2018; 2018:9719584.
71. Sies H, Stahl W, Sevanian A. Nutritional, dietary and postprandial oxidative stress. *J Nutr.* 2005; 135(5):969-72.
72. Nicol S, Foster J, Kawaguchi S. The fishery for Antarctic krill - recent developments. *Fish Fish (Oxf).* 2011; 13(1):30–40.
73. Burri L, Johnsen L. Krill products: An overview of animal studies. *Nutrients.* 2015;7(5):3300–21.
74. Tou JC, Jaczynski J, Chen Y-C. Krill for human consumption: Nutritional value and potential health benefits. *Nutr Rev.* 2008; 65(2):63–77.
75. Ulven SM, Kirkhus B, Lamglait A, Basu S, Elind E, Haider T, Berge K, Vik H, Pedersen JI. Metabolic effects of krill oil are essentially similar to those of fish oil but at lower dose of EPA and DHA, in healthy volunteers. *Lipids.* 2011; 46(1):37-46.
76. Rossmeisl M, Jilkova ZM, Kuda O, Jelenik T, Medrikova D, Stankova B, Kristinsson B, Haraldsson GG, Svensen H, Stoknes I, Sjövall P, Magnusson Y, Balvers MG, Verhoeckx KC, Tvrzicka E, Bryhn M, Kopecky J. Metabolic effects of n-3 PUFA as phospholipids are superior to triglycerides in mice fed a high-fat diet: possible role of endocannabinoids. *PLoS One.* 2012; 7(6):e38834.
77. Graf BA, Duchateau GS, Patterson AB, Mitchell ES, van Bruggen P, Koek JH, Melville S, Verkade HJ. Age dependent incorporation of 14C-DHA into rat brain and body tissues after dosing various 14C-DHA-esters. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2010; 83(2):89-96.

78. Werner A, Havinga R, Kuipers F, Verkade HJ. Treatment of EFA deficiency with dietary triglycerides or phospholipids in a murine model of extrahepatic cholestasis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2004; 286(5).
79. Bruheim, I., & Cameron, J. (2017). Flowable concentrated phospholipid krill oil composition. US Patent 20170020928 A1.
80. Kwantes JM, Grundmann O. A brief review of Krill Oil History, research, and the commercial market. *J Diet Suppl*. 2014; 12(1):23–35.
81. Xie D, Jin J, Sun J, Liang L, Wang X, Zhang W, Wang X, Jin Q. Comparison of solvents for extraction of krill oil from krill meal: Lipid yield, phospholipids content, fatty acids composition and minor components. *Food Chem*. 2017; 233:434–441.
82. Xie D, Gong M, Wei W, Jin J, Wang X, Wang X, Jin Q. Antarctic Krill (*Euphausia superba*) Oil: A Comprehensive Review of Chemical Composition, Extraction Technologies, Health Benefits, and Current Applications. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2019; 18(2):514–534.
83. EFSA. Scientific opinion on dietary reference values for vitamin A. *EFSA Journal*. 2015; 13(3):4028.
84. Scott KC, Latshaw JD. Effects of commercial processing on the fat-soluble vitamin content of Menhaden Fish Oil. *JAOCs*, 1991;68(4):234–6.
85. Liu RH. Dietary bioactive compounds and their health implications. *J Food Sci*. 2013; 78(s1).
86. Yang G, Lee J, Lee S, Kwak D, Choe W, Kang I, et al. Krill oil supplementation improves dyslipidemia and lowers body weight in mice fed a high-fat diet through activation of AMP-activated protein kinase. *J Med Food*. 2016; 19(12):1120–9.
87. Robertson B, Burri L, Berge K. Genotoxicity test and subchronic toxicity study with Superba™ Krill Oil in rats. *Toxicol Rep*. 2014; 1:764–76.
88. Shahidi F, Ambigaipalan P. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and their health benefits. *Annu Rev Food Sci Technol*. 2018; 9(1):345–81.
89. Duric M, Sivanesan S, Bakovic M. Phosphatidylcholine functional foods and nutraceuticals: A potential approach to prevent non-alcoholic fatty liver disease. *Eur J Lipid Sci Technol*. 2012; 114(4):389–98.
90. Naguib YM. Antioxidant activities of Astaxanthin and related carotenoids. *J Agric Food Chem*. 2000; 48(4):1150–4.
91. Grimstad T, Bjørndal B, Cacabelos D, Aasprong OG, Janssen EA, Omdal R, Svardal A, Hausken T, Bohov P, Portero-Otin M, Pamplona R, Berge RK. Dietary supplementation of krill oil attenuates inflammation and oxidative stress in experimental ulcerative colitis in rats. *Scand J Gastroenterol*. 2012; 47(1):49–58.
92. Deutsch L. Evaluation of the effect of Neptune krill oil on chronic inflammation and arthritic symptoms. *J Am Coll Nutr*. 2007; 26(1):39–48.
93. Helal MG, El-Kashef DH. Krill oil alleviates oxidative stress, iron accumulation and fibrosis in the liver and spleen of iron-overload rats. *Environmental Science and Pollution Research*. 2019; 27(4):3950–61.

94. Şahin Y, Alçıgır ME, Şenol A, Özden H, Ekici H, Yıldırım E, et al. Protective effect of krill oil against gentamicin-induced oxidative stress-mediated nephrotoxicity in rats. *Kocatepe Veterinary Journal*. 2022;15(1):38-46.
95. Skarpańska-Stejnborn A, Pilaczyńska-Szcześniak Ł, Basta P, Foriasz J, Arlet J. Effects of supplementation with Neptune Krill Oil (*euphasia superba*) on selected redox parameters and pro-inflammatory markers in athletes during exhaustive exercise. *J Hum Kinet*. 2010; 25(2010):49–57.
96. Calder PC. Omega-3 fatty acids and inflammatory processes. *Nutrients*. 2010;2(3):355–74.
97. Calder PC. Omega-3 fatty acids and inflammatory processes: From molecules to man. *Biochem Soc Trans*. 2017; 45(5):1105–15.
98. Das S, Paul BN, Sengupta J, Datta AK. Beneficial effects of fish oil to human health: a review. *Agric Rev*. 2009; 30(3):199–205.
99. Çelik F, Demirel ZB. Omega-3 Yağ Asitlerinin Nörolojik ve Görsel Gelişim Üzerindeki Etkileri. *Bes Diy Dergi*. 2012; 40(3):266-272.
100. EFSA. Scientific opinion on dietary reference values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *EFSA Journal*. 2010;8(3).
101. Shils ME. *Modern Nutrition in health and disease*. 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1999.
102. “Türkiye Beslenme Rehberi TÜBER 2015”, “T.C. Sağlık Bakanlığı Yayın No: 1031, Ankara 2016.
103. Skulas-Ray AC, Wilson PWF, Harris WS, Brinton EA, Kris-Etherton PM, Richter CK, Jacobson TA, Engler MB, Miller M, Robinson JG, Blum CB, Rodriguez-Leyva D, de Ferranti SD, Welty FK; American Heart Association Council on Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology; Council on Lifestyle and Cardiometabolic Health; Council on Cardiovascular Disease in the Young; Council on Cardiovascular and Stroke Nursing; and Council on Clinical Cardiology. Omega-3 Fatty Acids for the Management of Hypertriglyceridemia: A Science Advisory From the American Heart Association. *Circulation*. 2019; 140(12):e673-e691.
104. Swanson D, Block R, Mousa SA. Omega-3 fatty acids EPA and DHA: Health benefits throughout life. *Adv Nutr*. 2012; 3(1):1–7.
105. Calder PC. Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2006; 75(3):197–202.
106. Yashodhara BM, Umakanth S, Pappachan JM, Bhat SK, Kamath R, Choo BH. Omega-3 fatty acids: A comprehensive review of their role in health and disease. *Postgrad Med J*. 2009; 85(1000):84–90.
107. Lee JH, O’Keefe JH, Lavie CJ, Marchioli R, Harris WS. Omega-3 fatty acids for Cardioprotection. *Mayo Clin Proc*. 2008; 83(3):324–32.

108. Casula M, Olmastroni E, Gazzotti M, Galimberti F, Zambon A, Catapano AL. Omega-3 polyunsaturated fatty acids supplementation and cardiovascular outcomes: Do formulation, dosage, and Baseline Cardiovascular Risk Matter? an updated meta-analysis of randomized controlled trials. *Pharmacol Res.* 2020; 160:105060.
109. Balwan WK, Saba N. Study of Role of Fish Oil in Human Health. *Glob Acad J Med Sci.* 2021; 3:14-18.
110. Varming K, Schmidt EB, Svaneborg N, Møller JM, Lervang H-H, Grunnet N, et al. The effect of N-3 fatty acids on neutrophil chemiluminescence. *Scand J Clin Lab Invest.* 1995; 55(1):47–52.
111. Luostarinen R, Saldeen T. Dietary fish oil decreases superoxide generation by human neutrophils: Relation to cyclooxygenase pathway and lysosomal enzyme release. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 1996; 55(3):167–72.
112. Fisher M, Levine PH, Weiner BH, Johnson MH, Doyle EM, Ellis PA, et al. Dietary N-3 fatty acid supplementation reduces superoxide production and chemiluminescence in a monocyte-enriched preparation of leukocytes. *Am J Clin Nutr.* 1990; 51(5):804–8.
113. Dag Halvorsen S, Hansen J-B, Grimsgaard S, Bønaa KH, Kierulf P, Nordøy A. The effect of highly purified eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on monocyte phagocytosis in man. *Lipids.* 1997;32(9):935–42.
114. Heshmati J, Morvaridzadeh M, Maroufizadeh S, Akbari A, Yavari M, Amirinejad A, et al. Omega-3 fatty acids supplementation and oxidative stress parameters: A systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Pharmacol Res.* 2019; 149:104462.
115. Mahdavi R, Nemati A, Faizi-Khan I, Amani M, Hazrati S, Baghi AN, et al. Effects of omega-3 fatty acids supplementation on oxidative stress and MMP2/9 in patients with gastric cancer during chemotherapy. *J Anim Vet Adv.* 2012; 11(11):1858–63.
116. Maki KC, Reeves MS, Farmer M, Griinari M, Berge K, Vik H, et al. Krill oil supplementation increases plasma concentrations of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in overweight and obese men and women. *Nutr Res.* 2009; 29(9):609–15.
117. Ramprasath VR, Eyal I, Zchut S, Jones PJH. Enhanced increase of omega-3 index in healthy individuals with response to 4-week N-3 fatty acid supplementation from krill oil versus fish oil. *Lipids Health Dis.* 2013; 12(1).
118. Schuchardt J, Schneider I, Meyer H, Neubronner J, von Schacky C, Hahn A. Incorporation of EPA and DHA into plasma phospholipids in response to different omega-3 fatty acid formulations - a comparative bioavailability study of fish oil vs. Krill Oil. *Lipids Health Dis.* 2011; 10(1):145.
119. Bunea R, El Farrah K, Deutsch L. Evaluation of the effects of Neptune Krill Oil on the clinical course of hyperlipidemia. *Altern Med Rev.* 2004; 9(4):420-428.
120. Konagai C, Yanagimoto, Hayamizu, Li, Tsuji, Koga. Effects of krill oil containing N-3 polyunsaturated fatty acids in phospholipid form on human brain function: A randomized controlled trial in healthy elderly volunteers. *Clin Interv Aging.* 2013; 8:1247-1257.
121. Ierna M, Kerr A, Scales H, Berge K, Griinari M. Supplementation of diet with krill oil protects against experimental rheumatoid arthritis. *BMC Musculoskelet Disord.* 2010; 11(1):136.

122. Zadeh-Ardabili PM, Rad SK. Anti-pain and anti-inflammation like effects of Neptune krill oil and fish oil against carrageenan induced inflammation in mice models: Current statues and pilot study. *Biotechnol Rep (Amst)*. 2019; 22:e00341.
123. Ambati R, Phang S-M, Ravi S, Aswathanarayana R. Astaxanthin: Sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications—a review. *Mar Drugs*. 2014; 12(1):128–152.
124. Chang MX, Xiong F. Astaxanthin and its effects in inflammatory responses and inflammation-associated diseases: Recent advances and Future Directions. *Molecules*. 2020; 25(22):5342.
125. Higuera-Ciapara I, Félix-Valenzuela L, Goycoolea FM. Astaxanthin: A review of its chemistry and applications. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2006;46(2):185–96.
126. Ekpe L, Inaku K, Ekpe V. Antioxidant effects of astaxanthin in various diseases—a review. *J Mol Pathophysiol*. 2018;7(1):1-6.
127. Fassett RG, Coombes JS. Astaxanthin, oxidative stress, inflammation and cardiovascular disease. *Future Cardiol*. 2009;5(4):333–42.
128. Olaizola M, Huntley ME. Recent advances in commercial production of astaxanthin from microalgae. *Biomaterials and bioprocessing*. 2003; 9:143-164.
129. Li J, Guo C, Wu J. astaxanthin in liver health and disease: A potential therapeutic agent. *Drug Des Devel Ther*. 2020; 14:2275–85.
130. Jannel S, Caro Y, Bermudes M, Petit T. Novel insights into the biotechnological production of haematococcus pluvialis-derived astaxanthin: Advances and key challenges to allow its industrial use as novel Food Ingredient. *J Mar Sci Eng*. 2020; 8(10):789.
131. Ozbeyli D, Gurler EB, Buzcu H, Cilingir-Kaya OT, Cam ME, Yuksel M. Astaxanthin alleviates oxidative damage in acute pancreatitis via direct antioxidant mechanisms. *Turk J Gastroenterol*. 2020; 31(10):706–12.
132. Mosaad Y, Gobba N, Hussein M. Astaxanthin; a promising protector against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Curr Pharm Biotechnol*. 2016; 17(13):1189–97.
133. Iwamoto T, Hosoda K, Hirano R, Kurata H, Matsumoto A, Miki W, et al. Inhibition of low-density lipoprotein oxidation by astaxanthin. *J J Atheroscler Thromb*. 2000; 7(4):216–22.
134. Fassett RG, Coombes JS. Astaxanthin: A potential therapeutic agent in cardiovascular disease. *Marine Drugs*. 2011; 9(3):447–65.
135. Spiller GA, Dewell A. Safety of an astaxanthin-rich haematococcus pluvialis algal extract: A randomized clinical trial. *J Med Food*. 2003; 6(1):51–6.
136. Lee SJ, Bai SK, Lee KS, Namkoong S, Na HJ, Ha KS, Han JA, Yim SV, Chang K, Kwon YG, Lee SK, Kim YM. Astaxanthin inhibits nitric oxide production and inflammatory gene expression by suppressing I(kappa)B kinase-dependent NF-kappaB activation. *Mol Cells*. 2003;16(1):97-105.
137. Santos SD, Cahú TB, Firmino GO, de Castro CCM, Carvalho Jr. LB, Bezerra RS, et al. Shrimp waste extract and astaxanthin: Rat alveolar macrophage, oxidative stress and inflammation. *J Food Sci*. 2012;77(7):141-146.
138. Kang H, Kim H. Astaxanthin and β -carotene in helicobacter pylori-induced gastric inflammation: A mini-review on action mechanisms. *J Cancer Prev*. 2017; 22(2):57–61.

139. Özbeyli D, Gülhan R. (Ed). Deneysel Araştırma Modelleri Uygulama El Kitabı.1. Baskı, Ankara: Ankara Nobel Tıp Kitabevleri. 2021.
140. Fulga S, Pelin A-M, Ghiciuc CM, Lupuşoru EC. Particularities of experimental models used to induce gastric ulcer. *ARS Medica Tomitana*. 2019;25(4):179–84.
141. Lanas A, Dumonceau JM, Hunt RH, Fujishiro M, Scheiman JM, Gralnek IM, Campbell HE, Rostom A, Villanueva C, Sung JJY. Non-variceal upper gastrointestinal bleeding. *Nat Rev Dis Primers*. 2018;4(1): 1-20.
142. Wibrand K, Berge K, Messaoudi M, Duffaud A, Panja D, Bramham CR, et al. Enhanced cognitive function and antidepressant-like effects after krill oil supplementation in rats. *Lipids in Health and Disease*. 2013; 12(1):6.
143. Jho DH, Cole SM, Lee EM, Espat NJ. Role of omega-3 fatty acid supplementation in inflammation and malignancy. *Integrative Cancer Therapies*. 2004; 3(2):98–111.
144. Avramovic N, Dragutinovic V, Krstic D, Colovic M, Trbovic A, de Luka S, Milovanovic I, Popovic T. The effects of omega 3 fatty acid supplementation on brain tissue oxidative status in aged wistar rats. *Hippokratia*. 2012; 16(3):241-5.
145. Kaur M, Singh A, Kumar B. Comparative antidiarrheal and antiulcer effect of the aqueous and ethanolic stem bark extracts of *Tinospora cordifolia* in rats. *J Adv Pharm Technol Res*. 2014; 5(3):122-8.
146. Simões S, Lopes R, Campos MCD, Marruz MJ, da Cruz MEM, Corvo L. Animal models of acute gastric mucosal injury: Macroscopic and microscopic evaluation. *Animal models and experimental medicine*, 2019; 2(2):121-126.
147. Haklar U, Yüksel M, Velioğlu A, Türkmen M, Haklar G, Yalçın AS. Oxygen radicals and nitric oxide in chondral and meniscal lesions or both. *Clin Orthop Relat Res* 2002; 403:135-142.
148. Haklar G, Sayın- Özveri E, Yüksel M, Aktan AÖ, Yalçın AS. Different kinds of reactive oxygen and nitrogen species were detected in colon and breast tumors. *Cancer Letters* 2001; 165(2):219-224.
149. Kikuchi K, Nagano T, Hayakawa H, Hirata Y, Hirobe M. Real time measurement of nitric oxide produced ex vivo by luminol-H₂O₂ chemiluminescence method. *J Biol Chem*. 1993; 268(31):23106-10.
150. Kikuchi K, Nagano T, Hayakawa H, Hirata Y, Hirobe M. Detection of nitric oxide production from a perfused organ by a luminol-H₂O₂ system. *Anal Chem*. 1993; 65(13):1794-9.
151. Cilingir-Kaya OT, Gurler EB. Therapeutic potential of essential oil of *Melaleuca quinquenervia* (Myrtaceae) in a rat model of ethanol-induced peptic ulcer. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2021; 20(5),981-986.
152. Kolgazi M, Güleken Z, Kolbaşı B, Başbüyük CS, Ercan F, Yeğen B. Nikotinik Sıçan Pankreatit Modelindeki Hafifletici Etkisinde Vagusun Rolünün Araştırılması. *Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2021; 12(2),166-175.
153. GraphPad InStat 3.10 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

154. Ursoniu S, Sahebkar A, Serban MC, Antal D, Mikhailidis DP, Cicero A, Athyros V, Rizzo M, Rysz J, Banach M; Lipid and Blood Pressure Meta-analysis Collaboration Group. Lipid-modifying effects of krill oil in humans: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutr Rev.* 2017;75(5):361-373.
155. Cao Y, Yang L, Qiao X, Xue C, Xu J. Dietary astaxanthin: an excellent carotenoid with multiple health benefits. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2021; 28:1-27.
156. Chen J, Jayachandran M, Bai W, Xu B. A critical review on the health benefits of fish consumption and its bioactive constituents. *Food Chem.* 2022; 369:130874.
157. Sverdén E, Agréus L, Dunn JM, Lagergren J. Peptic ulcer disease. *BMJ.* 2019; 367:15495.
158. AbdelAziz EY, Tadros MG, Menze ET. The effect of metformin on indomethacin-induced gastric ulcer: Involvement of nitric oxide/Rho kinase pathway. *Eur J Pharmacol.* 2021; 892:173812.
159. Arab HH, Salama SA, Omar HA, Arafa el-SA, Maghrabi IA. Diosmin protects against ethanol-induced gastric injury in rats: novel anti-ulcer actions. *PLoS One.* 2015;10(3):e0122417.
160. Jaccob AA. Effect of pharmacological doses of garlic and omega 3 on gastric lesions induced by ethanol in mice. *Asian J Pharm Clin Res.* 2016; 9(5):153-157.
161. Faust TW, Redfern JS, Podolsky I, Lee E, Grundy SM, Feldman M. Effects of aspirin on gastric mucosal prostaglandin E2 and F2 alpha content and on gastric mucosal injury in humans receiving fish oil or olive oil. *Gastroenterology.* 1990; 98(3):586-91.
162. Kamath BS, Srikanta BM, Dharmesh SM, Sarada R, Ravishankar GA. Ulcer preventive and antioxidative properties of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. *Eur J Pharmacol.* 2008; 590(1-3):387-95.
163. Murata K, Oyagi A, Takahira D, Tsuruma K, Shimazawa M, Ishibashi T, Hara H. Protective effects of astaxanthin from *Paracoccus carotinifaciens* on murine gastric ulcer models. *Phytother Res.* 2012; 26(8):1126-32.
164. Yang Q, Zhang Z, Zhu X, Ruan H, Fu Y. [Therapeutic effect of astaxanthin on acetic acid-induced gastric ulcer in rats]. *Yao Xue Xue Bao.* 2009; 44(5):558-60.
165. Zhou X, Xiang X, Zhou Y, Zhou T, Deng S, Zheng B, Zheng P. Protective effects of Antarctic krill oil in dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis mice. *Journal of Functional Foods.* 2021; 79:104394.
166. Büyüksulu N, Yiğitbaşı T. Reaktif oksijen türleri ve obezitede oksidatif stres. *Clinical and Experimental Health Sciences.* 2015; 5(3):197-203.
167. Eken A. Rat kan ve doku örneklerinde oksidatif stres parametreleri. *Journal of Clinical and Analytical Medicine.* 2017; 69-73.
168. Sistani Karampour N, Arzi A, Rezaie A, Pashmforoosh M, Kordi F. Gastroprotective Effect of Zingerone on Ethanol-Induced Gastric Ulcers in Rats. *Medicina (Kaunas).* 2019; 55(3):64.
169. Guzmán-Gómez O, García-Rodríguez RV, Quevedo-Corona L, Pérez-Pastén-Borja R, Rivero-Ramírez NL, Ríos-Castro E, Pérez-Gutiérrez S, Pérez-Ramos J, Chamorro-Cevallos GA. Amelioration of Ethanol-Induced Gastric Ulcers in Rats Pretreated with Phycobiliproteins of *Arthrospira (Spirulina) Maxima*. *Nutrients.* 2018; 10(6):763.

170. Kim WH, Lee HJ, Lee DY, Lee CY, Oh JH, Kim JE, Shim SM. Preventive effects of standardized krill oil on alcohol hangovers in a clinical trial. *Journal of Functional Foods*, 2022; 94,105142.
171. K       E, Uluocak N, Unsal V. Protective effects of krill oil on ischemic reperfusion injury in experimental model of priapism. *Journal of Surgery and Medicine*, 2019; 3(5), 371-376.
172. Lu C, Sun T, Li Y, Zhang D, Zhou J, Su X. Modulation of the gut microbiota by krill oil in mice fed a high-sugar high-fat diet. *Frontiers in microbiology*, 2017; 8, 905.
173. Mansour SZ, Moustafa EM, Hassan AA, Thabet NM. (). Protective role of Krill oil against estrogen deficiency induced neurodegeneration in ovariectomized rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, 2017; 55: 279-285.
174. Da Boit M, Mastalurova I, Brazaite G, McGovern N, Thompson K, Gray SR. The Effect of Krill Oil Supplementation on Exercise Performance and Markers of Immune Function. *PLoS One*. 2015; 10(9):e0139174.
175. Shaaban AA, Shaker ME, Zalata KR, El-kashef HA, Ibrahim TM. Modulation of carbon tetrachloride-induced hepatic oxidative stress, injury and fibrosis by olmesartan and omega-3. *Chem Biol Interact*. 2014; 207:81-91.
176. Ali FF, Rifaai RA. Preventive effect of omega-3 fatty acids in a rat model of stress-induced liver injury. *Journal of Cellular Physiology*, 2019; 234(7), 11960-11968.
177. Yorulmaz E, Yorulmaz H, G       ES, Altınay S, K       SH, Zengi O,        DS,        D. Therapeutic effectiveness of rectally administered fish oil and mesalazine in trinitrobenzenesulfonic acid-induced colitis. *Biomed Pharmacother*. 2019; 118:109247.
178. Lima Rocha J  , Mendes Furtado M, Mello Neto RS, da Silva Mendes AV, Brito AKDS, Sena de Almeida JOC, Rodrigues Queiroz EI, de Sousa Fran  a JV, Silva Primo MG, Cunha Sales ALC et al. Effects of Fish Oil Supplementation on Oxidative Stress Biomarkers and Liver Damage in Hypercholesterolemic Rats. *Nutrients*. 2022; 14(3):426.
179. Pooya Sh, Jalali MD, Jazayeri AD, Saedisomeolia A, Eshraghian MR, Toorang F. The efficacy of omega-3 fatty acid supplementation on plasma homocysteine and malondialdehyde levels of type 2 diabetic patients. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2010; 20(5):326-31.
180. Vaagenes H, Muna ZA, Madsen L, Berge RK. Low doses of eicosapentaenoic acid, docosahexaenoic acid, and hypolipidemic eicosapentaenoic acid derivatives have no effect on lipid peroxidation in plasma. *Lipids*. 1998; 33(11):1131-7.
181. Andersen LP, Holck S, Kupcinkas L, Kiudelis G, Jonaitis L, Janciauskas D, Permin H, Wadstr  m T. Gastric inflammatory markers and interleukins in patients with functional dyspepsia treated with astaxanthin. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2007; 50(2):244-8.
182. Lushchak VI. Glutathione homeostasis and functions: potential targets for medical interventions. *J Amino Acids*. 2012; 2012:736837.
183. Potter DW, Tran TB. Apparent rates of glutathione turnover in rat tissues. *Toxicology and applied pharmacology*, 1993; 120(2), 186-192.
184. Lu SC. Regulation of hepatic glutathione synthesis: current concepts and controversies. *The FASEB journal*, 1999; 13(10), 1169-1183.

185. van der Veen BS, de Winther MP, Heeringa P. Myeloperoxidase: molecular mechanisms of action and their relevance to human health and disease. *Antioxid Redox Signal*. 2009; 11(11):2899-937.
186. İpek BE, Yüksel M, Cumbul A, Ercan F, Cabadak H, Aydın B, Alican İ. The Effect of Metformin on Ethanol- and Indomethacin-Induced Gastric Ulcers in Rats. *Turk J Gastroenterol*. 2022; 33(9):767-776.
187. Mayyas F, Jaradat R, Alzoubi KH. Cardiac effects of fish oil in a rat model of streptozotocin-induced diabetes. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2018; 28(6):592-599.
188. Owumi SE, Nwozo SO, Effiong ME, Najophe ES. Gallic acid and omega-3 fatty acids decrease inflammatory and oxidative stress in manganese-treated rats. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2020; 245(9):835-844.
189. Khandouzi N, Shidfar F, Agah S, Hosseini AF, Dehnad A. Comparison of the Effects of Eicosapentaenoic Acid and Docosahexaenoic Acid on the Eradication of Helicobacter pylori Infection, Serum Inflammatory Factors and Total Antioxidant Capacity. *Iran J Pharm Res*. 2015; 14(1):149-57.
190. Han H, Lim JW, Kim H. Astaxanthin Inhibits Helicobacter pylori-induced Inflammatory and Oncogenic Responses in Gastric Mucosal Tissues of Mice. *J Cancer Prev*. 2020; 25(4):244-251.
191. Islam MA, Al Mamun MA, Faruk M, Ul Islam MT, Rahman MM, Alam MN, Rahman AFMT, Reza HM, Alam MA. Astaxanthin Ameliorates Hepatic Damage and Oxidative Stress in Carbon Tetrachloride-administered Rats. *Pharmacognosy Res*. 2017; 9(Suppl 1):S84-S91.
192. Berge RK, Ramsvik MS, Bohov P, Svardal A, Nordrehaug JE, Rostrup E, Bruheim I, Bjørndal B. Krill oil reduces plasma triacylglycerol level and improves related lipoprotein particle concentration, fatty acid composition and redox status in healthy young adults - a pilot study. *Lipids Health Dis*. 2015; 14:163.
193. Stonehouse W, Benassi-Evans B, Bednarz J, Vincent AD, Hall S, Hill CL. Krill oil improved osteoarthritic knee pain in adults with mild to moderate knee osteoarthritis: a 6-month multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr*. 2022; 116(3): 672-685.
194. Singh U, Devaraj S, Jialal I. C-reactive protein stimulates myeloperoxidase release from polymorphonuclear cells and monocytes: implications for acute coronary syndromes. *Clin Chem*. 2009; 55(2):361-4.
195. Karakoyun B, Yüksel M, Ercan F, Erzik C, Yeğen BC. Alpha-lipoic acid improves acetic acid-induced gastric ulcer healing in rats. *Inflammation*. 2009; 32(1):37-46.
196. Şehirli O, Tatlıdede E, Yüksel M, Erzik C, Cetinel S, Yeğen BC, Sener G. Antioxidant effect of alpha-lipoic acid against ethanol-induced gastric mucosal erosion in rats. *Pharmacology*. 2008; 81(2):173-80.
197. Kolgazi M, Cantali-Ozturk C, Deniz R, Ozdemir-Kumral ZN, Yuksel M, Sirvanci S, Yeğen BC. Nesfatin-1 alleviates gastric damage via direct antioxidant mechanisms. *J Surg Res*. 2015; 193(1):111-8.

198. Gürlür EB, Özbeyli D, Buzcu H, Çam ME, Yüksel M. Astaxanthin and Coenzyme Q10 are not synergistic against oxidative damage in cerulein-induced acute pancreatitis. *Journal of Surgery and Medicine*, 2021; 5(3), 307-310.
199. Nishida Y, Yamashita E, Miki W. Quenching activities of common hydrophilic and lipophilic antioxidants against singlet oxygen using chemiluminescence detection system. *Carotenoid Sci*, 2007; 11, 16-20.
200. Budriesi R, Micucci M, Daglia M, Corazza I, Biotti G, Mattioli LB. Chemical Features and Biological Effects of Astaxanthin Extracted from *Haematococcus pluvialis* Flotow: Focus on Gastrointestinal System. In Presented at the 2nd International Electronic Conference on Nutrients 2022; 15:31.
201. Tejero J, Shiva S, Gladwin MT. Sources of Vascular Nitric Oxide and Reactive Oxygen Species and Their Regulation. *Physiol Rev*. 2019; 99(1):311-379.
202. Sen A, Yüksel M, Bulut G, Bitis L, Ercan F, Ozyilmaz-Yay N, Sener G. Therapeutic potential of *Myrtus communis* subsp. *communis* extract against acetic acid-induced colonic inflammation in rats. *Journal of Food Biochemistry*, 2017; 41(1), e12297.
203. Polotow TG, Poppe SC, Vardaris CV, Ganini D, Guariroba M, Mattei R, Hatanaka E, Martins MF, Bondan EF, Barros MP. Redox Status and Neuro Inflammation Indexes in Cerebellum and Motor Cortex of Wistar Rats Supplemented with Natural Sources of Omega-3 Fatty Acids and Astaxanthin: Fish Oil, Krill Oil, and Algal Biomass. *Mar Drugs*. 2015; 13(10):6117-37.
204. Huang L, Wu W, Huang L, Zhong J, Chen L, Wang M, Chen H. Antarctic krill (*Euphausia superba*) oil modulatory effects on ethanol-induced acute injury of the gastric mucosa in rats. *Front Nutr*. 2022; 9:1003627.
205. Savaş N. Approach to Liver Function Test Abnormalities. *The Journal of Turkish Family Physician*, 2014; 1-7.
206. Bayraktar V, Çoşar AM. Karaciğer Enzim Yüksekliklerine Yaklaşım. *Güncel Gastroenteroloji* 2019; 23(1): 41-47.
207. Stylianopoulou L, Bartsokas C, Kalliakmanis V. Gastric ulcer penetration into liver: A case presentation and review of the literature. *Clin Case Rep*. 2020; 9(1):282-285.
208. Jiao J, Zhang L. Liver Involvement by Perforated Peptic Ulcer: A Systematic Review. *J Clin Transl Pathol*. 2021; 1(1):2-8.
209. Batetta B, Griinari M, Carta G, Murru E, Ligresti A, Cordeddu L, Giordano E, Sanna F, Bisogno T, Uda S, Collu M, Bruheim I, Di Marzo V, Banni S. Endocannabinoids may mediate the ability of (n-3) fatty acids to reduce ectopic fat and inflammatory mediators in obese Zucker rats. *J Nutr*. 2009; 139(8):1495-501.
210. Vigerust NF, Bjørndal B, Bohov P, Brattelid T, Svandal A, Berge RK. Krill oil versus fish oil in modulation of inflammation and lipid metabolism in mice transgenic for TNF- α . *Eur J Nutr*. 2013; 52(4):1315-25.
211. Kim MG, Yang I, Lee HS, Lee JY, Kim K. Lipid-modifying effects of krill oil vs fish oil: a network meta-analysis. *Nutr Rev*. 2020; 78(9):699-708.

212. Tillander V, Bjørndal B, Burri L, Bohov P, Skorve J, Berge RK, Alexson SE. Fish oil and krill oil supplementations differentially regulate lipid catabolic and synthetic pathways in mice. *Nutr Metab (Lond)*. 2014; 11:20.
213. Toita R, Kawano T, Fujita S, Murata M, Kang JH. Increased hepatic inflammation in a normal-weight mouse after long-term high-fat diet feeding. *J Toxicol Pathol*. 2018; 31(1):43-47.
214. Sistilli G, Kalendova V, Cajka T, Irodenko I, Bardova K, Oseeva M, Zacek P, Kroupova P, Horakova O, Lackner K, Gastaldelli A, Kuda O, Kopecky J, Rossmeisl M. Krill Oil Supplementation Reduces Exacerbated Hepatic Steatosis Induced by Thermoneutral Housing in Mice with Diet-Induced Obesity. *Nutrients*. 2021; 13(2):437.
215. Hwang SM, Kim YU, Kim JK, Chun YS, Kwon YS, Ku SK, Song CH. Preventive and Therapeutic Effects of Krill Oil on Obesity and Obesity-Induced Metabolic Syndromes in High-Fat Diet-Fed Mice. *Mar Drugs*. 2022; 20(8):483.
216. Rao AR, Sarada R, Shylaja MD, Ravishankar GA. Evaluation of hepatoprotective and antioxidant activity of astaxanthin and astaxanthin esters from microalga-Haematococcus pluvialis. *J Food Sci Technol*. 2015; 52(10):6703-10.

8 EKLER

EK 1. Etik Kurul Onayı



EK 2. Deneyde Kullanılan Krill Yağının İçerik Analizi



CERTIFICATE OF ANALYSIS
 SP_5_608
 Version: 3.0
 06/04/2020
 Superba™ Boost
 Batch no: A101433
 Page 1 of 2

IDENTIFICATION

Product name: Superba™ Boost

Product number: 72031010

Batch number: A101433

Harvesting position: 62°28S 59°41W

Manufacturing date: 24/AUG/2020

Re-test date: 24/AUG/2022

Country of origin: Manufactured at Aker BioMarine Manufacturing LLC in Houston, Texas, US

Environmental: The environmental data for this batch is reported on the document "Environmental Reporting Sheet".

ANALYTICAL SPECIFICATION

PARAMETER	METHOD	ACTUAL VALUE	LIMITS	UNIT
Appearance	Visual	Red viscous oil	Red viscous oil	
Identification	Gas Chromatography (FAME)	Conforms	Conforms	
Viscosity at 35°C	Rotational Viscometer	1884	≤2000	mPaS
TMA+TMAO	Conway	< 2	Report Value	mgN/100 g
Salts	ICP / IC	0.1	≤0.5	g/100 g
LIPID COMPOSITION				
Total phospholipids	31P-NMR	56	≥56	g/100 g
Phosphatidylcholine	31P-NMR	49	≥48	g/100 g
Choline	31P-NMR	7	≥7	g/100 g
FATTY ACID PROFILE				
Total omega-3 fatty acids	Internal method ANA-2014-07	31	≥27	g/100 g
- C 20:5 n-3 (EPA)	Internal method ANA-2014-07	17	≥15	g/100 g
- C 22:5 n-3 (DHA)	Internal method ANA-2014-07	9	≥7	g/100 g
STABILITY INDEX				
Peroxide value	AOCS Cf 8-53	< 1	≤3	mEq peroxide/kg
ANTIOXIDANTS				
Astaxanthin	FOC / USP-NF (UV)	188	≥85	(µg)
Astaxanthin esterification (IE)	Liquid chromatography	Conforms	Conforms	
WATER AND ETHANOL				
Water activity at 25°C	Moisture probe	0.2	≤0.5	
Ethanol content	Gas Chromatography	1	≤3	g/100 g
MICROBIOLOGY				
Total plate count	AOAC 990.12	< 10	<1000	cfu/g
Mould and Yeast	FDA-BAM, 7th ed.	< 10	<100	cfu/g
E. coli	USP-NF, 62	Negative	Negative	in 10 g sample
Coliform	AOAC 991.14	< 10	<10	cfu/g
Salmonella	AOAC-R10201 (PCR)	Negative	Negative	in 25 g sample

1 Phosphatidylcholine value quoted includes Lysophosphatidylcholine

2 Based on USP FCC8 Appendix VI (2015)

3 Three batches tested annually to assure continued compliance

AKER BIOMARINE ANTARCTIC AS
 Ottensøyveien 10, PO Box 496, 1327 Isfjorden, Norway
 Tel: +47 24 13 00 86 Fax: +47 24 13 01 35 www.akerbiomarine.com

EK 3. Deneyde Kullanılan Astaksantin İçerik Analizi



Vitamin Testing

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Eurofins Turkey Analiz Hizmetleri Ltd. Sti.
Kozyatagi Mh. Sitma Pinar Sk. No:2/1 D:1 Kadıkoy
34742 Istanbul
TURKEY
Alt: Results

Received on	17-12-2018	Report code	AR-18-DJ-096482-01
Analysis start	17-12-2018	EOL batch	EOL 10517-577197
Analysis completed	21-12-2018	Batch code	EUDAKG-00260572
Date Printed	21-12-2018	Sample code	487-2018-12170088
Sample description	Capsules		
Sample marking	201806618		
Expanded marking	FOOD ADDITIVE / S-37870 DONE MED ASTAXANTIN 250418 DNM // Ecosur		

Test	Parameter	Result	Unit	U(%)	Est. value
# D002	DSM ver. 1.5 2009 / LC-DAD				
	# Astaxanthine	<2 (LOQ)	mg/kg	16	
	# Cantaxanthin	15.4	mg/kg	16	
# DJCTN	Testing on whole capsules				
	# Testing performed on whole capsule	Yes			

<L.Q. / <LOQ	Below limit of quantification	ND / N.D.	Not detected	<	Less than/below
<L.D. / <LOD	Below limit of detection	x.dupl	x.determination	>	Greater than/above

Not accredited


ASM Palle Gandskov Sørensen

Eurofins Vitamin Testing Denmark A/S

Lærkehøj 85
DK-6600 Vejers
DENMARK

Any query regarding this certificate of analysis shall be addressed to Eurofins/Vitamin Testing Customer Service +45 7022 4235 or e-mail Vitamines@eurofins.dk

The results may not be reproduced except in full, without a written approval of laboratory. The results relate only to sample analysed. U(%): states the expanded uncertainty of measurement (coverage factor k=2). For all tests the Terms and Conditions for the Danish Eurofins companies applies; for full text see www.eurofins.dk

AR-18-DJ-096482-01
REV 2.0

T +45 70 22 42 35
F N/A
www.eurofins.dk
vitamines@eurofins.dk
Val nr. DK8277383

1 / 1

EK 4. Çalışmada Kullanılan Balık Yağının İçerik Analizi

 Shandong Yuwang Pharmaceutical Co., Ltd Address: No.2731 Tongqu Road, Yucheng City, Dezhou, Shandong, China Tel: +86-534-2129056 Fax: +86-534-7420860			
Certificate of Analysis			
Product Name	Refined Fish Oil 40/20TG	Specification	40/20TG
Lot No.	0520236	Shelf Life	2 years subject to storage condition
Manufacture Date	Jul. 18, 2020	Expiry date	Jul. 17, 2022
Storage	(5-26)°C, Humidity <60%	Standard	Inner Standard
Specification			
Fish Oil	40/20		
Item	Standard	Method	Test result
Colour and Lustre	Faint yellow or yellow	Sensory Evaluation	Qualified
Taste and Smell	Light fishy odour, without rancidity taste	Sensory Evaluation	Qualified
Character	Transparent oily liquid	Sensory Evaluation	Qualified
Peroxide Value (meq/kg)	≤5.0	USP<401>	1.1
Acid Value (KOH/(mg/g))	≤3.0	USP<401>	0.34
Anisidine Value	≤20	USP<401>	4
TOTOX	≤26	USP<401>	6.2
EPA (%)	≥40	USP<401>	42.0
DHA (%)	≥20	USP<401>	22.3
Iodine value (g/100g)	≥250	USP<401>	257
Un-saponification Matter	≤1.5	USP<401>	0.47
Refrigeration Test	Keep clear saved at 0°C for 3 hours	USP	Qualified
Heavy Metals			
Lead	≤0.1 mg/kg	USP<251>	<0.1
Arsenic	≤0.1 mg/kg	USP<211>	<0.1
Mercury	≤0.1 mg/kg	USP<261>	<0.1
Microbial Limit			
Total Bacterial Count (CFU/g)	≤1000	USP<2021>	<10
Mold & Yeast (CFU/g)	≤50	USP<2021>	<10
Coliform Group	≤0.43	USP<2022>	<0.03
Salmonella	Negative	USP<2022>	Negative
Notice			
1. It is important that you carefully check the details of the above product formulation against your own label claim. 2. The methods given in the product specification are based on our current knowledge and experience, and may be different			

9 ÖZGEÇMİŞ



