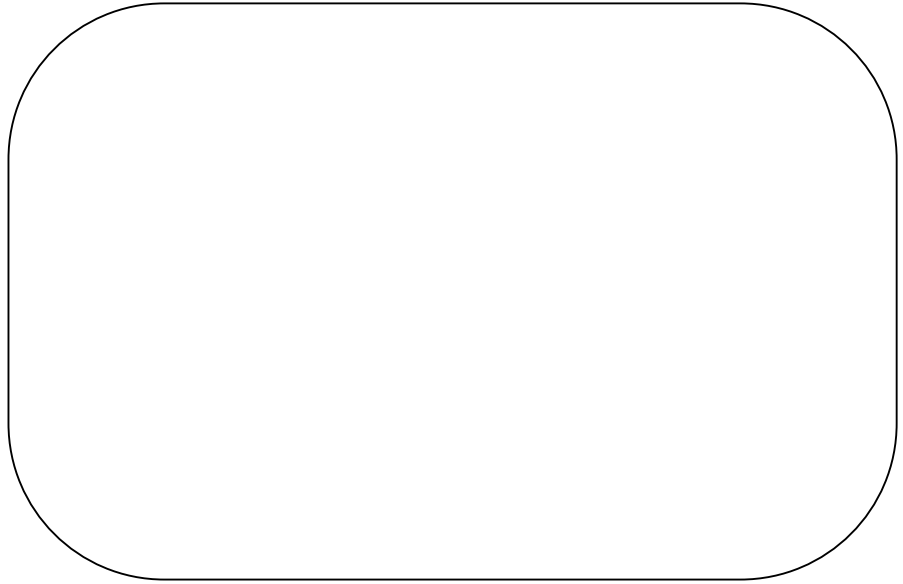




T.C.

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ



**TRİNİTRO BENZEN SULFONİK ASİD İLE KOLİT OLUŞTURULAN
FARELERDE “CAFFEİC ACİD PHENETHYL
ESTER'İN” KORUYUCULUĞU**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ
Arş. Grv. Dr. Zeki ARSLAN**

**DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Mehmet ÇÖLBAY**

**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
AFYONKARAHİSAR-2009**

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**TRİNİTRO BENZEN SULFONİK ASİD İLE KOLİT
OLUŞTURULAN FARELERDE “CAFFEİC ACİD
PHENETHYL ESTER’İN” KORUYUCULUĞU**

TIPTA UZMANLIK TEZİ
ARŞ.GRV.DR. ZEKİ ARSLAN

DANIŞMAN
YRD.DOÇ.DR. MEHMET ÇÖLBAY

AFYONKARAHİSAR-2009

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

Tez Başlığı : Trinitro-Benzen Sulfonik Asid ile kolit oluşturulan farelerde, Caffeic Acid Phenethyl Ester'in koruyuculuğu
Tezi Hazırlayan : Arş. Gör. Dr. Zeki ARSLAN
Tez Savunma Tarihi :
Tez Kabul Tarihi :
Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Mehmet ÇÖLBAY

İş bu çalışma jürimiz tarafından İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN

Doç.Dr. Serap DEMİR

ÜYE

Doç.Dr. Tülay KÖKEN

ÜYE

Yrd.Doç.Dr. Mehmet ÇÖLBAY

ONAY

DEKAN

Prof.Dr. Necat İMİRZALIOĞLU

TEŞEKKÜR

Tez çalıŐmalarım ve uzmanlık eğitimim sűresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, tez danıŐmanım Yrd.Doç.Dr. Mehmet ÇÖLBAY'a ve Anabilim Dalı BaŐkanımız Doç.Dr. Serap DEMİR'e yardımları için teŐekkűr ederim.

Yrd.Doç.Dr. Gűrsel ACARTÖRK baŐta olmak űzere, uzmanlık eđitimim ve tez çalıŐmalarım sűresince katkı ve desteklerini esirgemeyen bűlűmdeki diđer hocalarıma teŐekkűr ederim.

Afyon Kocatepe űniversitesi Tıp Fakűltesi Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Doç.Dr. Tűlay KÖKEN'e, Afyon Kocatepe űniversitesi Tıp Fakűltesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndan Yrd.Doç.Dr. Murat Yađmurca'ya ve Afyon Kocatepe űniversitesi Tıp Fakűltesi Anatomi Anabilim Dalı'ndan Yrd.Doç.Dr. Orhan BAŐ'a destek ve katkılarından dolayı teŐekkűr ederim.

Eđitimim boyunca birlikte çalıŐtıđım, yardımlarını gűrdűđűm asistan arkadaşlarıma ve ayrıca her zaman desteđini gűrdűđűm aileme teŐekkűr ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. EPİDEMİYOLOJİ	3
2.2. ETYOLOJİ ve PATOGENEZ.....	3
2.2.1. GENETİK FAKTÖRLER	4
2.2.2. DEFEKTİF İMMÜN REGÜLASYON.....	4
2.2.3. ÇEVRE FAKTÖRLERİ	6
2.2.4. İNFEKSİYON AJANLARI	6
2.3. ÜLSERATİF KOLİT	7
2.3.1. KLİNİK	8
2.3.1.a. Hafif ve Orta Aktivite (%80-85)	9
2.3.1.b. Ağır aktivite (%15-20)	9
2.3.2. ENDOSKOPİK BULGULAR	9
2.3.3. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR	10
2.3.4. LABORATUVAR BULGULARI	10
2.3.5. RADYOLOJİK BULGULAR.....	10
2.3.6. LOKAL KOMPLİKASYONLAR	11
2.3.7. EKSTRAİNTESTİNAL TUTULUMLAR	12
2.4. CROHN HASTALIĞI	12
2.4.1. KLİNİK	13
2.4.2. ENDOSKOPİK BULGULAR	15
2.4.3. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR.....	15
2.4.4. LABORATUVAR BULGULARI	16
2.4.5. RADYOLOJİK BULGULAR.....	16
2.4.6. KOMPLİKASYONLAR.....	17
2.4.7. EKSTRAİNTESTİNAL TUTULUMLAR	17
2.5. BAKTERİYAL TRANSLOKASYON	17
2.6. SİTOKİNLER	19
2.6.1. TÜMÖR NEKROZİS FAKTÖR ALFA VE İL-1	20
2.7. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ.....	21
2.8. ANTİOKSİDANLAR	21
2.8.1. ENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR	21
2.8.2. NONENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR.....	23
2.9. TEDAVİ	24
2.9.1. AMİNOSALİSİLATLAR	24
2.9.2. KORTİKOSTEROİDLER	25
2.9.3. İMMÜNSÜPRESİFLER	26
2.9.4. SİKLOSPORİN VE METOTREKSAT	26
2.9.5. MİKOFENOLAT MOFETİLİN	26
2.9.6. ANTİBİYOTİKLER	26
2.9.7. YENİ TEDAVİLER.....	27
2.9.8. CERRAHİ TEDAVİ	27
2.10. TRİNİTROBENZEN SULFONİK ASİT KOLİT MODELİ	27

2.11. CAFFEİC ACİD PHENETHYL ESTER	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM	33
3.1. GRUPLAR	33
3.2. SAKRİFİKASYON PROSEDÜRÜ	34
3.3. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME	35
3.4. KOLONUN MİKROSKOPİK DEĞERLENDİRİLMESİ	36
3.5. BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME	36
3.5.1. SERUMDA YAPILAN BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME....	36
3.5.1.a. Plazma MDA Düzeylerinin Ölçümü	37
3.5.2. DOKUDA YAPILAN BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME	38
3.6. İSTATİKSEL ANALİZ	38
4. BULGULAR	39
4.1. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME SONUÇLARI	39
4.2. BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME SONUÇLARI	44
4.2.1.SERUM BİYOKİMYA DEĞERLENDİRME SONUÇLARI	44
4.2.2. DOKU BİYOKİMYA DEĞERLENDİRME SONUÇLARI	46
5. TARTIŞMA	49
6. SONUÇLAR	54
7. ÖZET	55
8. SUMMARY	57
9. KAYNAKLAR	59

KISALTMALAR

5-ASA	: 5-Aminosalisilik asit
CAPE	: Caffeic Acid Phenethyl Ester
CAT	: Katalaz
CH	: Crohn hastalığı
CMV	: Citomegalovirüs
CRP	: C-reaktif protein
GI	: Gastrointestinal
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
GSH-Red	: Glutasyon redüktaz
HO	: Hidroksil radikali
ICAM	: Hücreler Arası Adhezyon Molekülü
IL	: İnterlökin
INF	: İnterferon
İBH	: İnflamatuvar Barsak Hastalığı
LPS	: Lipopolisakkarit
MDA	: Malondialdehit
NO	: Nitrik oksit
NF-kB	: Nükleer Faktör-Kappa B
O₂⁻	: Süperoksit radikal
PAF	: Platelet aktivated faktor
PMNL	: Polimorfo nüveli lökosit
SOD	: Süperoksit dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
TNBS	: Trinitrobenzen sülfonik asit
TNF-α	: Tümör nekrozis faktör alfa
ÜK	: Ülseratif kolit

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. CAPE'in kimyasal formülü

Şekil 2: Kolit grubu; kolon makroskopik görünümü

Şekil 3: Kontrol grubu; normal kolon histolojik görünümü.

Şekil 4: Kolit grubu; yüzey epiteli hasarı, ödem, vasküler konjesyon ve lenfosit infiltrasyonu izlenen kolon kesiti.

Şekil 5: Kolit grubu; lenfosit infiltrasyonu, ödem ve vasküler konjesyon izlenen kolon kesiti.

Şekil 6: CAPE tedavi grubu; TNBS'ye bağlı kolit hasarında CAPE ile belirgin azalma gösteren kolon kesiti.

Şekil 7: ASA tedavi grubu; TNBS'ye bağlı kolit hasarında 5-ASA ile kısmen azalma gösteren kolon kesiti.

Şekil 8: CAPE kontrol grubu; normal görünümde kolon kesiti.

Şekil 9: 5-ASA Kontrol grubu; lamina propriyada apikal yerleşimli ödem izlenen alanları gösteren kesit.

TABLO LİSTESİ

Tablo I: CH'de Harvey-Bradshaw aktivite indeksi

Tablo II: Ülseratif kolit ve Crohn hastalığının farkları

Tablo III: Histopatolojik Hasar Kriterleri

Tablo IV: Ratlarda kolon mikroskopik skora

Tablo V: Eritrositte GSH-Px ve GSH-Red, serumda IL-1, TNF- α ve MDA düzeyleri

Tablo VI: Dokuda GSH-Px, GSH-Red, IL-1, TNF- α ve MDA düzeyleri

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnflamatuvar Barsak Hastalıkları (İBH) sık görülen, gastrointestinal kanalda kronik veya tekrarlayan immün aktivasyon ve inflamasyon ile karakterli hastalıklardır (1,2). Ülseratif kolit (ÜK) ve Crohn hastalığını (CH) içerir. Geniş popülasyonları etkilediklerinden hem etyopatogenez, hem de tedavi araştırmaları her zaman ilgi kaynağı olmuştur. İBH'nin etyolojisinde genetik, çevresel, immünolojik ve infeksiyöz nedenler üzerinde durulmuş ancak genel olarak bu hastalıkların etyolojisinin multifaktoriyel olduğu kanaati değişmemiştir. İBH hastalarında artmış proinflamatuvar sitokin (TNF-alfa, IL-1,vb.) düzeyleri tespit edilmiştir (3,4). ÜK ve CH benzer genetik yatkınlık ve inflamatuvar sürece sahip olmalarına rağmen antijenik uyarıyı başlatan sebeplerin farklı olduğu düşünülmektedir (5). Hayvan modelleri bize başlangıç hasarını oluşturan ve immünregülatör mekanizmayı bozan faktörlerin çeşitlilik gösterdiğini, ancak benzer barsak hasarı oluşturdıklarını bildirmektedir. Bu çalışmalar göstermiştir ki süreci başlatan sebep ne olursa olsun barsak iyileşme yeteneğine sahiptir. Bu hastalıkları kronik hale getiren sebep lümen içindeki toksik madde ile temasın sürekli olması (sıklıkla bakteriyel sebepler) ve kişinin genetik yatkınlığıdır (6).

İBH'nin, fistül ve fissür gelişimi, toksik mega kolon, fulminan kolit, malabsorbsiyon, eritema nodozum, pyoderma gangrenozum, artrit ve episklerit gibi birçok komplikasyonu mevcuttur. Ancak belki de en önemli komplikasyonlarından birisi kolorektal kanser gelişimidir. Günümüzde İBH'nin etyopatogenezinde immün sistemin rol oynamasından yola çıkılarak biyolojik tedavi seçenekleri üzerine çok sayıda araştırma yapılmaktadır. Halen uygulamada olan medikal tedavide en önemli yeri glukokortikoidler ve aminosalisilatlar almaya devam etmektedir (7,8). Azotiopurin ve 6-merkaptopurin, siklosporin ve metotreksat gibi immünmodulator ilaçlar ve infliximab steroide dirençli olgularda kullanılmaktadırlar (9,10). Aminosalisilat grubu ilaçlar, tromboksan ve lipooksijenaz sentezi yollarına etki ederek araşidonik asit oluşumunu engelleyerek anti-inflamatuvar etkinlik gösterirler (11). Aminosalisilat türü ilaçların sistemik ve lokal olarak uygulanabilen türleri ülseratif kolit ve crohn

hastalarında hem remisyonu sağlamak hem de remisyonu idame ettirmek için kullanılmaktadır (7,8).

Caffeic Acid (3,4-dihydroxycinnamic acid) Phenethyl Ester (CAPE) bal arısı propolisin aktif fenolik bileşenlerinden biridir. İlk zamanlarda antioksidan olarak tariflenen bu bileşiğin ayrıca antiviral, antiinflamatuvar ve immünomodülatör özellikleri de vardır (12,13).

CAPE, temel olarak antibakteriyel, antifungal, antiviral, hepatoprotektif, antiinflamatuvar, vücut direncini artırıcı özelliklerinden dolayı Modern herbalist'ler tarafından gastroduodenal ülserlerin tedavisinde önerilmiştir. İnflamatuvar barsak hastalıklarında da bu özellikleri ön planda tutularak koruyucu mekanizmaları harekete geçirmek amacıyla tercih edilebileceği düşünülmektedir.

İnflamatuvar barsak hastalıklarının hem remisyonu sağlamada, hem de remisyonun idamesinde temel ilacı antiinflamatuvar etkili aminoasitlerdir. Trinitro-benzen sulfonik asit (TNBS) ile kolit oluşturulan farelerde, etkinliği kanıtlanmış olan 5-ASA gibi CAPE'nin kolit tedavisinde kullanılabileceği düşüncesiyle bu çalışma planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

İNFLAMATUVAR BARSAK HASTALIKLARI

İBH, intestinal inflamasyon ve mukozal doku hasarıyla başlayan, intestinal ve ekstraintestinal belirtilere sebep olan, bozulmuş immün cevapla ilerleyen, sık görülen kronik bir gastrointestinal sistem hastalığıdır. İBH başlığı altında birbiriyle ilişkili ancak iki farklı hastalık olarak tanımlanan ÜK ve CH yer almaktadır. ÜK, rektumdan itibaren proksimale doğru değişik uzunluklarda ama arada sağlam kısım bırakmaksızın kolon mukozasını tutan remisyon ve alevlenmelerle seyreden bir kronik inflamatuvar barsak hastalığıdır. Crohn hastalığı ise ağızdan anüse kadar tüm sindirim kanalını segmenter tarzda ve transmural olarak tutar, yine remisyon ve alevlenmelerle seyreder. Her ikisinde aslında sindirim kanalına özgü hastalıklar değil, birçok barsak dışı tutulumları ile sistemik hastalıklardır (14).

2.1. EPİDEMİYOLOJİ

Ülseratif kolit ve CH'ye rastlanma sıklığı coğrafik bölgelere göre büyük farklılıklar gösterir. Kuzey Avrupa ülkelerinde, ırk olarak Kafkas ırkında ve etnik köken olarak yahudilerde daha fazla görülmektedir (15). Her iki hastalık da her yaşta görülebilir, ancak en sık olarak 2.-3. dekada başlar, 55-65 yaşlarında da ikinci kez pik yapar, hafif bir kadın hakimiyeti söz konusudur. ÜK olgularının %5'inde ailevi bir predispozisyon bulunur. Hastalığın prevalansı tüm popülasyonda 20-130/100000 iken insidansı 1.3-15.1/100000/yıl'dır. CH Beyazlarda daha sık görülür. Hastalığın prevalansı tüm popülasyonda 10-70/100000 iken insidansı 0.5-6.3/100000/yıl'dır (16).

2.2. ETYOLOJİ ve PATOGENEZ

İnflamatuvar Barsak Hastalığı, genetik yatkınlık, çevresel faktörler, infeksiyöz ajanlar, değişmiş epitelyal geçirgenlik ve bozulmuş konakçı immün cevabı gibi faktörlerin önemli rol oynadığı bir hastalık grubudur. Her iki

hastalığın etyoloji ve patogenezi henüz açıklık kazanmamıştır. Çeşitli faktörler suçlanmaktadır.

2.2.1. GENETİK FAKTÖRLER

Batı Avrupa, Kuzey Amerika, Yahudi, Japon topluluklarında ve beyaz ırkta sık görülmektedir (17). Bazı genler de genetik yatkınlığın saklandığı ve çevresel faktörlerin bunları modüle ettiği ileri sürülmektedir. HLA DR-2, DR-B1-0103, DR-12 bu gruplardan sayılabilir. ÜK'li hastalarda HLA DR-B1*1502 aleli ile pozitif bir ilişki, DR B1*13 aleli ile negatif bir ilişki saptanmıştır. Ayrıca pANCA'sı pozitif hastalarda HLA DRB1*0701, pANCA negatif hastalarda HLA DRB1*1502 daha sık görülür (18). HLA sistemi yanısıra proinflamatuvar ve reglatuvar sitokinleri kodlayan genlerdeki polimorfizmin de etkili olabileceği yönünde araştırmalar mevcuttur. Hastaların yaklaşık %15'inde birinci derece akrabalarında inflamatuvar barsak hastalığı vardır (19). İnsidans monozigot ikizlerde artmıştır. Hastalığa yatkınlığı belirleyen ve hastalık spesifitesini etkileyen genler hastalığın yaygınlığı ve şiddeti ile medikal tedaviye cevabı gibi klinik fenotipi belirleyen genlerden farklı görünmektedir. Kromozom 12 (IBD2), 6 (IBD3) ve 14'ü (IBD4) içeren diğer kromozomlarda genel kabul gören ek lokuslar haritalanmıştır (20).

2.2.2. DEFEKTİF İMMÜN REGÜLASYON

İnflamatuvar Barsak Hastalığındaki defektlerden biri ve belki de en önemlisi barsak epitelyum geçirgenliğinin artması ve normalde bu bariyeri geçemeyen besin antijenleri, bakteriyel toksinler ve mikroorganizmalar ile nonspesifik intestinal inflamasyonun tetiklenmesidir. Barsak epitelinin iltihabi olayı başlatmadaki rolü, bir taraftan antijen sunan hücreler olarak majör histokompatibilite kompleksi aracılığıyla T hücrelerine antijeni sunmak, diğer taraftan da antijenler aracılığıyla uyarılan sitokin, kemokin ve diğer proinflamatuvar maddelerin meydana getirdiği inflamasyonu dalga dalga yaymaktır. Musin yapısındaki değişiklikler de bu olaya katkıda bulunur (21).

Her iki hastalıkta da CD4+ T hücreleri mukozada, bunların sekrete ettikleri sitokinler de hem mukozada hem de periferik kanda artmıştır. CD4+ T hücreleri özgül immün yanıtın kritik yönlerini düzenlerler. CD4+ T hücreleri fonksiyonları ve özgül sitokinleri işleme yeteneklerine göre Th1 veya Th2 olarak sınıflandırılmışlardır. Th1 hücreleri hücre aracılı immün cevabı düzenler ve IL-2, IL-12 ve INF- γ salgılama yetenekleri ile karakterizedirler. Aksine Th2 hücreleri salgısal cevaplara aracılık ederler ve IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 ve IL-13 salgırlar. Bu alt gruplar anahtar sitokinler arasında karşılıklı olarak bir diğeri düzenlerler. INF- γ Th1 hücreleri tarafından üretilir ve Th2'nin gelişmesini baskılar halbu ki IL-4, IL-10 ve IL-13 Th2 hücreleri tarafından salgılanırlar ve Th1 cevaplarını inhibe ederler (22).

Ülseratif Kolit'te sitokin yapıları tam olarak açıklanamazken, CH Th1 sitokinlerle ilişkilidir; ÜK'de Th1/Th2 oranı tam olarak uymaz ancak en azından oturmuş hastalıkta sitokin salgılanması Th2 cevabına daha çok benzer (22). Böylece CD4+ T hücreleri immün cevabın şekillenmesinde açıkça önemli bir rol oynarlar ve Th1 cevapların inhibisyonu İBH'nin, özellikle de Th1 etkilerinin kanıtlarının en güçlü olduğu CH'nin tedavisinde önemli bir hedef oluşturur. Hatta günümüzde inflamasyona yol açan esas anormalliğin kommensal bakterilere karşı mukozal aşırı cevaplılığa neden olan abartılı T hücre cevabının olduğu bilinmektedir (23). CH ve ÜK'li hastalardaki endojen florayla periferik kan ve kolonik lamina propria CD4+ T hücrelerinin çapraz reaksiyonu, bu hastalıkların patogeneğinde konak florasına karşı anormal T hücre özgül immün cevaplarının önemli olduğunu destekler (24).

Sağlıklı mukozada inflamatuvar cevap oluşmasında efektör ve regülatör T hücre alt toplulukları önemli görev üstlenir. Effektör T hücreleri intestinal enflamasyona neden olma yeteneğine sahiptir ve regülatör T hücreleri inflamasyonu kontrol edebilir veya önleyebilir. Regülatör T hücrelerinin in vivo immün baskılayıcı aktivitesi IL-10 ve Tümör Büyüme Faktörü β üretimini gerektirir ve T hücre aktivasyonunun negatif bir düzenleyicisi olan sitotoksik T lenfosit ilişkili antijen-4 (CTLA-4) aracılığıyla sinyallenmeye bağlıdır.

Patojenlerle uğraşan aktif T hücrelerindeki apoptozun hızlanması immün cevabın sonlanmasına neden olur (25). CH'lilerde mukozal T hücreleri apoptoza dirençlidir, ki bu T hücrelerinin yığılmasına ve inflamatuvar cevabın devam etmesine neden olur. Bu direncin, IL-6'nın yüksek mukozal konsantrasyonlarıyla T hücrelerinin sinyallenmesine bağlı olduğu ileri sürülmüştür (26).

2.2.3. ÇEVRE FAKTÖRLERİ

İBH'nin patogenezinde en az anlaşılan çevresel faktörlerin rolüdür. Bu rolün önemi geçen 50 yıl içinde az gelişmiş ülkelerde ilerleyen endüstrileşme ile hastalığın artması ve gelişmiş dünyada CH'nin sıklığındaki göze çarpan artışla desteklenmiştir. Gelişmiş hijyen, steril ve nonfermante gıdaların tüketimi, aşılama ve intestinal patojenlere ilk maruz kalma yaşını içeren değişen çevresel elemanlar mukozal immün sistemin, barsak mikroflorasının veya her ikisinin gelişmesini etkileyebilir (27).

Sigaranın, ÜK'ye karşı koruyucu, CH'de ise uyarıcı ve alevlendirici etkisi bulunmaktadır. Apendektominin, ÜK'ye karşı koruyucu etkisi olduğu ileri sürülmüştür. Diyetle bulunan karbonhidrat, nişasta ve rafine sebze kullanımı, aşırı yağ alımı, meyve ve sebze lifli gıda alımı, fast food tipi beslenme, kahve, alkol, tahıl, hububat, anne sütünün etiyolojideki rolüne ait çelişkili yayınlar mevcuttur. Yüksek sosyoekonomik düzey ve hijyeni olan kişilerde ÜK insidansının arttığı görülmüştür. Nonsteroid antiinflamatuvar ilaç kullanımı, ÜK'yi ağırlaştırmakta ve inaktif ülseratif proktokoliti presipite ederek tekrarlamasına neden olmaktadır. ÜK'nin ilkbahar ve sonbaharda, CH'nin ise kış ve sonbaharda nüks ettiği bilinmektedir. Hastaların psikolojik durumu ve stresle hastalığın alevlenmesi daha fazladır.

2.2.4. İNFEKSİYON AJANLARI

Mikrobiyal ajanlar İBH patogenezi ile sıkı ilişkili görünmektedir. Geçtiğimiz 40 yıl boyunca organizmalar üzerinde yoğun araştırmalar yapılmasına

rağmen tek bir spesifik enfeksiyonun İBH'nin patogeneğinde tehlikeli olduğu açıkça gösterilememiştir. Son birkaç yılda *M. paratuberculosis*, Measles virüs ve *L. monocytogenes* suçlanmıştır (28). Normal intestinal flora unsurlarının İBH'yi tetikleyebileceği, başlatabileceği veya katkıda bulunabileceği olasılığı üzerinde durulmuştur. Normal floranın, fizyolojik inflamasyonun, bir modülatörü gibi çalıştığı hipotezi, İBH'li hastaların otolog intestinal bakterilere maruz kaldıkları zaman mukozal mononükleer hücrelerin çoğaldığını gösteren Duchmann ve ark.nın gözlemleriyle önemli biçimde kuvvetlendirilmiştir (24). Hemen hemen tüm ÜK'li hastalarda bakteri, virüs ya da mantarlara karşı sınırlı miktarda antikorlara rastlanmaktadır. Yapılan çalışmalarda İBH'nin şiddeti arttıkça mukozal bakteri konsantrasyonunun da yükseldiği bildirilmiştir (29). CH alevlenme döneminde sıklıkla *Yersinia enterocolitica* ve *Myobacterium tuberculosis* suşları identifiye edilebilmektedir. Benzer şekilde *Campylobacter*, *Shigella*, Amip ya da Cytomegalovirüs (CMV) enfeksiyonları ÜK ile benzerlik gösterebilmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda aktif İBH'li hastalarda, anaerob bakteriler ve *Lactobacillus* sayısında belirgin bir düşüş bulunmuş ve hastaların kolon epitelinde yüzeye yapışan, intraselüler bakterilerin sayısında artış olduğu gösterilmiştir (30). ÜK'li hastaların kolon mukoza hücrelerinin nükleus içi ve stoplazmik kompartmanlarında Epstein-Barr ve Herpes virüsüne ait inklüzyon cisimcikleri % 75 oranında izole edilebilmiştir. CMV'nin neden olduğu anti CMV antikorları bu hastalarda sıklıkla yüksek bulunmuştur (31).

2.3. ÜLSERATİF KOLİT

Ülseratif Kolit, genellikle rektumdan başlayan ve kolonun diğer segmentlerine yayılan, sebebi bilinmeyen inflamatuvar bir hastalıktır. 1859 yılında *Samuel Wilks* tarafından tanımlanmıştır. ÜK, mukozal ÜK ve idiyopatik ÜK olarak da adlandırılır.

Kolon mukozasının ve submukozasının yüzeyel bölümünde inflamasyon vardır. Daha derin kısımlar fulminan hastalık dışında tutulmaz. Hastalık % 95 olguda rektumdan başlar, proksimale doğru yayılır. Lezyonun başladığı ve bittiği yer arasında sağlam alan bulunmaz (32).

Ülseratif kolitte hedef organ kolondur. Sadece rektum tutulursa ülseratif proktit veya hemorajik proktit diye de isimlendirilir. Sadece rektum ve sigmoid kolon tutulursa distal tutulumlu ÜK denir. Splenik fleksuraya kadar olan bölge (rektum+sigmoid+inen kolon) tutulursa sol kolon tutulumlu, transvers kolon da tutulursa (rektum+sigmoid+ inen+transvers) yaygın tutulumlu ÜK, çekuma kadar olan tüm kolon tutulursa pankolit, denir. Vakaların %40-50'sinde distal, %40'ında sol kolon tutulumu ve %20'sinde pankolit görülür. Sağ kolon tutulumu olanların %4.8'inde terminal ileum da inflamasyon görülebilir ve hastalığa katılır ki buna 'back wash ileitis' denir (14).

2.3.1. KLİNİK

Barsak alışkanlıklarında değişiklikler ve intestinal enflamasyon bulguları ile karakterizedir. Ülseratif kolitin tipik semptomu günde 15-20 defaya kadar olabilen ve karın ağrısı ile birlikte giden kanlı, mukuslu ve püylü ishaldir ve hastaların %90-95'inde görülür (32).

Anal bölgenin tutulmasıyla inkontinans ve tenezm belirir. Ülseratif kolit sadece rektumu tutmuş ise kan dışkının sadece yüzeyindedir, ancak inflamasyon daha proksimale yayılmışsa dışkıyla karışık kanama olacaktır. Postprandiyal diyare sıktır. Daha ileri devrelerde kolon haustrasyonu kaybolup, boyu kısaldıkça kramp tarzındaki karın ağrıları kaybolur. Enflamasyonun şiddetlenmesine bağlı olarak karın ağrısı, ateş, halsizlik ve kilo kaybı meydana gelebilir. Bazen özellikle sadece rektum tutulumlu yaşlı hastalarda, rektal spazmdan dolayı kabızlık görülebilir (33).

Fizik muayenede, kilo kaybı, anemi bulguları, hastalıklı kolon bölgesinde hassasiyet, ateş, toksik Megakolon geliştiğinde toksemi bulguları, epigastrik kleopotaj, kronik seyirli hastalarda, anal fissür, anal fistül veya perianal apse, rektal muayenede kanlı mukuslu gayta ve ağrı tesbit edilebilir. Hastalığın şiddeti tutulan bölümün uzunluğuna ve inflamasyonun ağırlığına bağlı olarak hafif, orta ve ağır diye değerlendirilir.

2.3.1.a. Hafif ve Orta Aktivite (%80-85)

Rektum tutulumunda hastalık hafif şiddettedir. Dışkı normal kıvamda veya günde bir veya iki kez şekilsiz olabilir, kan ve mukus içerir. Bu hastalarda konstipasyon bile gözlenebilir. Tenezm belirgin, karın ağrısı nadirdir. Sadece rektum tutulumlarında hastalık genellikle daha proksimale ilerlemez. Rektosigmoid ve sol kolon tutulumlarında hastalığın şiddeti, inflamasyonun yaygınlığı ve şiddetine bağlı olarak değişir, hafif veya orta ağırlıkta olur.

2.3.1.b. Ağır aktivite (%15-20)

Bu grupta genellikle tüm kolon tutulmuştur. Kanlı mukuslu diyare, şiddetli karın ağrısı (kramp tarzında), ateş, kilo kaybı, halsizlik, bulantı, kusma, dehidratasyon, taşikardi bulunur. Bu hastalarda toksik dilatasyon (toksik megakolon) ve perforasyon riski vardır (33).

2.3.2. ENDOSKOPIK BULGULAR

Rektum hemen daima tutulmuş olduğu için rektosigmoidoskopi ve biyopsi tanıyı sağlar. Kolonoskopik inceleme hastalığın sınırlarını belirler ama ağır olgularda perforasyon riski vardır. Endoskopik bulgular hastalığın şiddetine göre değişmektedir. Hafif şiddetli vakalarda, ödem nedeni ile mukozal damarlanmanın silinmesi, hiperemi, ince yüzeysel granülasyon dokusu, dokununca kanama, toplu iğne başı büyüklüğünde kanama odakları, eksüstasyonda artma vardır. Orta ve ağır şiddetli vakalarda, daha kaba granülarite, artmış iltihabi eksüstasyon, yaygın kanama, daha geniş ülserasyonlar, bazen soyulmuş mukoza görülür. Uzun süren hastalıkta, epitelyal rejenerasyon sonucu rektum lümeninde daralma ve düz bir boru gibi görünüm alınabilir. Gelişen inflamatuvar poliplere psödopolip adı verilir ve yüzey epitel hücrelerinde displazi gelişebilir (34).

Ataklar arasındaki iyileşme dönemlerinde mukoza donuk bir renk alır. Kolonoskopi yapıldığında, hastalıklı bölgelerin arasında sağlam barsak bölgeleri görülmez. Remisyondaki vakalarda, normal veya atrofik görünüm vardır (34).

2.3.3. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Mukozada vasküler konjesyon ve ödem, yüzey mukoza hücreleri, kript epiteli ve lamina propriyada inflamasyon hücrelerinin (lenfosit, plazmosit, polimorfonükleer hücre ve eozinofil) infiltrasyonu vardır. Epitel hasarı ve yüzey epitel hücrelerinin kaybı ülserasyonları yapar. Kriptlerde epitel ve goblet hücre kaybı, kript distorsiyonu ve dallanması (rejenerasyon) ve kript abseleri (nötrofillerin kriptlere toplanması) görülür. Uzun süre devam eden ve ağır seyreden olgularda, kolonda psödopolipler gelişir. İnflamatuvar polipde denilen bu yapılar rejenere olmuş hücrelerden oluşurlar, adenomatöz polip değıllerdir ve maling dejenerasyon potansiyelleri yoktur. Hastalık mukoza ve submukozada sınırlı kalmaktadır. İnflamasyonun tekrarlaması sonucu hafif submukozal fibroz gelişebilir (35).

2.3.4. LABORATUVAR BULGULARI

Demir, B12 ve folik asit eksikliğine bağılı anemi, ağır olgularda lökositoz, sola kayma ve trombositoz bulunur. Akut faz reaktanlarından eritrosit sedimentasyon hızı ağır olgularda yükselir. C-reaktif protein (CRP) seviyeleri artar. Protein kaybettiren bir hastalık olduğı için pankolitte albumin seviyesi düşer. Ağır olgularda hipokalemi gelişir. Sklerozan kolanjit gelişmiş ise, ALP, GGT ve bilirubinlerde artış olur (33). Perinükleer antinötrofil sitoplazmik antikor ÜK'de, ASCA ise CH'li hastalarda daha yüksek oranlarda pozitif bulunmaktadır (36). Gaita mikroskopisinde bol miktarda eritrosit ve lökosit vardır. Kalsiyum malabsorbsiyonu ve D vitamini yetmezliğine bağılı hipokalsemi görülebilir. Tedavide kullanılan sülfasalazin folat emilimini engellediğinden folik asid yetmezliği oluşabilir (35).

2.3.5. RADYOLOJİK BULGULAR

Direk grafi hastalığın iki önemli komplikasyonu olan toksik megakolon ve perforasyon tanısında yardımcı olur. Toksik megakolonda kolon çapı 6 cm'den

fazla ölçülür, ayakta çekilen grafide diyafragma altında serbest hava bulunması perforasyonu gösterir (36).

Baryum lavmanı ile çekilen grafilerde erken bulgu olarak kolon cidarının tam olarak belirginleşmemesi; ödem, artmış sekresyon, granülarite sonucudur. Cidarın düzensiz olması yüzeysel erozyonlar, küçük ülserasyonlar ve psödopoliplere bağlıdır, psödopolipler sayısız lümen içi dolum defektleri şeklinde gözlenirler. Tekrarlayan inflamasyonlar sonucu gelişen fibroz, longitudinal retraksiyon, haustra kaybına ve kurşun boru görünümüne neden olur. Bazen fibroza bağlı konsantrik darlıklar gözlenebilir. Ağır olgularda hazırlık ve işlemin kendisine bağlı olarak toksik megakolon ve perforasyon gelişebileceği unutulmamalıdır (37).

2.3.6. LOKAL KOMPLİKASYONLAR

Crohn Hastalığına göre daha az sıklıkla olmakla birlikte, ÜK'de de anorektal komplikasyonlar olabilir. Bunlar; anal fissür, anorektal apse ve fistüllerdir. Sfinkter mekanizmasının bozulmasıyla olabilen anal inkontinans gelişebilir (35).

Kolon perforasyonları, özellikle fulminan tipin seyri sırasında ortaya çıkar. Hastalıklı barsağın uzunluğu, atağın şiddetine göre değişmekle birlikte, %3-5 vakada perforasyon görülebilir. Daha çok sigmoid kolon ve sol fleksurada olur. Eğer hasta kortikosteroid alıyorsa peritonitin fizik muayene bulguları olmayabilir. Mortalite %15'dir (35).

Toksik megakolon, akut fulminan kolitlerin yaklaşık %9 kadarında görülür. Hastaların %90'ında acil cerrahi girişim gerektirir. Fatal seyredebilir. Diyare nedeniyle olan hipopotasemi, tedavi amacıyla kullanılan antikolinergikler ve sedatiflerin etkisi ile, ülser zemininde enflamasyonlu kas tabakasının kontraksiyon gücünü kaybetmesi sonrası barsak segmenti genişler. Karında distansiyon ve ağrı vardır. Hasta toksemi tablosuna girebilir. Masif kanama, hastalığın her döneminde

olabilir bilhassa akut ataklar sırasında transfüzyon gerektirecek kadar fazla olabilir (38).

Darlık gelişimi, kronik seyirli tipde görülür. Darlık özellikle rektumda olur. Enfeksiyon sonucunda olan nedbe dokusundan dolayı oluştuğu düşünülmektedir. Yaklaşık %10 vakada görülür. Tam veya kısmi tıkanıklık olabilir (38).

Malign değişim, ilk 10 yılda %3-5, ikinci 10 yılda %20 sıklıkta olabilir. Malign değişim sıklığı, hastalığın başlama yaşı, süresi, mukozanın tutulum genişliği, pseudopoliplerin varlığı ile doğru orantılı olarak artar. İnflamasyonun şiddeti ile ilgisi yoktur. Malign değişim kolonda birkaç yerden başlayabilir. Prognoz diğer kolon kanserlerine göre daha kötüdür. Displazi saptandığında kolektomi yapılmalıdır (38).

2.3.7. EKSTRAİNTESTİNAL TUTULUMLAR

Kas-iskelet Sisteminde; Ankilozan spondilit, Sakroiliitis, Periferik Artiritis, Pelvik Osteomyelitis, deri ve ağızda; Eritema nodozum, Pyoderma Gangrenozum, Kutanöz Vaskülit, Aftöz Stomatit, Eritema Multiforme, Dermatit, gözde; Üveitis (İritis), Episcleritis, kan ve vasküler sistemde; Anemi (Demir Eksikliği, Vit B 12 veya Folat eksikliği, Hemolitik), Trombositoz, Lökositoz, Hiperkoagülabilité, böbrek ve genitoüriner sistemde; Nefrolitiazis, Obstruktif Üropati, Genitoüriner traktusa fistüller, karaciğerde; Yağlı dejenerasyon, Siroz, Sklerozan kolanjit ve diğer sistem ve dokularda; Bronkopulmoner vaskülit, Plöroperikardit görülür (39-43).

2.4. CROHN HASTALIĞI

Crohn Hastalığı tüm gastrointestinal kanal tutabilir ama en sık tutulum yeri terminal ileum ve kolonun proksimal kısmıdır. Olguların yaklaşık %50'sinde ileokolonik tutulum, %40'ında sadece ileal tutulum ve %10'unda kolonik tutulum vardır. Tutulum yerindeki bu çeşitliliklerin yanı sıra, tuttuğu yerdeki patolojik

durumlara göre CH'de farklı klinik tablolar oluşmaktadır. CH'de lezyonlar segmenterdir. Hasta segmentler arasında sağlam alanlar bulunabilir (skip areas). İnflamasyon tüm barsak katlarında bulunur (44).

2.4.1. KLİNİK

Crohn hastalığındaki semptom ve bulguları tutulum yeri, hastalığın şiddeti, yaygınlık derecesi ve tutulan organ belirler. En sık tutulum yeri ileumdur ve tipik olarak sağ alt kadran ağrısı, kitle ve diyare ile karakterizedir. Fizik muayenede sağ alt kadran veya suprapubik bölgede hassasiyet tespit edilir. Hastalarda barsak lümeninde daralmaya bağlı olarak ani başlayan, kolik tarzda karın ağrıları, bulantı, kusma olabilir. Ağrı yemekten sonra veya defekasyondan önce ortaya çıkar ve defekasyonla rahatlama olur. Barsakta inflamatuvar aktiviteye bağlı olarak ishal, kilo kaybı, ateş olabilir. Kolon tutulumlu CH'de ishal ön plandadır. İshal, Crohn'lu hastaların %70-90'ında görülür. Rektum tutulumu varsa sık sık, az miktarda, tenezmle birlikte olan kanlı mukuslu ishal görülür. Buna karşın diğer formlarında steatoreli veya steatoresiz sulu ishal vardır. Kanlı dışkılama ülseratif kolite göre daha nadirdir. Rektum nadiren tutulur. Bazı hastalarda gastrokolik, ileokolik, kolokolik internal fistüller gelişebilir, bunlarda ciddi ishal, ağır malabsorbsiyon tabloları vardır (33,44).

Üst GİS tutulumlu CH'de tablo çok belirgin değildir. Özefagus tutulumunda disfaji, yanma olabilir.

Crohn hastalığında, inflamatuvar, stenoza, fistülizan klinik tip ayrımı yapılır. İnflamatuvar formda ishal, karın ağrısı ve ateş ön plandaki bulgulardır. Stenoza formda ise intestinal obstrüksiyon bulguları tabloya hakimdir ve bunlar genellikle tekrarlayıcıdır. İntestinal obstrüksiyonun sebebi inflamasyondan ileri gelen ödem ve spazm olabileceği gibi, tekrarlayan alevlenmelerle gerçek fibrozisin gelişmesine bağlı striktür de olabilir (14).

Crohn hastalığının transmural inflamasyonunda, mukozadan serozaya kadar uzanan bir ucu lümeninde ve açık, bir ucu serozada veya serozanın dışında ancak kapalı ince küçük yollar meydana gelebilir. Fistülizan-penetrant formda bu ince

yolların kapalı tarafındaki inflamasyon, temas ettiği her yere yayılabilir. Transmural inflamasyon fistül veya kapalı perforasyonlara yol açar, serozadaki inflamatuvar yapışıklıkların adeta yapışkan bir örtü vazifesi görmesinden dolayı serbest perforasyona vakaların ancak % 1-2'sinde rastlanır (14).

Tablo I: CH'de Harvey-Bradshaw aktivite indeksi

Genel durum	Çok iyi	0
	Orta	1
	Kötü	2
	Çok kötü	3
	Ağır	4
Karın ağrısı	Yok	0
	Hafif	1
	Orta	2
	Çok	3
İshal sayısı	Her seferi	1 puan
Karında kitle	Yok	0
	Şüpheli	1
	Var	2
	Var ve ağrılı	3
Komplikasyonlar	Her biri	1 puan

İndeks>5 ise hastalık aktif, <5 ise remisyonda kabul edilir.

Crohn Hastalığının klinik aktivitesini belirlemek için “Crohn Disease Activity Index-CDAI” ve “Harvey-Bradshaw” aktivite indeksleri oluşturulmuştur. CDAI sisteminde hastaların ishali, karın ağrısı, genel durumu, ekstra intestinal tutulumları, antidiyareik kullanımı, abdominal kitle varlığı, anemi, kilo kaybı gibi özellikleri hafiften ağıra doğru puanlanarak indeks hesaplanır. Harvey-Bradshaw aktivite indeksi daha pratiktir, CH'de klinik aktiviteyi belirlemede daha sık kullanılır (Tablo1). Klinik aktivite kriterleri hastalığın tedavi yaklaşımının belirlenmesi ve uygulanan tedaviye cevabı değerlendirmede kullanılır (33,44).

Ülseratif kolit ve CH'nin birçok ortak özellikleri yanısıra farklı yanları da vardır. Tablo 2'de bu farklar görülmektedir.

Tablo II: Ülseratif kolit ve crohn hastalığının farkları

	Ülseratif kolit	Crohn
Diyare	++	++
Rektal kanama	++	+
Karın ağrısı	+	++
Palpable kitle	yok	+
Fistül	+/-	++
Striktür	+	++
Rektal tutulum	++	+
Ekstraintestinal Manifestasyon	(%95)	(%50)
Toksik megakolon	+++	++
Operasyondan sonra tekrar	yok	+
Malignite	++	+

2.4.2. ENDOSKOPIK BULGULAR

Kolonoskopik incelemedeki bulgular CH'nin aktivitesi ve süresine göre farklı olabilir. Erken dönemde aftöz ülserler ve çevresinde mukozal ödem nedeni ile hafif engebeli görünüm saptanabilir. Orta derecede aktif olgularda aftöz ülserler sayıca ve çapça artmış olup, ayrıca yıldız şeklini alabilirler. Hastalık ilerledikçe submukozal ödem belirginleşir, ülserlerle birlikte kaldırım taşı görünümü ortaya çıkar. Bazı olgularda daha derin ülserlere rastlanır. Kronik ve ağır aktiviteli olgularda terminal ileum ağzında ve terminal ileumda deformasyon, daralmalar, kolonda darlıklar görülür (34).

2.4.3. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Makroskopik olarak, başlangıçta mukoza hiperemiktir, küçük aftöz ülserler vardır. Mezenter ve mezenterik lenf bezleri şiş ve hiperemiktir. Hastalık

ilerledikçe submukozal ödem belirginleşir, ülserlerle birlikte kaldırım taşı görünümü ortaya çıkar. Bazı olgularda daha derin ülserlere rastlanır. Kronik ve ağır aktiviteli olgularda terminal ileum ağzında ve terminal ileumda deformasyon, daralmalar, kolonda darlıklar görülür (35).

Mikroskopik olarak, intestinal mukozanın herhangi bir yerinde inflamasyon görülür. Yüzeysel inflamasyonun lenfoid dokuya yakınlığı CH için karakteristiktir ve bu kısımda aftoid ülserler de görülür. Goblet hücrelerinde mün birikimi vardır. İnflamasyonun dağılımı multifokal olup, yoğunluğu odaktan odağa değişebilir. Lenfosit, plazma hücreleri, histiosit, polimorf nükleer lökositler ve eozinofiller tüm barsak katlarını infiltre etmişlerdir ve mezenterik lenf bezleri de tutulmuştur. Olguların %50'sinde, sınırları belirli, kazeifikasyon nekrozu olmayan, multinukleuslu dev hücreleri içeren granülomalar bulunur ve granülomalar hastalık için karakteristik bulgudur (35).

2.4.4. LABORATUVAR BULGULARI

Demir, folik asid ve B12 vitamin eksikliği görülebilir. Diyetle sütün kısıtlanması ve vitamin D yetmezliği sonucu Ca eksikliği, Mg, Zn, vitamin A, D, K eksiklikleri görülebilir. Akut faz reaktanlarında yükselme olur. Ağır diyarede elektrolit bozuklukları gelişebilir (45).

2.4.5. RADYOLOJİK BULGULAR

Radyolojik incelemeler ince barsak pasaj, Bilgisayarlı tomografi (BT), manyetik rezonans incelemesi ile yapılır. Radyolojik incelemeler CH'nin tanısında önemli bir yere sahiptir. İnce barsak pasaj grafisi hastalığın en çok tutulduğu yer olan terminal ileumun klasik "ip belirtisi- string-sing" adı verilen daralmış durumu saptanır. Kolonun radyolojik incelemesinde, hastalığın derecesine bağlı olarak mukozada düzensizlik, ödem, aftöz ya da derin ülserlerin varlığı, kaldırım taşı görünümü, lümende daralma, striktür, dikensi çıkıntılar şeklinde fistül başlangıçları ya da fistüller görülebilir. BT ile batın içi

inflamasyon, kitle, abse bulgularının ayrımını yapmak mümkündür. Özellikle fistüllü olgularda manyetik rezonans incelemesi ile perianal bölgedeki fistülleri net olarak göstermek mümkündür (36).

2.4.6. KOMPLİKASYONLAR

Darlıklara bağlı obstrüksiyon %20-30 olguda gelişir. Enteroenterik, enterovezikal, enteromezenterik, enterokütanöz, rektovajinal, perianal fistüller ve lokal abse gelişir. Kolon tutulumunda toksik megakolon gelişmesi nadirdir. Masif kanama sık görülmez. Kanser ÜK'de olduğu gibi uzun süreli hastalıkta gözlenir ve ÜK'ye yakın sıklıktadır (35).

2.4.7. EKSTRAİNTESTİNAL TUTULUMLAR

CH'de %25 oranında ekstra intestinal bulgular mevcuttur. Çomak parmak, oral aftlar, eritema nodozum, piyoderma gangrenozum, üveit, episklerit görülebilir. Diz, el ve ayak bileklerinde, metakarpofalangial ve interfalangial eklemlerde seronegatif artrit, ankilozan spondilit, sakroileit görülebilir. Hepatobilyer sistemle ilgili olarak safra taşları, primer sklerozan kolanjit, perikolanjit, otoimmün hepatit, hepatosteatoz görülür. Üriner sistemde ürik asid ya da oksalat taşları, böbrekte amiloidoz saptanabilir. Derin ven trombozlarına rastlanır. Osteoporoz, CH'de Ca ve vit D malabsorpsiyonuna, steroid kullanımına bağlı olarak sık gözlenen bir durumdur. Kolon tutulumlu CH'de kolorektal kanser gelişme riski vardır (46).

2.5. BAKTERİYAL TRANSLOKASYON

Hemen hemen tüm ÜK'li hastalarda bakteri, virüs ya da mantarlara karşı sınırlı miktarda antikorlara rastlanmaktadır. Yapılan çalışmalarda İBH'de hastaların barsak mukozası önemli bakteri içerir. İBH'nin şiddeti arttıkça mukozal bakteri konsantrasyonunun da yükseldiği bildirilmiştir. Aktif İBH'li hastalarda, anaerob bakteriler ve lactobacillus sayısında belirgin bir düşüş bulunmuştur.

Barsak lümenindeki bakteriler dış çevreyle süreklilik arzeden kompleks bir açık ekosisteme sahiptir ve burada insan vücudundaki hücrelerden 10 kat fazla bakteri bulunur. Erken incelemelerde ÜK ve CH'li hastalar ve normal bireylerde mikrobiyal ekolojideki farklılıkları destekleyen güçlü kanıtlar bulunmamıştır. Barsağın bariyer fonksiyonunun ve mukozal bütünlüğünün bozulması, bakterilerin absorpsiyonunu artırarak barsak dışına çıkmasına, başka organlara translokasyonuna neden olmaktadır. Bakterilerin intestinal translokasyonu, gastrointestinal mikrofloranın lamina propria boyunca lokal mezenterik lenf düğümlerine (MLN) buradan da diğer organlara (karaciğer, dalak gibi) geçmesidir. Daha sonra enterik bakteri sistemik dolaşıma geçerek tüm vücut boyunca yayılabilir ve sepsis, şok, multiorgan yetmezliği ve ölüme neden olabilir. Bu geçiş normal şartlarda oluşmaz (29).

Barsak flora bakterilerinde aşırı çoğalma, antibiyotik kullanımı, açlık, yanık, travma, cerrahi stres, kolestaz gibi durumlarda barsak florasının stabilitesi bozularak mikroflorada artış olması bakteriyel translokasyonla sonuçlanmaktadır (47). En sık izole edilen bakteri *Escherichia coli*dir (48). İmmün savunmada azalma, barsak duvarında hasarlanma, barsak mukoza bariyerinde artmış geçirgenlik, karaciğerdeki histolojik ve biyokimyasal hasarlar, proinflamatuvar proteinler olan kemokinlerin artışı, inflamasyonun başlamasında önemli rol oynar (49).

Normal kolonik floradaki değişiklikler sellüler immünite bozukluğu, intestinal mukozada injuri, immünolojik distansiyon, intestinal mekanik bariyerde hasar oluşturur ve bundan dolayı bakteriyel translokasyon, devamında sepsis ve multiorgan yetmezliği oluşur (48).

Barsak içinde kolonize bakterinin intestinal mukozayı geçerek sistemik dolaşıma karışmasını engelleyen bazı savunma mekanizmaları mevcuttur. Bunlar, lümen içindeki bakteri ile intestinal epitel arasındaki mukus tabakası, sekrete edilen IgA'nın bakteri duvarı üzerindeki epitelyal yapışma bölgelerini bloke etmesi, intestinal peristaltizmin bakterinin uzun süre intestinal mukoza ile

temasını engellemesi, mukoza epitelinin fiziksel bariyer fonksiyonu ve mukozayı oluşturan epitelyal hücrelerin aralıklı olarak dökülmesidir. Barsağın kolumnar epiteli, goblet hücreleri ve lenfositler gibi özel hücreler, normal epitel hücresinin yapı ve fonksiyonunun ve hücreler arası sıkı bağlarının korunması bakterilerin transepitelyal ve transsellüler göçünü önler. Diğer bir koruyucu mekanizma da barsak-karaciğer aksıdır. Bu sistem öncelikle endotoksin translokasyonunu engeller (50,51).

2.6. SİTOKİNLER

Sitokinler nonspesifik immün sistemin temel haberleşmesini sağlayan protein veya glikoprotein yapıda maddelerdir. Hücre büyümesi ve değişimi, doku tamiri ve yeniden yapılanması, immün cevabın düzenlenmesi, hücreler arasında kimyasal haberleşmesini sağlarlar. Doğal immünyetede sitokinler, mononükleer fagositler ve doğal öldürücü hücreler (natural killer, NK) tarafından üretilirler. Kazanılmış immünyetede ise T hücreleri tarafından üretilirler (22).

CD4+ T hücreleri fonksiyonları ve özgül sitokinleri işleme yeteneklerine göre Th1 veya Th2 olarak sınıflandırılmışlardır. İntestinal Th1 aktivasyonu ve sitokin salınımı, doku yıkımının temel mediatörleri olan aktif matrix metaloproteinazlarının meydana gelmesiyle ilişkilidir (23). Th1 hücreleri hücre aracılı immün cevabı düzenler ve IL-2, IL-12 ve INF- γ salgılama yetenekleri ile karakterizedirler. Aksine Th2 hücreleri salgısal cevaplara aracılık ederler ve IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 ve IL-13 salgırlar (22).

Ayrıca sitokinler lokal mikrodamarlar üzerine etkilidir. Adezyon moleküllerini up-regüle eder ve inflamatuvar cevabın ve bunu müteakip doku hasarının büyüklüğüne katkıda bulunan nötrofil ve fagositlerden oluşan yardımcı efektör hücrelerin toplanmasını artırır.

İltihabi barsak hastalığında çeşitli immün sistem mekanizmaları değişiklik gösterir. Hücre yoluyla immün cevap, iltihabi barsak hastalığında görülebilir ve

iltihabi barsak hastalığı patojenezinde rol oynayabilir. Sitokinler ve nötrofillerden salgılanan aşırı NO ile intestinal bariyer zayıflar. Nötrofillerin aktivasyonu proteazın aktivasyonu ile sonuçlanır ve superoksit ile reaktif oksijen radikallerinin oluşmasına sebep olur. Bu da epitelin harabiyetinde rol oynar. Artan mukozal geçirgenlik sonucu lamina propriadaki immün hücreler, sinir pleksus hücreleri, mast hücreleri, mezenkimal hücreler gibi birçok hücre uyarılır ve lokal hasar artar. Ayrıca inflamasyon geliştiğinde dokuda tromboz oluşur. Ancak bunun inflamasyonun nedeni mi yoksa sonucu mu olduğu bilinmemektedir. Hastalığa yatkınlığı olmayanlarda bu hasarı immün cevabın down-regülasyonu ile sınırlandırılarak geride herhangi bir skar dokusu kalmaksızın iyileşmeyi sağlar (21).

2.6.1. TÜMÖR NEKROZİS FAKTÖR ALFA VE IL-1

Tümör Nekrozis Faktör alfa (TNF- α), IL-1, IL-6 doğal immün cevapta en önemli sitokinlerdir. Bu sitokinler tek başlarına immün cevabın düzenlenmesinde rol oynamazlar, fakat yardımcı T hücre yanıtına neden olarak edinsel immünite gelişmesine ve yayılmasına neden olurlar (52).

TNF- α ve IL-1 proinflamatuvar özellikler taşırlar ve İBH'deki mukozal inflamasyonun büyüklüğünün belirlenmesinde kritik rol oynarlar. Klinik çalışmalarda serum TNF- α düzeyi, CH olan bireylerde normale göre artmış olarak tespit edilmiştir (53). Aktivasyondaki monosit ve makrofajlardan salınır. İnflamasyonun patogeneğinde ilk suçlanan sitokindir (54).

TNF- α etkisini IL-6'yı artırarak gösterir. İntestinal makrofaj, nötrofil, fibroblast ve düz kas hücrelerini prostaglandinler, proteazlar ve diğer çözünebilir inflamasyon ve zedelenme mediatörlerini düzenler. Adezyon moleküllerinin endotel hücrelerine etkilerinde ve intestinal permeabilite artışına etken olan bir maddedir. Granülom oluşumunda belirleyici gibi görünmektedir ve IL-6, IL-1 ile birlikte TNF- α , İBH'nin yapısal semptomlarına katkıda bulunabilir ve akut faz proteinlerinin oluşmasına yol açar (55). Gram negatif bakterilere konak yanıtının

temel mediatördür. Yüksek konsantrasyonlu lipopolisakkarite (LPS) bağı doku hasarında, damar içi pıhtılaşmada, DIC ve septik şokta temel mediatördür (56).

2.7. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ

Serbest Oksijen Radikalleri (SOR) bir veya daha fazla çiftlenmemiş elektron taşıyan elektrik yüklü veya yüksüz reaktif atom veya moleküllerdir. Biyolojik sistemdeki en önemli SOR oksijenden oluşan radikallerdir. Hidroksil radikali (HO^\cdot), süperoksit radikal ($\text{O}^{2\cdot}$), hidrojen peroksit, nitrik oksit (NO^\cdot) en önemlileridir (57).

SOR'un plazma membranları ve organellerde doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu, sülfhidril içeren enzimlerin oksidasyonu, enzimlerin inaktivasyonu, polisakkarit depolimerizasyonu ve DNA sarmallarının bölünmesi gibi zararlı etkileri vardır (57).

Lipit peroksidasyonu, serbest radikaller tarafından başlatılan ve membran yapısındaki doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren kimyasal bir olaydır. Bu radikallerin yan ürünleri olan aldehitler ve hidrokarbon gazları, vasküler permeabilite artışı, ödem, inflamasyon, fosfolipaz aktifleşmesi, kemotaksis ve prostoglandin oluşumuna yol açarak çeşitli patolojik olaylarla sonuçlanırlar (57).

2.8. ANTİOKSİDANLAR

Organizmada sürekli bir şekilde oluşan SOR'un zararlı etkilerini önleyen antioksidan koruyucu bileşikler vardır.

2.8.1. ENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR

SOR' i tutma ve radikal hasarlarını önlemede rol oynarlar.

-Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi

-Süperoksit Dismutaz (SOD)

-Katalaz (CAT)

-Glutasyon Redüktaz: Glutamik asit, sistein ve glisin amino asitlerinden oluşan glutasyon (GSH) hemen hemen bütün hücrelerde, oldukça yüksek konsantrasyonlarda mevcuttur. İlk kez 1921 yılında Hopkins tarafından keşfedilmiştir (58). GSH, tüm memeli hücrelerinde bol miktarda (0.5-10 mM) sentezlenir. γ -glutamilsistein sentetaz isimli enzim GSH'nin prekürsör amino asitleri olan glutamat ve sisteinden, γ -glutamilsisteinin oluşumunu katalizler. İkinci basamakta ise, glutasyon sentetaz, glisin ve γ -glutamil-sisteinden glutasyonu oluşturur. GSH negatif feed-back ile glutamilsistein oluşum hızını ve böylelikle kendi sentezini de denetler. GSH sürekli olarak hücreler tarafından kullanıldığından, sentezinin inhibisyonu hızlı tükenmesine yol açabilir (59).

İndirgenmiş glutasyon, serbest bir sülfidril gurubu içeren bir tripeptiddir. İndirgenmiş durumda hemoglobin ve eritrosit hücre proteinlerinin sistein artıklarını muhafaza eden bir sülfidril tamponu olarak hizmet eder. Eritrositlerin normal hücre yapısının korunması ve hemoglobindeki demirin ferro durumunda tutulması için de gerekli olduğu ileri sürülmektedir. İndirgenmiş glutasyonun, oksitlenmiş forma oranı normalde yaklaşık 500/1'dir. İndirgenmiş form H_2O_2 ve organik peroksitlerin sebep olduğu detoksifikasyon reaksiyonlarında önemli bir rol oynar. GSH içerdiği tiyol grubu aracılığı ile hücre içinde redoks potansiyeli yüksek bir ortam sağlayarak, hücreyi oksidatif hasarlara karşı korur, Glutasyon Peroksidaz (GPx) isimli enzimin kofaktörlüğünü yaparak, hidrojen peroksidi metabolize eder (58).

Çeşitli stres faktörleri, SOR oluşumunu hızlandırdığı ve lipid peroksidasyonlarına yol açtığı gösterilmiş, SOR'un oluşturduğu oksidatif hasar, oksidan stres olarak tanımlanmıştır. Oksidan stres ile GSH düzeylerinin azaldığı bilinmektedir (58). Oksidan stres sonucunda artan SOR oluşumunun hücre hasarlarındaki etkileri bilinmektedir. Bu ürünlerin detoksifikasyonu, glutasyonun indirgenmiş formunun oksitlenmiş dimer formuna dönüşümü ile sağlanmaktadır.

-Glutasyon Peroksidaz: Glutasyon peroksidazlar çoğu dokuda eksprese olan selenosistein içeren enzimlerdir. Hidrojen peroksitin indirgenmesinden sorumludur. GSH-Px'in fagositik hücrelerde önemli fonksiyonları vardır. Fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde de oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma hidrojen peroksitin artışına ve şiddetli hücre hasarına yol açar. Düşük konsantrasyonlardaki H₂O₂, öncelikle GSH-Px tarafından temizlenir (58).

2.8.2. NONENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR

-Lipitte çözünebilir nonenzimatik antioksidanlar

-Suda çözünebilir nonenzimatik antioksidanlar

-Myeloperoksidaz (MPO)

-Malondialdehit: Organizmada mitokondrial elektron transportu, heksoz monofosfat yolu, ksénobiotiklerin metabolizması, doğal uyarılarla fagositik hücrelerin aktivasyonu, biosentetik ve biyokimyasal yıkım gibi doğal olaylarda serbest radikaller oluşabilmektedir. Serbest radikallerin hücre dışı etkileri hücreler arası boşluk ve sıvılarda ortaya çıkar. Özellikle eklem ve beyin omurilik sıvılarında antioksidan savunmanın yetersiz olması nedeniyle, bu bölgelerde serbest radikallere bağlı yıkım daha fazladır. Serbest radikallerden etkilenen membran yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu sonucunda lipit peroksidasyonu gelişir. Oluşan lipit hidroperoksitlerinin aldehit ve karbonil bileşiklerine dönüşmesi sonucunda malondialdehit (MDA) meydana gelir. Dolayısıyla MDA, oksidatif hasarın, sistemik dolaşımda düzeyi saptanabilen dolaylı bir göstergesidir (60).

Yaşlanma, koroner kalp hastalıkları ve kanser başta olmak üzere birçok hastalıkta lipit peroksidasyonunun önemli rol oynadığı bilinmektedir. Lipit peroksidasyonunun son ürünü olan MDA doku reaksiyon zincir hızının bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. MDA, SOR'un seviyesinin tesbitinde kullanılan önemli bir göstergedir. Plazma MDA konsantrasyonu enzimatik olmayan oksidatif lipit peroksid parçalanması sonucu oluşur. MDA proteinlerin

amino gruplarına, fosfolipidler veya nükleik asitlere bağlanarak toksik etkisini gösterir (61).

2.9. TEDAVİ

İnflamatuvar Barsak Hastalıklarında medikal tedavinin amacı aktif hastalık durumunda remisyonu sağlamak, remisyondaki hastalıkta ise bu süreci uzatmaktır. Tedavi genellikle ömür boyu yapılır. Tedavi hastalığın yerleşim yerine, ağırlık derecesine ve komplikasyonların varlığına göre belirlenir. Başlıca ilaçlar; antiinflamatuvarlar, immunosupresifler, immunomodulatorler, antibiyotikler, nütrisyonel ve destekleyici ajanlardır (62).

2.9.1. AMİNOSALİSİLATLAR

İnflamatuvar barsak hastalıklarının temel ilacı antiinflamatuvar etkili aminoalisilatlardır. İlk kez 1965 yılında kullanılmaya başlanmıştır. Bu grubun ilk üyesi olan sulfasalazin, sulfapiridine azo bağıyla bağlanmış 5-aminosalisilik asid'den (5-ASA) ibarettir. Bu bileşikteki sulfapiridin taşıyıcı olup, esas etkili ve aktif kısmı 5-ASA'dır. Bunlardan klinik kullanımda olanları olsalazin, mesalazin ve balsalaziddir (62).

5-ASA'nın muhtemel etki mekanizmaları arasında "natural killer" hücrelerinin, antikor sentezinin, siklooksijenaz ve lipooksijenaz yollarının ve nötrofil fonksiyonlarının inhibisyonu ile serbest oksijen radikallerinin temizlenmesi yer alır. 5-ASA ağız yoluyla direkt verildiğinde, hemen hemen tamamı üst sindirim kanalından emilir ve kana geçer. İnflamatuvar barsak hastalığında 5-ASA, etkisini sindirim kanalındaki inflamasyonlu bölgeye ulaşıp diffüze olarak da gösterir, yani topikal etkilidir. Sulfasalazin ağız yoluyla alındığında çekuma ulaştınca bakteriler azoredüktaz enzimi aracılığıyla sulfasalazin ve 5-ASA arasındaki azo bağına parçalar ve aktif bileşik 5-ASA açığa çıkar. Sulfapiridin hızla emilip karaciğerde metabolize edilir ve idrarla atılır. 5-ASA'nın %25 kadarı kolondan emilir, geri kalanı dışkı ile değişmeden atılır (63).

Sulfasalazindeki taşıyıcı inaktif molekül sulfapiridin, sulfasalazin kullananlarda rastlanan yan etkilerin büyük kısmından sorumludur. Sulfasalazin alanların %25-30'unda doza bağlı (bulantı, kusma, iştahsızlık, folat malabsorbsiyonu, baş ağrısı, saç dökülmesi) veya aşırı duyarlığa bağlı (raş, hemolitik anemi, agranülositoz, toksik hepatit, pankreatit, fibrozan alveolit, oligo-azospermi) yan etkiler görülebilir. Hastaların %15'inde bu yan etkiler sulfasalazinin kesilmesini gerektirecek ciddiyettedir (64).

Ülseratif kolitte hem remisyonu sağlamada, hem de remisyonun idamesinde sulfasalazin ve 5-ASA bileşikleri eşdeğer dozlarda eşdeğer etkinliğe sahiptir, ancak sulfasalazin çok daha ucuzdur. Dolayısı ile ülseratif kolitte ilk kullanılacak oral aminosalisilat bileşiği, sulfasalazindir. Genç erkeklerde ve sulfasalazin intoleransında 5-ASA verilir. CH'de oral aminosalisilat seçimi hastalığın tutulum yerine göre yapılır (65,66).

2.9.2. KORTİKOSTEROİDLER

Ülseratif Kolit'in alevlenme dönemlerinde hızlı ve efektif olarak semptomları azalttıklarından hala önem taşımaktadırlar. Orta ve ciddi şiddetteki ÜK hastalarında ve CH'de kullanılmaktadır. Etki mekanizmaları arasında araşidonik asit oluşumunun engellenmesi, lokosit fonksiyonlarının değişmesi ve proinflamatuvar sitokin prodüksiyonunun azalması sayılabilir (67). Kortikosteroidlerin kısa ve uzun dönem yan etkileri yüzünden İBH'de çok uzun süre kullanılmaları önerilmez (68). Ayrıca bu hastalarda kortikosteroid tedavisine karşı direnç gelişebilir (69).

Hidrokortizon ve prednisolonlar uzun dönem kullanımda yan etkileri fazla olduğundan ve hastalık aktivitesini kontrol etmekte yetersiz kaldıklarından budenosid gibi yeni kortikosteroidler geliştirilmiştir. Topikal kortikosteroidlerin de plaseboya göre etkinlikleri saptanmış olsa bile, topikal kullanımda 5-ASA preparatlarının kullanım zorluğu olan durumlarda tercih edilmektedirler. Budesonid 9 mg/gün dozunda oral yolla 12 hafta süreyle verildiğinde steroide

bağlı yan etkiler minimal derecede görülmüştür. Budesonid hastaların %75'inde klinik remisyonu sağlar, relapsları geciktirir (70,71).

2.9.3. İMMÜNSÜPRESİFLER

Ülseratif Kolit'te purine analogları olan 6-Merkaptopürin ve onun önilacı olan Azotiyopirin RNA ve DNA sentezini ve böylece hücre büyümesini inhibe eden purin antagonistleridir. Steroid ihtiyacını azalması ve dirençli vakalarda hızlı remisyona sağlaması nedeniyle son yıllarda daha çok kullanılmaktadır. Akut hastalıkta 5-ASA preparatları ile aynı etkiyi gösterirler (72).

2.9.4. SİKLOSPORİN VE METOTREKSAT

Ülseratif Kolit'te steroid dirençli vakalarda tercih edilmektedir. Ancak CH'de siklosporinin herhangi bir etkisi gösterilememiştir (10).

2.9.5. MİKOFENOLAT MOFETİLİN

Steroid dirençli CH'de azotiyopirini tolere edemeyen hastalarda steroid dozunu azalttığı ve remisyona sağladığı bildirilmiştir (122).

2.9.6. ANTİBİYOTİKLER

İnflamatuar Barsak Hastalığının tedavisinde antibiyotiklerin rolüne ilişkin çok az veri vardır. Bunlar CH'nin tedavisinde uzun süredir başarıyla kullanılırken ÜK'de etkinlikleri hakkında inandırıcı kanıtlar yetersizdir. Crohn hastalığında, siprofloksasin ve metranidazolun kombine olarak kullanımı sonucu hastaların % 76'sında cevap alınmıştır (73). Metranidazol ileum ya da çıkan kolon tutulumu olan ve ağır perianal hastalığı olan Crohn hastalarında kullanılmaktadır. Siprofloksasin ise metranidazolü tolere edemeyen hastalarda alternatif olarak kullanılmaktadır. Aynı antibiyotikler, fistüllü veya intraabdominal abseli Crohn hastalarında da başarıyla kullanılır (74,75).

2.9.7. YENİ TEDAVİLER

Son yıllarda İBH tedavisinde çok çeşitli etki mekanizmaları olan ilaçlarla çeşitli hayvan ve insan çalışmaları yapılmış, bunların bir kısmı klinik kullanıma girmiştir (122).

İnfliximab, Nikotin ve Eritropoetin farklı etki mekanizmaları ile İBH'de klinik kullanıma girmiş ilaçlardır. Bunların yanı sıra heparin, düşük molekül ağırlıklı heparinler ve talidomid halen araştırma aşamasındadır. Granülosit Koloni Stimülan Faktör (G-CSF), Rekombinant insan IL-10, Rekombinant insan IL-11, insandan elde edilmiş TNF antikoru, ICAM-1 antisense oligonükleotid gibi henüz klinik deneme aşamasında olan birçok ilaç mevcuttur (122).

2.9.8. CERRAHİ TEDAVİ

Ülseratif kolitte tıbbi tedavinin yetersizliği, ciddi aktiviteli atağın komplikasyonları (perforasyon, toksik megakolon gibi), hayat kalitesini bozan kronik aktif hastalık, displazi ve kolorektal kanser durumlarında cerrahi tedavi uygulanır. Crohn hastalığında da tıbbi tedavinin yetersizliği, fistül, striktür, masif kanama ve perforasyon meydana geldiğinde cerrahi tedavi düşünülür (14).

2.10. TRİNİTROBENZEN SULFONİK ASİT KOLİT MODELİ

Bazı maddelerle ratların kolonları hassaslaştırılarak akut ve kronik intestinal inflamasyon oluşturulabilir. Bu durum bilinmesine rağmen bunun tam mekanizması hala anlaşılamamıştır. Burada kolonik hasar, bariyer kırıcı (barrier-breaker), etanol ve haptent karışımının intrarektal verilmesi ile oluşturulur (76).

Hücrel proteinlere haptent molekülünün bağlanması ile oluşan bu inflamatuvar olayın görünümü geçirilmiş tipte hipersensitif immün cevaptaki

görünüm gibidir. İsteğe bağlı optimize edilmiş trinitrobenzen sulfonik asit (TNBS) konsantrasyonları ile akut, kronik ve letal formlarda kolit oluşturulabilir. Genelde multipl uygulamalar koliti kronikleştirmektedir. Akut kolit gelişimi mukozal permeabilite, epitelyal nekroz ve kolonik myeloperoksidaz aktivitesindeki artış ile bağlantılıdır. Makrofaj ve granülosit sayılarındaki artış ile birlikte yüksek dereceli bir hasar oluşur (77).

Trinitrobenzen sulfonik asit koliti ratlarda transmural granülamatöz inflamasyon ile şiddetli diare, kilo kaybı ve barsak duvarında kalınlaşmaya neden olur. Kronik kolitte mukozal immün sistem aktivasyonu lenfosit ve özellikle de CD4+ T hücrelerinin lamina propriada birikimi ile beraberdir (77). TNBS kolit modelinin çalışmalardaki en önemli ve faydalı yönleri, inflamasyonun İBH'deki inflamasyona ileri derecede benzerliği, sitokin sekresyon paternlerini içermesi (78), hücrel adezyon (79) ve immünoterapiye uygun olmasıdır (80).

Trinitrobenzen sulfonik asit kolitinde lamina propriada, T hücreleri tarafından TH1 tipte hücre cevabı olarak IFN- γ ve IL-2, TH2 tipte hücre cevabı olarak IL-4 ve IL-5 salınımı olur. Makrofajla birlikte T hücrelerince TNF- α ve IL-12 üretilmektedir. T hücreleri tarafından aktive edilen IL-12 ile bakteriyel antijenler ve makrofajlar tarafından aktive edilen IFN- γ birlikteliği hücrel inflamasyonda asıl önemli rolü üstlenmektedir. Histopatolojik yönleri ve IL-12, TNF- α oluşumu ve seviyeleri ile deneysel TNBS koliti İBH ile tutarlı benzerlik göstermektedir. Çevresel stres faktörleri ve kronik tekrarlayan kolitteki mukozal geçirgenlik özellikleri bu kolit modelinde ilginç olarak benzerdir. Bu kolit modelinin bölgeye göç eden CD4+ T hücreleri ile oluştuğu düşünülmektedir (81).

2.11. CAFFEİC ACİD PHENETHYL ESTER

Propolis, arılar tarafından bal arısı zamkı (Bee glue), huş (betula), kavak, kızılgaç, söğüt, hurma gibi birçok ağacın yapraklarının tomurcuklarından toplanan kahverengimsi sakızsı bir maddedir. Bal arıları bu maddeyi imal etmek için bitkilerden aktif olarak sekrete edilen materyali veya bitkilerdeki

zedelenmelerden ötürü dışarı sızan maddeleri kullanabilirler (lipophylic materyal, mucilages, çikletler, reçineler vs gibi). Propolis Yunanca'dan türemiş bir terimdir. "Pro" önünde-girişinde, "polis" ise topluluk-şehir anlamında bir kelime olup arı kovanının savunmasında kullanılan bir madde olarak bilinmektedir (82).

Caffeic acid phenethyl ester (CAPE), propolis ekstresinin aktif bir bileşenidir (83). İn vitro koşullarda nötrofiller veya ksantin/ksantin oksidaz sistemi tarafından oluşturulan reaktif oksijen türlerini tamamen bloke eder (84). Yapılan çalışmalarda, CAPE'nin antienflamatuvar, antifungal ve antimikrobik, immünomodülatör, antimitojenik ve antioksidan özelliklere sahip olduğu belirtilmiştir. Propolisi antibakterial, antifungal, antiviral, hepatoprotektif, antienflamatuvar, vücut direncini artırıcı özellikleri ve gastroduodenal ülserleri tedavi edici özelliklerinden dolayı önermişlerdir. Haricen cilde uygulandığında bakteri ve mantarın neden olduğu çeşitli dermatitlere iyileştirici etki gösterirler. Bugün propolisin kapsül, krem ve toz formlarında, ağız bakımında, boğaz pastili şeklinde çeşitli ticari formları mevcuttur (85-88).

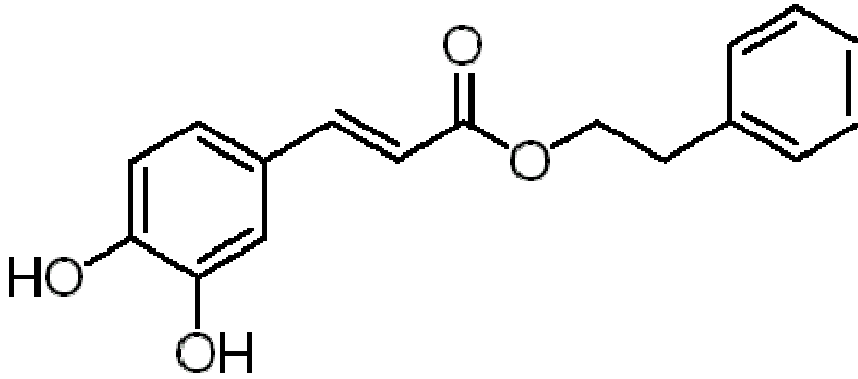
Propolisin kimyasal yapısında şimdiye kadar esas olarak polifenoller olmak üzere 180'den fazla bileşik saptanmıştır. Asıl polifenoller ise Flavonoidler olup buna fenolik asitler ve esterler, fenolik aldehytler, ketonlar vs. eşlik eder. Propolisteki diğer bileşimler; % 5-10 civarında uçucu yağlar ve aromatik asitler, %30-40 bal mumu olup geri kalanında reçineler, pelesenkler (melisa, oğul otu) ve içerisinde magnezyum, nikel, kalsiyum, demir ve çinko gibi önemli elementlerden zengin polen zerrecikleri bulunur (85).

Propolisin farmakolojisinde, antimikrobiyal özellikleri esas olarak pinocembrin, galangin ve pinobanksin adlı flavonoidlere bağlanmaktadır. Pinocembrinin aynı zamanda antifungal özelliği de vardır. Propolis preparatları in vitro ortamda antimikrobiyal etki gösteriyor olup esas olarak Gram pozitif (Staphylococci ve Streptococci türleri) ve Gram negatif bakterilere (E. coli, K. pneumoniae, P. vulgaris ve P. aeruginosa), Helicobacter pylori, protozoa (T.cruzi), mantar (Candida albicans) ve virüslere (HIV, Herpes virüs veya

influenza virüs) etki gösterirler. Bir çalışmada propolisi çözmek için kullanılan ekstrenin propolisin antimikrobiyal potansiyelini etkileyebileceği gösterilmiştir. Diğer aktif bileşimleri ise “coumaric ester” ve “caffeic acid”lerdir. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) tümör hücrelerine karşı sitotoksik etki göstermektedir. Diğer bileşimler arasında olan “prenylated p-coumaric” ve “diterpenic acid”ler antibakteriyel ve sitotoksik aktiviteye sahiptirler. “Caffeoylquinic acid” türevleri ise immünmodülatör ve hepatoprotektif etki gösterir (89).

Molekül Formülü: $C_{17}H_{16}O_4$

Molekül Ağırlığı: 284.31 gr/mol



Şekil 1. CAPE'nin kimyasal formülü (90).

Propolisin akut ve kronik hastalıklarda antiinflamatuvar etkinliği vardır fakat bunu nasıl gerçekleştirdiği henüz belirlenememiştir. Rossi ve arkadaşları, propolisin konsantrasyon bağımlı şekilde COX aktivitesini inhibe ettiğini göstermişlerdir (91). Test edilen bileşimler arasında sadece CAPE ve galanın'ın propolisin antiinflamatuvar aktivitesinde payı olduğu ve bunlardan da CAPE'nin katkısının daha fazla olduğu gösterilmiştir. Propolisin sıçanlarda in vivo olarak CD4/CD8 T lenfosit oranını arttırdığı ve in vitro olarak ise makrofajlarda immünostimülatör ve immünomodülatör etki gösterdiği ortaya konmuştur (86,92).

Ayrıca propolis sıçanlarda karbon tetraklorür veya parasetamol ile oluşturulmuş akut karaciğer hasarında hepatoprotektif etki göstermektedir (93).

Propolis sıçanlarda, parasetamole bağı GSH tüketimini geri çevirebilmekte ve böylece hücre ölümünü önlemektedir. Propolis ayrıca oksijen radikallerini de temizlemektedir (88). Propolis kokainle benzer anestejik bir etkiye sahiptir ve biyolojik dokularda rejeneratif etki gösterip birçok kanser hücresine karşı da antineoplastik aktivite gösterir (92,94). Hücre bölünmesini ve protein sentezini de inhibe etmektedir (95). CAPE, tümör nekroz faktör'ün (TNF) yanı sıra forbol ester, seramid, hidrojen peroksit ve okadaik asit gibi diğer inflamatuvar ajanların indüklediği NF-κB aktivasyonunu da inhibe etmektedir. CAPE propolis içerisinde kemopreventif (kimyasal önleyici) ve antitümöral etkinliği olan esas aktif bileşimlerden biri olarak saptanmıştır (96). Bununla birlikte propolis ve aktif komponenti olan CAPE'nin kanser tedavisindeki olumlu etkisinin mekanizması tam olarak anlaşılmış değildir ve daha ileri deneysel çalışmalara ihtiyaç vardır. Propolisin kan basıncını ve kolesterol seviyesini düşürdüğü, hatta ilaç kesildikten haftalar sonrasına dek kolesterol düşürücü etkisinin devam edebileceği rapor edilmiştir (97). CAPE'nin, dönüşüme uğramış hücrelerde "redox" tepkimesini değiştirerek apoptozisi indüklediği öne sürülmektedir (98). Yine CAPE'nin lipid peroksidasyonunu baskılayarak antioksidan aktivite gösterdiği ve ornitin dekarboksilaz, protein tirozin kinaz ve lipooksijenaz aktivitelerini inhibe ettiği rapor edilmiştir (99).

Propolisin yan etkileri, düşük dozlarda kullanıldığında güvenli olarak bilinirken, 15 g/gün dozundan fazla kullanıldığında yan etki sıklığı artmaktadır. En sık yan etkiler alerjik reaksiyonlar, cilt ve müköz membran irritasyonu olarak bildirildiğinden astım hastaları, egzemalı ve ürtikerli hastalar tedavi edilirken dikkatli olunmalıdır (100).

CAPE'nin yapılan çalışmalarda, antienflamatuvar, antifungal ve antimikrobik, immünomodülatör, antimutajenik ve antioksidan özelliklere sahip olduğu belirtilmiştir. Bu özellikleri doğrultusunda SOR oluşumunun azaltılması, iskemi ve toksik etkiler sonucu ortaya çıkan lipid peroksidasyonunun baskılanması ile İBH tedavisinde CAPE'nin etkili olabileceği düşünülmektedir.

Mekanizması ister antioksidasyon, ister immünomodülatör ve antiinflamatuvar etkinlik üzerinden olsun CAPE'nin artık İBH önleyici etkisi olduğu literatürde tartışılmaya başlamıştır. Bununla birlikte kolonda deneysel olarak oluşturulmuş kolitin CAPE ile gerilediğini gösteren bir çalışma bulunmamaktadır. CAPE'nin oluşmuş koliti geriletici etkisinin olup olmadığını ortaya koymak ve böylece literatüre katkı sağlamak amacıyla bu çalışma tasarlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız 6 aylık ve kiloları 250-350g arasında değişen toplam 48 erkek Sprague Dawley rat kullanılarak, Afyon Kocatepe Üniversitesi Deneysel Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Çalışma öncesinde Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu onayı alındı. Denekler çalışmadan bir hafta öncesinde rastgele örnekleme metodu ile gruplara ayrılarak serbest su ve yem verilerek oda ısısında saklandı.

Çalışma başlangıcında ratlar randomize olarak, her çalışma grubunda 8'er adet olacak şekilde 6 gruba ayrıldı ve kolit oluşturulmadan önce tartıldı. Deneysel öncesindeki gece, su serbest olmak üzere ratlar 24 saat aç bırakıldı. Kolit, anestezi sonrası supin pozisyondaki (baş aşağı 45 derece eğik) ratlarda, anal kanaldan yerleştirilen 8 cm'lik kateterle, etanoldeki (TNBS [120 mg/kg; Sigma- Aldrich] ve 250 µl etanol karışımı) trinitro-benzen sülfonik asid solüsyonu verilerek oluşturuldu. TNBS solüsyonu verilirken kateter geri çekilerek solüsyonun tek bir noktaya değil, distaldeki tüm 8 cm'lik alana yayılması sağlandı. Kolit oluşumundan itibaren 7 gün süre ile tedavilere devam edilerek gruplar elde edildi.

3.1. GRUPLAR

Çalışma grupları şöyle oluşturuldu:

1. grup: Kontrol grubu (n=8) Normal ratlar, hiçbir uygulama yapılmadı.
2. grup: Kolit grubu (n=8) Anestezi sonrası anal kanaldan yerleştirilen 8 cm'lik kateterle, etanoldeki (TNBS [120 mg/kg; Sigma- Aldrich] ve 250 µl etanol karışımı) trinitro-benzen sülfonik asid solüsyonu verilerek kolit oluşturuldu. Kolit oluşumu sonrasında hiçbir uygulama yapılmadı.
3. grup: (n=8) Anestezi sonrası anal kanaldan yerleştirilen 8 cm'lik kateterle, etanoldeki (TNBS [120 mg/kg; Sigma- Aldrich] ve 250 µl etanol karışımı) trinitro-benzen sülfonik asid solüsyonu verilerek kolit oluşturuldu. Sonrasında 7 gün süre ile intramusküler yolla günde bir kez 10 µmol/kg (%10 etanol

solüsyonunda) CAPE uygulandı. Uygulama sırasında kafeslerinde standart yem ve su ile tutuldular.

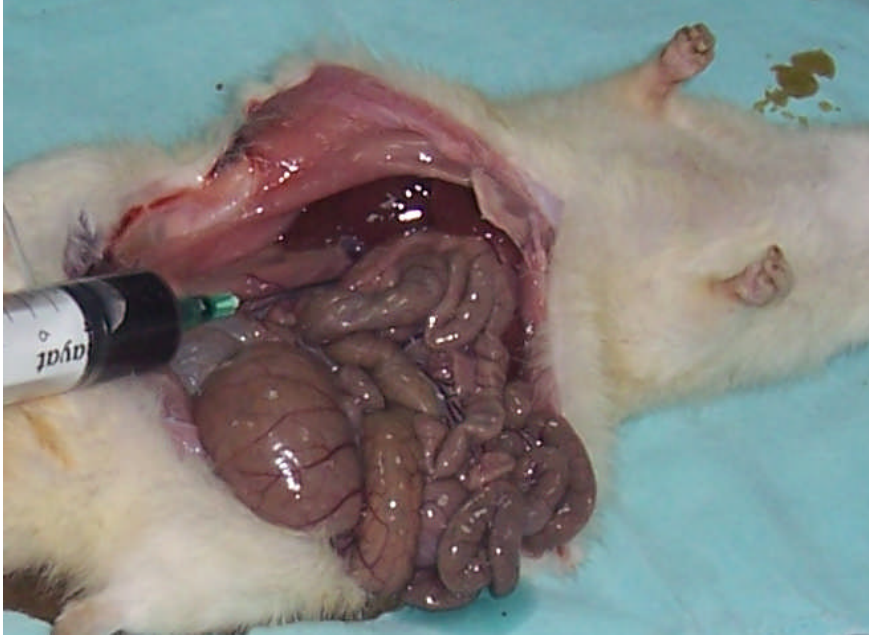
4. grup: (n=8) Anestezi sonrası anal kanaldan yerleştirilen 8 cm'lik kateterle, etanoldeki (TNBS [120 mg/kg; Sigma- Aldrich] ve 250 µl ethanol karışımı) trinitro-benzen sülfonik asid solüsyonu verilerek kolit oluşturuldu. Sonrasında 7 gün süre ile supin pozisyonunda rektal yolla 1.7 mm çaplı polyethylene kateterle anüsten 8 cm içeri kolona girilerek, günde bir kez 30 saniye sürede yavaşça 100mg/kg (% 0.9'luk NaCl solüsyonunda) 5-ASA uygulandı. Uygulama sırasında kafeslerinde standart yem ve su ile tutuldular.

5. grup: (n=8) Kolit oluşturulmadan 7 gün süre ile günde bir kez 10 µmol/kg (%10 etanol solüsyonunda) intramusküler yolla CAPE uygulandı. Uygulama sırasında kafeslerinde standart yem ve su ile tutuldular.

6. grup: (n=8) Kolit oluşturulmadan 7 gün süre ile supin pozisyonunda rektal yolla 1.7 mm çaplı polyethylene kateterle anüsten 8 cm içeri kolona girilerek, günde bir kez 30 saniye sürede yavaşça 100mg/kg (% 0.9'luk NaCl solüsyonunda) 5-ASA uygulandı. Uygulama sırasında kafeslerinde standart yem ve su ile tutuldular.

3.2. SAKRİFİKASYON PROSEDÜRÜ

Gruplar elde edildikten 24 saat sonra steril ortamda cerrahi işleme geçildi. Tüm ratlarda sağ bacağa intramusküler yolla, 80 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı) ve 8 mg/kg xylazin (Rompun, Bayer) uygulandı. Böylece genel anestezi ve ratların spontan solunumu sağlandı. Ratların karın bölgesi traşı sağlandıktan sonra, % 10 Povidone iodine ile deri temizliği yapıldı. Yalnızca insizyon bölgesi açık kalacak şekilde steril örtü örtüldükten sonra orta hattın ~4cm'lik insizyonla laparotomi gerçekleştirildi. Vena kavadan biyokimyasal parametreleri çalışmak üzere steril ortamda ~5cc kan alınarak biyokimya tüpüne konuldu (Şekil 2). Daha sonra sakrifikasyona geçildi. Dokular biyokimyasal çalışma için %0.9'luk NaCl solüsyonu içine, histopatolojik çalışma için de % 10 formaldehit içine alındı. Biyokimyasal çalışma için kanlar santrifüj edilerek -80 ° C' de saklandı.



Şekil 2: Kolit grubu; kolon makroskopik görünümü

3.3. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Histopatolojik inceleme Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Ana Bilim Dalı'nda yapıldı. %10 nötral tamponlu formalin ile fiksasyon işlemi tamamlandı. Dehidrasyon basamaklarını müteakip doku örnekleri parafin ile bloklandı. 4µm kalınlığında mikrotomla kesitler alındı. Kesitlere Hematoksilen-Eozin boyaması uygulanarak preparatlar entellan ile kapatıldı. Kesitler ışık mikroskopunda (Nikon Eclipse E600W, Tokyo, Japan) incelendi ve dijital fotoğraf makinesi (Nikon Microscope Digitale Camera DP70, Tokyo, Japan) ile fotoğraf çekimleri yapıldı. Kesitlerde ödem, nekroz, inflamatuvar infiltrasyon, trombozis- vasküler konjesyon ve apikal epitel hücrelerinde kısmi ayrılmanın şiddet ve yaygınlığı dikkate alınarak inceleme yapıldı. Dokuların histopatolojik incelemesi, örneklerin hangi gruba ait olduğunu bilmeyen tek histolog tarafından yapıldı.

3.4. KOLONUN MİKROSKOPİK DEĞERLENDİRİLMESİ

Kolon dokuları rutin teknikle hazırlandıktan sonra histopatolojik olarak değerlendirildi. Kesitler çok sayıda alınarak doku hasarının uzanımı, kolit varlığı ve kolit aktivitesinin değerlendirilmesi sağlandı. Kesitlerde ödem, nekroz, inflamatuvar infiltrasyon, trombozis-vasküler konjesyon ve apikal epitel hücrelerinde kısmi ayrılmanın şiddet ve yaygınlığı dikkate alınarak inceleme yapıldı. Her bir kesit Liao ve ark. tarafından modifiye edilen histolojik skora sistemi kullanılarak 0-4 arasında skorlandı (101).(Tablo III).

Tablo III:Histopatolojik Hasar Kriterleri

Hasar Şiddeti	Skor
<i>Normal barsak (0)</i>	<i>0 (0)</i>
<i>Minimal hasar (<%5)</i>	<i>+ (1)</i>
<i>Hafif hasar (%5-25)</i>	<i>++ (2)</i>
<i>Orta dereceli hasar (%25-75)</i>	<i>+++ (3)</i>
<i>Şiddetli hasar (>%75)</i>	<i>++++ (4)</i>

3.5. BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME

3.5.1. SERUMDA YAPILAN BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME

Serum örnekleri için EDTA'lı tüplere alınan kan 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası üstte kalan plazma TNF- α , IL-1 ve MDA çalışılmak üzere -80 ° C' de saklandı. Dipte kalan eritrosit % 0.9'luk NaCl solüsyonu ile 3 defa yıkandı. Her yıkama sonrası 3000 rpm'de 10'ar dk santrifüj edildikten sonra üstteki süpernatant aspire edilerek atıldı. Hazırlanan eritrosit paketinden 50 μ l alınıp bir başka tüpe aktarıldı. Yıkanan eritrositler soğuk distile su ile 2ml'ye tamamlandı. Vorteksle iyice karıştırıldıktan sonra + 4°C'de 15 dk bekletildi. Sonrasında ependorf tüplerine konularak glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz çalışılincaya kadar -80 ° C' de saklandı. TNF- α ve IL-1, rat spesifik TNF- α ELİSA assay ve rat spesifik IL-1 ELİSA assay (Biosource International, Immunoassay kit, Camarillo, California 93012 USA) ile çalışıldı.

TNF- α ve IL-1 ölçümlerinin her ikisi içinde birim pg/ml kabul edildi. Glutasyon Peroksidaz düzeyleri (Glutathione Peroxidase Assay Kit – Cat. No.703102) ve Glutasyon Redüktaz düzeyleri (Glutathione Assay Kit – Cat. No.703202) Cayman (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, U.S.A) kiti ile ölçüldü

3.5.1.a. Plazma MDA Düzeylerinin Ölçümü

Plazma MDA düzeyleri Ohkawa ve ark. yöntemine göre ölçüldü (102).

Prensip: MDA'nın asidik ortamda thio barbitürik asitle oluşturduğu rengin 532 nm dalga boyunda absorbansının ölçülmesi prensibine dayanarak yapıldı.

Reaktifler:

- | | |
|-----------------------------|--------------|
| ➤ Potasyum fosfat tamponu | 0,1 M pH 7,4 |
| ➤ Sodyum dodesil sülfat | % 8,1 |
| ➤ Asetik asit | % 20 pH 3,5 |
| ➤ Thiobarbitürik asit (TBA) | % 0,8 |

Prosedür: Plazma MDA düzeyinin ölçümü için, 200 μ l numune üzerine, 100 μ l sodyum dodesil sülfat, 750 μ l asetik asit, 750 μ l TBA solüsyonu ve 300 μ l distile su eklenerek 95⁰C de 60 dk kaynatıldı. Soğutulduktan sonra 500 μ l distile su ve 1500 μ l n-bütanol eklendi ve karıştırılıp, 10 dk 4000 rpm de santrifüj edildi. Üst tabakadaki rengin absorbansı reaktif körüne karşı 523 nm dalga boyunda okutuldu.

Standart olarak 1,1,3,3-tetraetoksipropan'ın 4,173 μ mol/l 'lik çözeltisi kullanıldı. MDA düzeyleri plazmada nmol/L olarak ifade edildi ve aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$C_N = (A_N/A_S) \times C_S$$

C_N : Numunenin konsantrasyonu

A_N : Numunenin absorbansı

A_S : Standartın absorbansı

C_S : Standartın konsantrasyonu

3.5.2. DOKUDA YAPILAN BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME

Biyokimyasal analiz için dokular SF ile yıkandı ve tartıldı. 1/10 oranında PBS ile dilüe edildi. Sonrasında homojenizatörle 9600 devir/dk'da 60 saniye süreyle mekanik olarak homojenize edildi. Burada parçalanan numuneler 30 saniye süreyle sonifikasyon işlemine tabi tutuldular. Bu süre sonunda elde edilen % 10'luk homojenatlar, +4°C'de 10 dakika süreyle 5000 rpm'de santrifüj edilerek süpernatantlar elde edildi. Bu süpernatantlarda, MDA düzeyleri ile TNF- α , IL-1, Glutasyon Peroksidaz ve Glutasyon Redüktaz aktiviteleri çalışıldı. Doku biyokimyasal değerlendirmelerinde de serumda kullanılan kit ve yöntemler kullanıldı.

3.6. İSTATİKSEL ANALİZ

İstatistiksel değerlendirmeler “SPSS 11.5 for Windows ve WINKS SDA 6” istatistiksel paket programları kullanılarak yapıldı. Veriler tanımlayıcı istatistik ile özetlendi. Dağılımı normal olmayan veriler ortanca (minimum-maksimum) olarak gösterildi. Grupların karşılaştırılmasında; verilerin normal dağıldığı durumlarda Tek Yönlü Varyans Analizi, verilerin normal dağılmadığı durumlarda ise Kruskal-Wallis H testi kullanıldı. Ayrıca farklı olan grupların belirlenmesinde Post-hoc çoklu karşılaştırma testlerinden parametrik ve parametrik olmayan Tukey HSD testi kullanıldı. $P < 0.05$ istatistiksel anlamlı olarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME SONUÇLARI

Kolon dokularının ışık mikroskopisi incelemesine göre; kesitlerde ödem, nekroz, inflamatuvar infiltrasyon, trombozis-vasküler konjesyon ve apikal epitel hücrelerinde kısmi ayrılmanın şiddet ve yaygınlığı dikkate alındı. Her bir histopatolojik bulgu şiddet ve yaygınlığına göre 0-4 arasında skorlandı (hasar yok-0, az hasar-1, hafif hasar-2, orta derecede hasar-3 ve şiddetli hasar-4).

Saptanan bu histopatolojik bulgulara ait skorların medyan değerlerinin gruplar arasındaki dağılımı Tablo 4’te gösterilmiştir. Buna göre ödem, nekroz, infiltrasyon, tromboz ve apikal epitel hücrelerinde kısmi ayrışmaya ait medyan skor değerleri açısından gruplar arasında farklar mevcut idi. Bu farkların belirlenmesi için yapılan karşılaştırmalarda; kontrol grubunda (Grup 1) hiçbir histopatolojik bulgu saptanmadığından; kolit oluşturulan Grup 2’de hasar düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek idi. Yine kolit oluşturularak, kolite karşı koruyucu olarak CAPE ile ASA’nın verildiği Grup 3 ve Grup 4’te de hasar düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek iken, kolit oluşturulan Grup 2 ile anlamlı fark saptanmadı.

Tablo IV: Ratlarda kolon mikroskopik skora (Medyan (minimum-maksimum)). Tüm gruplar arasında $P<0.05$

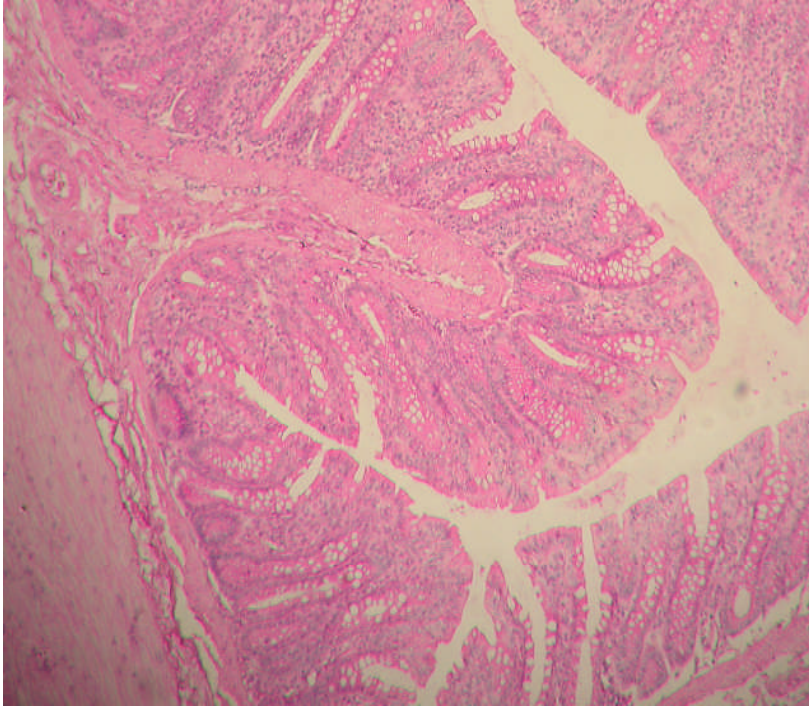
Histoloji	Ödem	Nekroz	İnfiltrasyon	Tromboz	Ayrılma
GrupI (n=8)	0.0 (0.0-0.0) ^a	0.0 (0.0-0.0) ^a	0.0 (0.0-0.0) ^a	0.0 (0.0-0.0) ^a	0.0 (0.0-0.0) ^a
GrupII (n=8)	2.0 (1.0-3.0) ^b	2.0 (1.0-3.0) ^b	2.0 (1.0-3.0) ^b	2.0 (1.0-3.0) ^b	2.0 (1.0-3.0) ^b
GrupIII(n=8)	1.0 (1.0-2.0) ^{bc}	1.0 (1.0-2.0) ^{bc}	1.0 (1.0-2.0) ^{bc}	1.0 (1.0-2.0) ^{bc}	1.0 (1.0-2.0) ^{bc}
GrupIV(n=8)	1.5 (1.0-2.0) ^b	1.0 (1.0-2.0) ^b	1.5 (1.0-2.0) ^b	1.0 (1.0-2.0) ^b	1.0 (1.0-2.0) ^b
GrupV (n=8)	0.0 (0.0-1.0) ^{ac}	0.0 (0.0-1.0) ^{ac}	0.0 (0.0-1.0) ^{ac}	0.0 (0.0-1.0) ^{ac}	0.0 (0.0-1.0) ^{ac}
GrupVI(n=8)	1.0 (0.0-2.0) ^{abc}	1.0 (0.0-1.0) ^{abc}	1.0 (0.0-2.0) ^{abc}	1.0 (0.0-1.0) ^{abc}	1.0 (0.0-1.0) ^{abc}

Not: Gruplarda yer alan farklı harfler arasında istatistiksel anlamlılık mevcuttur.

Kruskal-Wallis H testi (minimum-maksimum). $P<0.05$ istatistiksel anlamlı olarak değerlendirildi.

Kolit oluşturulmaksızın sadece CAPE'nin ve sadece ASA'nın verildiği Grup 5 ve Grup 6'da, kontrol grubuna göre anlamlı olmayan minimal hasar izlendi. Kolit oluşturulmaksızın ASA'nın verildiği Grup 6'da, kolit grubuna göre anlamlı olmayan belirgin ödem, nekroz, infiltrasyon, tromboz ve apikal epitel hücrelerinde ayrışma saptandı.

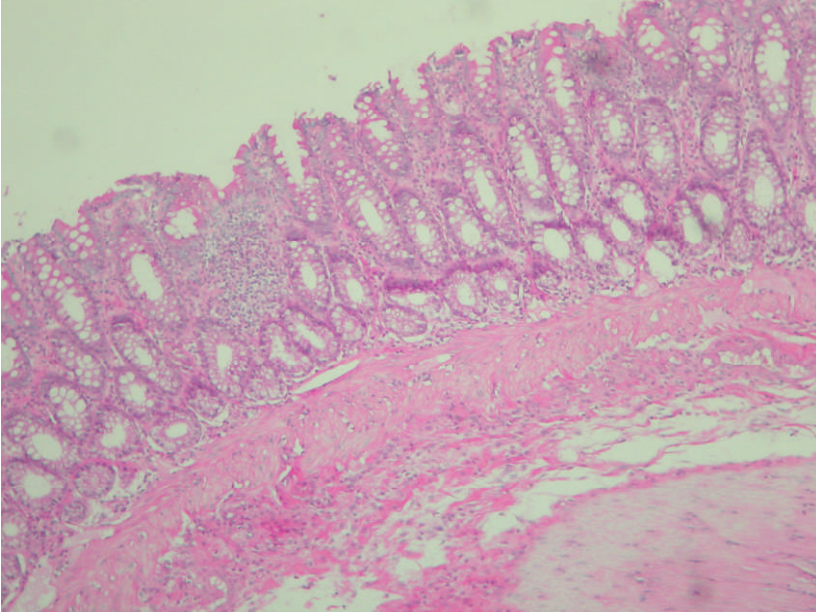
Kontrol grubuna (Grup 1) ait kesitlerin normal görünümde prizmatik yüzey epiteli ve goblet hücreleri içerdiği gözlemlendi. Bu grupta ödem, nekroz, inflamatuvar infiltrasyon, trombozis-vasküler konjesyon ve apikal epitel hücrelerinde kısmi ayrılma gibi bulgulara rastlanmadı (Şekil 3).



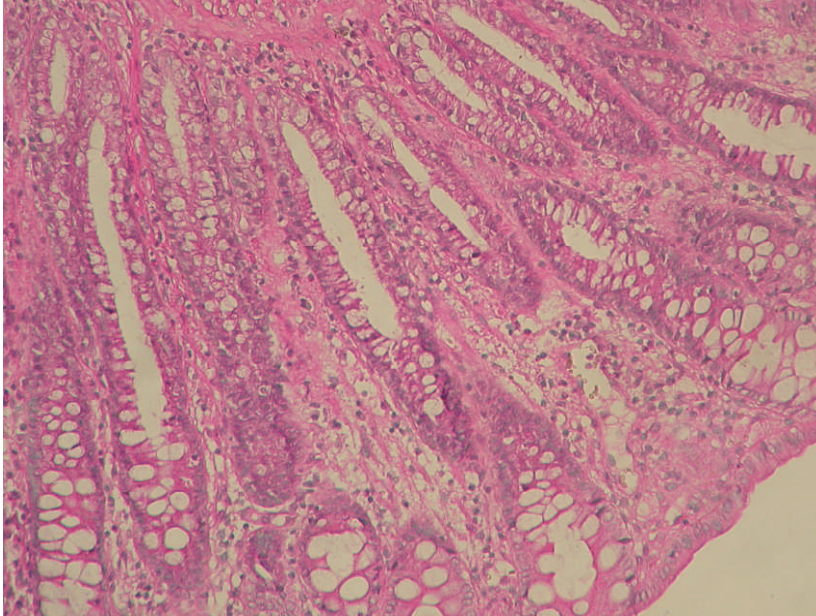
Şekil 3: Kontrol grubu (Grup 1). Normal kolon histolojik görünümü. Hematoksilen-Eozin boyama, Orijinal büyütme X 10.

Kolit grubuna (Grup 2) ait ratların kolon dokularının ışık mikroskopik incelemesinde; normal yapıdan farklılıklar gösteren bozukluklar izlendi. Bu bozukluklar ödem, nekroz, inflamatuvar infiltrasyon, trombozis-vasküler konjesyon ve apikal epitel hücrelerinde kısmi ayrılma şeklinde başlıklar altında toplandı ve

tüm preparatlar incelenerek semikantitatif skorlama yapıldı. Buna bağlı olarak TNBS uygulanan gruptaki ratlarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tüm parametreler açısından hasarın artmış olduğu izlendi (Şekil 4-5).

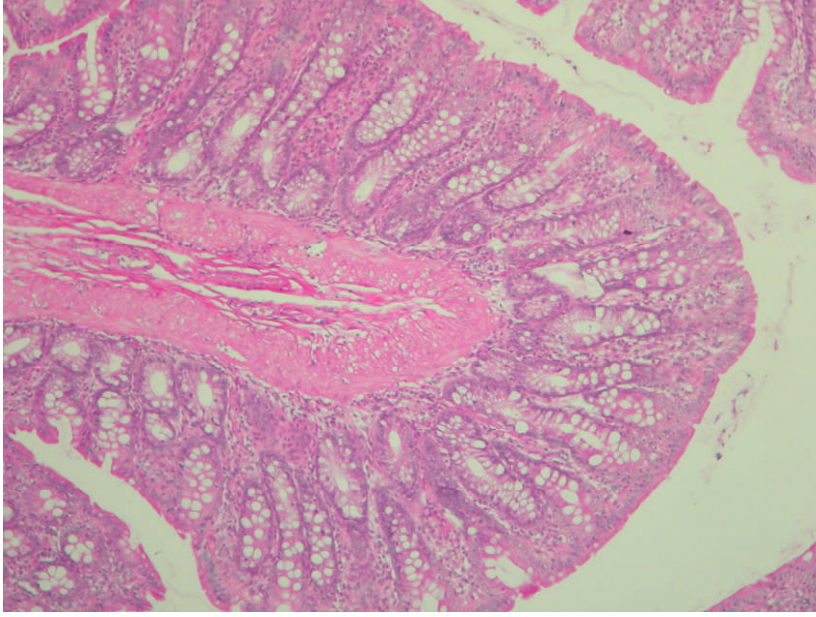


Şekil 4: Kolit grubu (Grup 2). Yüzey epiteli hasarı, ödem, vasküler konjesyon ve lenfosit infiltrasyonu izlenen kolon kesiti. Hematoksilen-Eozin boyama, Orijinal büyütme X 10.



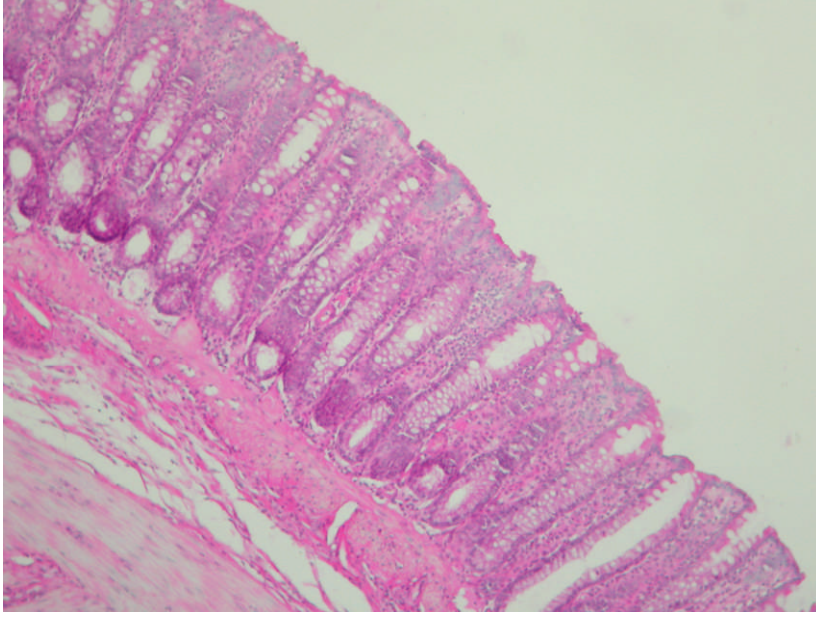
Şekil 5: Kolit grubu (Grup 2). Lenfosit infiltrasyonu, ödem ve vasküler konjesyon izlenen kolon izlenmekte. Hematoksilen-Eozin boyama, Orijinal büyütme X 20.

Kolit oluşturularak CAPE'nin uygulandığı Grup 3'te, TNBS'ye bağlı kolon hasarının CAPE ile hafiflediği, ancak ödem, nekroz, inflamatuvar infiltrasyon, trombozis-vasküler konjesyon ve apikal epitel hücrelerinde kısmi ayrılma yönünden ışık mikroskopik olarak değerlendirilmesine ait skortlama sonuçlarının kolit oluşturulan Grup 2'den istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediği izlendi (Şekil 6).

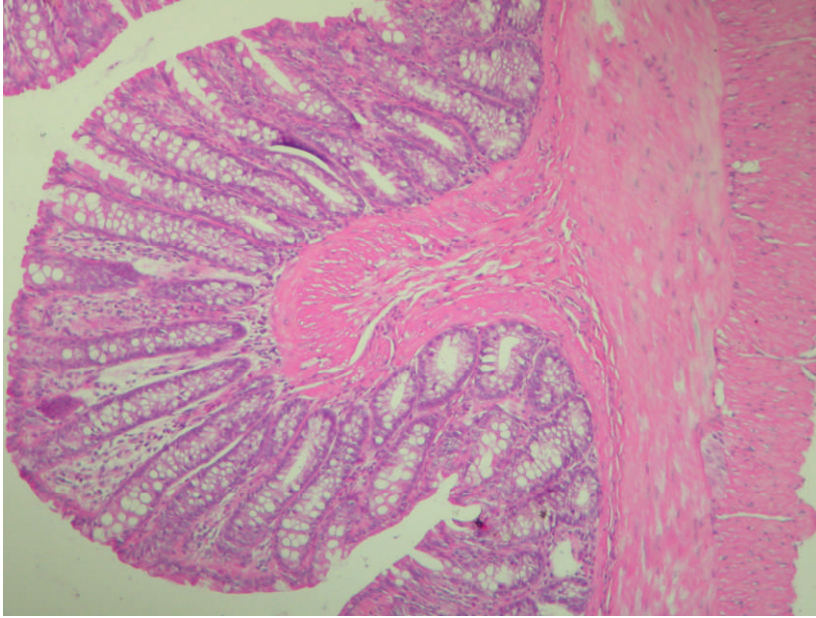


Şekil 6: Kolit oluşturularak CAPE'nin uygulandığı grup (Grup 3). TNBS'ye bağlı kolit hasarında CAPE ile belirgin azalma gösteren kolon kesiti izlenmekte. Hematoksilen-Eozin boyama, Orijinal büyütme X 20.

Kolit oluşturularak 5-ASA'nın uygulandığı Grup 4'de TNBS'ye bağlı kolon hasarının kısmen azaldığı gözlemlendi (Şekil 7). Ödem, nekroz, inflamatuvar infiltrasyon, trombozis-vasküler konjesyon ve apikal epitel hücrelerinde kısmi ayrılma yönünden ışık mikroskopik olarak değerlendirilmesine ait skortlama sonuçlarının kolit oluşturulan Grup 2'den istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediği izlendi.



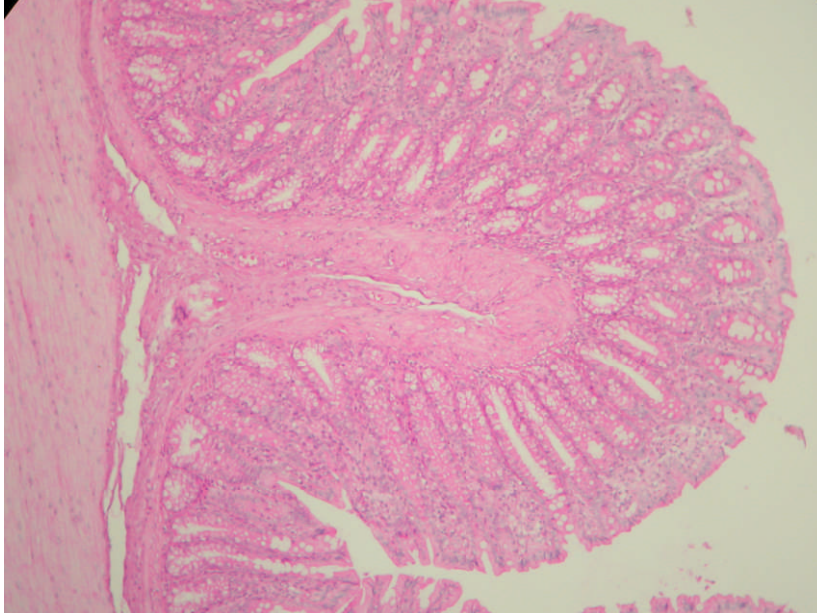
Şekil 7: Kolit oluşturularak 5-ASA'nın uygulandığı grup (Grup 4). TNBS'ye bağlı kolit hasarında 5-ASA ile kısmen azalma gösteren kolonun histolojik görünümü. Hematoksilen-Eozin boyama, Orijinal büyütme X 10.



Şekil 8: Kolit oluşturulmaksızın CAPE'nin uygulandığı grup (Grup 5). Normal görünümde kolon histolojisi izlenmekte. Hematoksilen-Eozin boyama, Orijinal büyütme X 10.

Kolit oluşturulmaksızın CAPE'nin uygulandığı grupta (Grup 5) normal görünümlü kolon yapısı izlendi (Şekil 8).

Kolit oluşturulmaksızın 5-ASA'nın uygulandığı grupta (Grup 6) kısmi ödem dışında normale yakın görünümlü kolon histolojisi izlendi (Şekil 9).



Şekil 9: Kolit oluşturulmaksızın 5-ASA'nın uygulandığı grup (Grup 6). Lamina propriyada apikal yerleşimli ödem izlenen alanlar. Hematoksilen-Eozin boyama, Orijinal büyütme X 10.

4.2. BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME SONUÇLARI

4.2.1.SERUM BİYOKİMYA DEĞERLENDİRME SONUÇLARI

Eritrositte ölçülen GSH-Px ve GSH-Red düzeyleri Tablo 5’de gösterilmiştir.

Yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre; GSH-Px düzeyleri incelendiğinde, kontrol grubu ile kolit oluşturulan grup 2, kolit oluşturularak CAPE'nin ve 5-ASA'nın verildiği grup 3 ve grup 4 ve kolit oluşturulmaksızın CAPE'nin verildiği grup 5 arasında anlamlı fark gözlenmedi. Kolit oluşturulmaksızın 5-ASA'nın verildiği grup 6'da GSH-Px düzeyindeki artış, kontrol grubu (Grup 1) ve kolit oluşturulan grup 2'den belirgin derece farklı idi.

Kolit oluşturulmaksızın CAPE'nin verildiği grup 5 GSH-Px düzeyi ile kolit oluşturan grup 2 arasında da anlamlı farklılık tespit edildi (Tablo V).

Eritrosit GSH-Red değeri incelendiğinde kontrol grubu (Grup 1) ile kolit grubu (Grup 2), kolit oluşturularak CAPE'nin ve 5-ASA'nın verildiği grup 3 ve grup 4 ve kolit oluşturulmaksızın 5-ASA'nın verildiği grup 6 arasında farklılık izlenmezken, kolit oluşturulmaksızın CAPE'nin verildiği grup 5'deki GSH-Red düzeyi artışı kontrol grubundan (Grup 1) anlamlı olarak farklı idi. Kolit grubu (Grup 2) GSH-Red düzeyi incelendiğinde, kolit oluşturularak CAPE'nin ve 5-ASA'nın verildiği grup 3 ve grup 4 ve kolit oluşturulmaksızın CAPE ve 5-ASA'nın verildiği grup 5 ve grup 6 arasında anlamlı farklılık izlendi (Tablo V).

Tablo V: Eritrositte GSH-Px ve GSH-Red, serumda IL-1, TNF- α ve MDA düzeyleri (Ortalama \pm SE)

	GSH-Px nmol/ml/dk	GSH-Rd nmol/ml/dk	IL-1 pg/ml	TNF- α pg/ml	MDA nmol/L
Grup I (n=8)	26,8 \pm 1,8 ^{ab}	15,2 \pm 1,1 ^{ab}	26,3 \pm 1,8 ^a	13,9 \pm 4,9 ^{ac}	14,5 \pm 1,2 ^{ab}
Grup II (n=8)	19,3 \pm 2,6 ^b	6,49 \pm 0,91 ^b	27,0 \pm 1,8 ^{ab}	178,2 \pm 25,3 ^b	24,6 \pm 1,1 ^a
Grup III (n=8)	30,4 \pm 0,99 ^{abc}	27,2 \pm 1,4 ^{ac}	8,86 \pm 1,4 ^c	42,9 \pm 8,9 ^{ab}	8,22 \pm 2,7 ^{bc}
Grup IV (n=8)	29,6 \pm 1,6 ^{abc}	26,1 \pm 0,82 ^{ac}	9,78 \pm 1,0 ^{bc}	13,9 \pm 2,6 ^{ac}	7,32 \pm 0,80 ^{bc}
Grup V (n=8)	32,9 \pm 1,7 ^{ac}	33,1 \pm 2,9 ^c	10,0 \pm 0,85 ^{abc}	5,18 \pm 0,44 ^c	5,77 \pm 0,37 ^{bc}
Grup VI (n=8)	40,0 \pm 1,5 ^c	25,1 \pm 1,1 ^{ac}	5,02 \pm 0,50 ^c	18,4 \pm 2,2 ^{abc}	5,00 \pm 0,19 ^c
P Değeri	=0.001	=0.001	=0.001	=0.001	=0.001

Not: Gruplarda yer alan farklı harfler arasında istatistiksel anlamlı fark mevcuttur. Tek Yönlü Varyans Analizi, Tukey HSD testi kullanıldı. P<0.05 istatistiksel anlamlı olarak değerlendirildi.

Serumda ölçülen IL-1, TNF- α , MDA düzeyleri Tablo V'de gösterilmiştir.

Serum IL-1 değeri incelendiğinde, kontrol grubu (Grup 1) ile kolit oluşturularak CAPE'nin ve 5-ASA'nın verildiği grup 3 ve grup 4 ve kolit oluşturulmaksızın 5-ASA'nın verildiği grup 6 arasında farklılık izlendi. Kolit grubundaki (Grup 2) serum IL-1'deki artış, kolit oluşturularak CAPE'nin verildiği grup 3 ve kolit oluşturulmaksızın 5-ASA'nın verildiği grup 6 arasında anlamlı farklı idi (Tablo V).

Serum TNF- α değerleri incelendiğinde, kontrol grubu (Grup 1) ile kolit grubu (Grup 2) arasında anlamlı farklılık izlenirken, diğer tüm gruplarla arasında farklılık yoktu. Kolit grubundaki (Grup 2) serum TNF- α artışı, ile kolit oluşturularak 5-ASA'nın ve kolit oluşturulmaksızın CAPE'nin verildiği grup 4 ve grup 5 arasında belirgin anlamlı fark gözlemlendi (Tablo V).

Serum MDA değeri incelendiğinde, kontrol grubu (Grup 1) ile sadece kolit oluşturulmaksızın 5-ASA'nın verildiği grup 6 arasında anlamlı fark varken, diğer gruplarla farklılık gözlemlenmedi. Kolit grubu (Grup 2) serum MDA düzeyi ile kolit oluşturularak CAPE'nin ve 5-ASA'nın verildiği gruplar (grup 3 ve grup 4) ve kolit oluşturulmaksızın CAPE'nin ve 5-ASA'nın verildiği gruplar (grup 5 ve grup 6) arasında belirgin anlamlı farklılık izlendi (Tablo V).

4.2.2. DOKU BİYOKİMYA DEĞERLENDİRME SONUÇLARI

Kolon dokusunda ölçülen GSH-Px, GSH-Red, IL-1, TNF- α ve MDA düzeyleri Tablo VI'da gösterilmiştir.

Tablo VI: Dokuda GSH-Px, GSH-Red, IL-1, TNF- α ve MDA düzeyleri (Ortalama \pm SE)

	GSH-Px nmol/ml/dk	GSH-Rd nmol/ml/dk	IL-1 pg/ml	TNF- α pg/ml	MDA nmol/L
Grup I (n=8)	1795,8 \pm 364,4 ^a	346,3 \pm 95,2 ^a	30,8 \pm 5,8 ^a	11,2 \pm 1,4 ^a	0,81 \pm 0,11 ^{ab}
Grup II (n=8)	1988,2 \pm 522,8 ^a	344,6 \pm 97,8 ^a	77,3 \pm 17,0 ^b	43,5 \pm 5,9 ^b	2,17 \pm 0,21 ^a
Grup III (n=8)	3716,7 \pm 563,8 ^{ab}	1514,3 \pm 48,8 ^b	13,5 \pm 2,3 ^a	12,2 \pm 1,2 ^a	0,57 \pm 0,17 ^b
Grup IV (n=8)	5361,8 \pm 539,9 ^b	1143,8 \pm 445,9 ^{ab}	17,8 \pm 1,3 ^a	10,3 \pm 1,4 ^a	1,02 \pm 0,79 ^{ab}
Grup V (n=8)	4119,0 \pm 904,7 ^{ab}	2490,1 \pm 541,0 ^b	8,39 \pm 1,7 ^a	11,5 \pm 1,1 ^a	0,54 \pm 0,08 ^b
Grup VI (n=8)	3587,8 \pm 742,4 ^{ab}	1705,7 \pm 182,1 ^b	15,3 \pm 2,0 ^a	11,3 \pm 1,1 ^a	0,70 \pm 0,10 ^b
P Değeri	=0,002	=0,000	=0,000	=0,000	=0,000

Not: Gruplarda yer alan farklı harfler arasında istatistiksel anlamlı fark mevcuttur.

Tek Yönlü Varyans Analizi, Tukey HSD testi kullanıldı. P<0.05 istatistiksel anlamlı olarak değerlendirildi.

Yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre; doku GSH-Px değeri incelendiğinde, kontrol grubu (Grup 1) ile kolit oluşturularak 5-ASA'nın verildiği grup 4 arasında anlamlı fark olduğu gözlemlendi. Kontrol grubu ile diğer gruplar arasında belirgin fark yoktu. Kolit grubu (Grup 2) GSH-Px değerindeki azalma ile kolit oluşturularak 5-ASA'nın verildiği grup 4 arasında anlamlı fark olduğu gözlemlenirken, diğer gruplar ile farklılık tespit edilmedi. Diğer grupların doku GSH-Px değeri yönünden ikili karşılaştırmalarında, gruplar arasında anlamlı farklılığa rastlanmadı (Tablo VI).

Doku GSH-Red değeri incelendiğinde, kontrol grubu (Grup 1) ile kolit oluşturularak CAPE'nin verildiği grup 3 ve kolit oluşturulmaksızın CAPE'nin ve 5-ASA'nın verildiği gruplar (grup 5 ve grup 6) arasında belirgin anlamlı farklılık izlendi. Kontrol grubu (Grup 1) ile kolit grubu (Grup 2) ve kolit oluşturularak 5-ASA'nın verildiği grup 4 arasında farklılık gözlemlenmedi. Kolit grubu (Grup 2) GSH-Red değerindeki azalma ile kolit oluşturularak CAPE'nin verildiği grup 3 ve kolit oluşturulmaksızın CAPE'nin ve 5-ASA'nın verildiği gruplar (grup 5 ve grup 6) arasında belirgin anlamlı farklılık izlendi (Tablo VI).

Doku IL-1 değerleri incelendiğinde, kolit grubu (Grup 2) ile diğer tüm gruplar arasında belirgin anlamlı fark izlendi. Kontrol grubu (Grup 1) doku IL-1 düzeyi ile kolit oluşturularak CAPE'nin ve 5-ASA'nın verildiği gruplar (grup 3 ve grup 4) ve kolit oluşturulmaksızın CAPE'nin ve 5-ASA'nın verildiği gruplar (grup 5 ve grup 6) arasında farklılık gözlemlenmedi. Diğer grupların doku IL-1 değeri yönünden ikili karşılaştırmalarında, gruplar arasında anlamlı farklılığa rastlanmadı (Tablo VI).

Doku TNF- α değerleri incelendiğinde, kolit grubu (Grup 2) ile diğer tüm gruplar arasında belirgin anlamlı fark izlendi. Kontrol grubu (Grup 1) doku TNF- α düzeyi ile kolit oluşturularak CAPE'nin ve 5-ASA'nın verildiği gruplar (grup 3 ve grup 4) ve kolit oluşturulmaksızın CAPE'nin ve 5-ASA'nın verildiği gruplar (grup 5 ve grup 6) arasında farklılık gözlemlenmedi. Diğer grupların doku TNF- α değeri yönünden ikili karşılaştırmalarında, gruplar arasında anlamlı farklılığa rastlanmadı (Tablo VI).

Doku MDA değerleri incelendiğinde, kontrol grubu (Grup 1) ile diğer tüm gruplar arasında belirgin anlamlı fark gözlenmedi. Kolit grubu (Grup 2) ile kolit oluşturularak CAPE'nin verildiği grup 3 ve kolit oluşturulmaksızın CAPE'nin ve 5-ASA'nın verildiği gruplar (grup 5 ve grup 6) arasında belirgin anlamlı farklılık izlendi. Kolit grubu (Grup 2) ile kolit oluşturularak 5-ASA'nın verildiği grup 4 arasında MDA dzyi yönünden farklılık yoktu. Diğer grupların doku MDA değeri yönünden ikili karşılaştırmalarında, gruplar arasında anlamlı farklılığa rastlanmadı (Tablo VI).

5. TARTIŞMA

Deneysel kolit modeli için kullanılan ajanlar trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS), asetik asit, dextran sülfat sodyum, iodoacetamid gibi normal mukoza üzerine çeşitli oranlarda irritatif etkileri görülen genelde asit PH'ya sahip ajanlardır (103). Trinitro-benzen sülfonik asid (TNBS) ile oluşturulan kolit modeli hapten ile indüklenmiş gecikmiş tip hipersensitivite sonrası oluşan kronik bir inflamasyon ve ülserasyon modelidir (76). Mukozal bariyer kırılarak doza bağımlı olarak ülserasyon ve inflamasyon gelişir. Ülserasyon ve barsak duvarında kalınlaşma yaklaşık 8 hafta kadar devam ettiğinden bu model kronik kolit oluşması istendiğinde tercih edilmektedir. Histolojik olarak mukoza ve submukozada PMNL, makrofaj, lenfosit, bağ dokusu mast hücreleri ve fibroblastlardan oluşmuş inflamatuvar cevap mevcuttur (76). Segmental ülserasyon ve inflamasyon sıklıdır. Yapılmış bir çalışmada etonolde çözülmüş TNBS ile oluşturulmuş kolitteki mukozal lezyonlar anüler ya da longitudinal ülserler, lenfosit infiltrasyonu, granülomlardan oluştuğundan bu modelin insandaki CH'nin makroskopik ve mikroskopik bulgularına benzer olduğu tespit edilmiştir (104). Biz de çalışmamızda CAPE'nin İBH üzerine olan etkinliğini İBH hastalarının tedavisinde yeri bulunan 5-ASA ile birlikte TNBS koliti modelinde araştırdık.

Histopatolojik olarak kolonik kesitlerde ödem, nekroz, inflamatuvar infiltrasyon, trombozis-vasküler konjesyon ve apikal epitel hücrelerinde kısmi ayrılmanın şiddet ve yaygınlığı açısından yapılan değerlendirmede kolit grubu (Grup 2) ile kolit oluşturularak CAPE ve 5-ASA verildiği gruplar (Grup 3 ve Grup 4) arasında anlamlı fark olmadığı gözlemlendi. Kontrol grubu (Grup 1) ile kolit oluşturulmaksızın CAPE ve 5-ASA'nın verildiği grup 5 ve grup 6'da tüm histopatolojik değerlendirme parametrelerinde anlamlı fark gözlenmedi. Kolit oluşturulan grup 2 ile kolit oluşturulmaksızın CAPE'nin verildiği grup 5'te anlamlı fark izlenirken, kolit oluşturulan grup 2 ile kolit oluşturulmaksızın 5-ASA'nın verildiği grup 6 arasında yine tüm histopatolojik parametrelerde fark olmadığı izlendi. Bu durumun, kullanılan ajanın uygulama yerindeki farklılığına

bağlı olabileceği gibi ve/veya ilaç yan etkilerinden de kaynaklanmış olabileceği düşünüldü.

İnflamatuvar Barsak Hastalığının etyolojisinde genetik, çevresel, immünolojik ve infeksiyöz nedenler üzerinde durulmuş ancak genel olarak etyolojisinin multifaktoriyel olduğu kanaati değişmemiştir. Etyolojisi belirgin olmamasına rağmen İBH, ağırlıklı olarak medikal tedavi yaklaşımına iyi yanıt vermektedir. Şu an uygulamada olan medikal tedavide en önemli yeri glukokortikoidler ve aminosalisilatlar almaktadır (7,8). Aminosalisilat grubu ilaçlar, tromboksan ve lipooksijenaz sentezi yollarına etki ederek araziidonik asit oluşumunu engelleyerek antiinflamatuvar etkinlik gösterirler (11). İBH'nin önlenmesinde birçok antioksidan ajan denenmiş ve antioksidan ajanların İBH'nin önlenmesinde etkili olabileceği yönünde sonuçlar alınmıştır (105,106). Antiinflamatuvar, antifungal, antimikrobik ve immünomodülatör özelliklerinin yanında antioksidan özelliğide olduğu öne sürülen ve literatürde bu özellikleri yönünde sıkça rastladığımız bir başka ajanda CAPE'dir. CAPE'nin antioksidan özelliği muhtemelen yapısındaki iki hidroksil grubundan kaynaklanmaktadır. CAPE'nin İBH tedavisinde etkili olmasının muhtemel mekanizmaları; SOR oluşumunun azaltılması, iskemi ve toksik etkiler sonucu ortaya çıkan lipid peroksidasyonunun baskılanması olabilir.

İnflamatuvar Barsak Hastalığında oksidatif metabolizma etkili olduğundan, son yıllarda dikkatler serbest radikaller üzerinde yoğunlaşmıştır. Uyarılmış hücrelerden SOR salınımındaki artış İBH olan hastaların biopsi örneklerinde gösterilmiştir (107,108). İntraselüler veya ekstraselüler kaynaklı SOR, lipid peroksidasyonuna neden olarak lipid peroksit radikalleri oluşturur. Bunlar da inflamasyonun oluşumunda önemli rol oynamaktadır (57). Antioksidanlar SOR'un zararlı etkilerinden koruyucu bileşiklerdir. En önemli enzimatik antioksidanlar CAT, SOD, GSH-Px'dir. İnflamatuvar süreçte SOR'un oluşturduğu hasara karşı direncin artmasında rol oynarlar. Deneysel kolit modelinde mukozadaki antioksidan aktivitede azalma görülmüştür (109). İBH'de salınan SOR, kolonun inflamasyonu sırasında endojen antioksidan sistemi bozarak

oksidatif hasarlanmaya yol açar. ÜK'li hastalarda antioksidan seviyelerinin azaldığı rapor edilmiştir (104).

GSH-Px, fagositik hücrelerin zarar görmesini önleyen, bilhassa eritrositlerde oksidan strese karşı en etkili koruma sağlayan antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma şiddetli hücre hasarına yol açar. Buffington ve ark., yaptıkları çalışmada İBH'de GSH, urat gibi antioksidanların azaldığını tespit etmişlerdir (110). Yapılan çalışmalarda CAPE uygulaması ile nötrofillerde SOR oluşumu ve ksantin/ksantin oksidaz sisteminin bloke edildiği gösterilmiştir (99). TNBS ile oluşturduğumuz kolit modelinde, eritrosit GSH-Px değerleri incelendiğinde; kolit grubunda (Grup 2) GSH-Px değerinin diğer tüm gruplara göre azalmasına rağmen sadece kolit oluşturulmaksızın CAPE ve 5-ASA'nın verildiği grup 5 ve grup 6 ile istatistiksel anlamlı fark izlendi. Diğer grupların ikili karşılaştırılmasında hiçbirinde anlamlı fark gözlenmedi. Doku GSH-Px değerleri incelendiğinde; kolit grubu (Grup 2) GSH-Px değerindeki azalma ile kolit oluşturularak 5-ASA'nın verildiği grup 4 arasında anlamlı fark olduğu gözlenirken, diğer gruplar ile farklılık tespit edilmedi. Diğer grupların doku GSH-Px değeri yönünden ikili karşılaştırmalarında, gruplar arasında anlamlı farklılığa rastlanmadı. Eritrosit GSH-Red değerleri incelendiğinde; kolit grubu (Grup 2) ile kolit oluşturularak CAPE'nin ve 5-ASA'nın verildiği grup 3 ve grup 4 ve kolit oluşturulmaksızın CAPE ve 5-ASA'nın verildiği grup 5 ve grup 6 arasında anlamlı farklılık izlendi. Doku GSH-Red değeri incelendiğinde, kontrol grubu (Grup 1) ile kolit oluşturularak CAPE'nin verildiği grup 3 ve kolit oluşturulmaksızın CAPE'nin ve 5-ASA'nın verildiği gruplar (grup 5 ve grup 6) arasında belirgin anlamlı farklılık izlendi. Kolit grubu (Grup 2) GSH-Red değerindeki azalma ile kolit oluşturularak CAPE'nin verildiği grup 3 ve kolit oluşturulmaksızın CAPE'nin ve 5-ASA'nın verildiği gruplar (grup 5 ve grup 6) arasında belirgin anlamlı farklılık izlendi. GSH-Px ve GSH-Red'in oluşturulan kolit modelinde oksidatif strese karşı antioksidan etkinliğinin azaldığı, CAPE ve 5-ASA'nın, GSH-Px ve GSH-Red aktivitesini artırarak, hücrenin oksidan hasarını azaltabileceği düşünülmüştür.

TNF- α ve IL 1 gibi sitokinlerin İBH'nin etyolojisinde etkili olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. TNF- α , İBH'deki inflamatuvar süreçte rol alan en önemli sitokinlerden biridir (111,112). TNF- α 'nın sıçanlara verilmesi ile sıçanlarda vazokonjesyon, lökosit marjinasyonu ve doku hasarı oluştuğu ve bu etkilerin özellikle gastrointestinal sistemde çok belirgin olduğu gösterilmiştir (113). TNF- α endotel hücrelerinden Prostaglandin I2, Prostaglandin E2 ve Platelet aktivasyon faktörü (PAF) sentez ve sekresyonunu artırarak doku hasarına yol açmaktadır (114). Neilly ve arkadaşları TNBS kolitinde plazma TNF- α seviyelerinin yükselmediğini bildirmişlerdir (115). Ancak birçok yayında ratlarda oluşturulan kolitte ve İBH'de serum TNF- α düzeyleri normale göre artmış olarak tespit edilmiştir (116,117). Guimbaud ve ark.'ın yaptıkları çalışmada; ÜK'de 4 proinflamatuvar sitokin (IL-1, TNF- α , IL-6 ve IL-8) üretiminin arttığı tespit edilmiştir (118). Biz çalışmamızda TNF- α ve IL-1'in serum düzeyleri yanında, inflamasyonun direk olarak görüldüğü kolon dokusundaki konsantrasyonlarını da değerlendirdik. Serum IL-1 düzeyleri incelendiğinde, kontrol grubu (Grup 1) ile kolit oluşturularak CAPE'nin ve 5-ASA'nın verildiği grup 3 ve grup 4 ve kolit oluşturulmaksızın 5-ASA'nın verildiği grup 6 arasında farklılık izlendi. Kolit grubundaki (Grup 2) serum IL-1 düzeyindeki artış, kolit oluşturularak CAPE'nin verildiği grup 3 ve kolit oluşturulmaksızın 5-ASA'nın verildiği grup 6 arasında anlamlı farklı idi. Serum TNF- α düzeyleri incelendiğinde, kolit grubundaki (Grup 2) serum TNF- α artışı ile kontrol grubu (Grup 1), kolit oluşturularak 5-ASA'nın ve kolit oluşturulmaksızın CAPE'nin verildiği grup 4 ve grup 5 arasında belirgin anlamlı fark gözlemlendi.

Kolit grubunun (Grup 2) kolon dokusu TNF- α ve IL-1 düzeylerinde artış gözlemlendi ve diğer tüm gruplarla arasında anlamlı fark görüldü. Dolayısıyla intramusküler yolla verdiğimiz CAPE'nin kolon mukozasında etkili olarak, proinflamatuvar sitokin olan TNF- α etkisini ASA'ya benzer şekilde önlediği kabul edilebilir. Kolon dokusunda yapılan TNF- α ve IL-1 ölçümlerinde kolit grubunda belirgin bir yükselme, CAPE ve 5-ASA gruplarında ise önemli ölçüde azalma görülmesi, bu proinflamatuvar sitokinlerin serum düzeyleri yanında,

inflamasyonun direk olarak görüldüğü kolonik doku konsantrasyonlarının da gözardı edilmemesi gerektiğini düşündürmektedir.

MDA artışı dokularda lipit peroksidasyon seviyesini yansıtmaktadır ve hasarlı dokunun bir belirteci olarak göz önüne alınmaktadır (119). Aktive nötrofiller dolaşımdan ayrılarak akut inflamasyonda barsağın mukoza ve submukozasına girerek barsağın hasarlanmasına katkıda bulunabilen lipit mediatörleri, laktoferrin proteazlar, reaktif oksijen ve nitrojen türevlerinin aşırı üretimine neden olur. Bazı çalışmalarda, İBH olan hastalarda antioksidan ve antienflamatuvar ajanlara bağlı olarak MDA düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir (120,121). Örneğin CAPE'nin hidroksil radikallerini temizlemesi sonucunda lipit peroksidasyon inhibisyonu yaptığı, böylece doku ve serum MDA seviyelerini azalttığı düşünülmektedir (94,99). Benzer şekilde çalışmamızda da, kolit grubu (Grup 2) serum MDA düzeyi ile kolit oluşturularak CAPE'nin ve 5-ASA'nın verildiği gruplar (grup 3 ve grup 4) ve kolit oluşturulmaksızın CAPE'nin ve 5-ASA'nın verildiği gruplar (grup 5 ve grup 6) arasında belirgin anlamlı farklılık izlendi. Doku MDA düzeyi değerlendirmesinde, kolit grubu (Grup 2) ile kolit oluşturularak CAPE'nin verildiği grup 3 ve kolit oluşturulmaksızın CAPE'nin ve 5-ASA'nın verildiği gruplar (grup 5 ve grup 6) arasında belirgin anlamlı farklılık izlenirken, kolit oluşturularak 5-ASA'nın verildiği grup 4 arasında MDA düzeyi yönünden farklılık yoktu. Bu bağlamda çalışmamızdaki, MDA aktivitesinin inhibe edilmesi, kolonik inflamasyon ve hasarın azalmasına neden olan lipit peroksidasyonundaki azalmayı göstermektedir.

6. SONUÇLAR

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlarda, TNBS ile kolit oluşturularak CAPE uygulanan grupta, mikroskopi ve antioksidan değerleri açısından TNBS ile kolit oluşturulan gruba göre inflamatuvar göstergelerde oldukça anlamlı sonuçlar elde edilmiş ve literatürde proinflamatuvar sitokinler üzerine etkili olduğu bildirilen CAPE'nin etkinliğini destekler nitelikte sonuçlar alınmıştır.

CAPE'nin bugüne kadar antimikrobiyal, antienflamatuvar, antioksidan ve antitümöral etkisi olduğuna dair birçok yayın bulunmaktadır. Ancak bu etkilerin kolit tedavisindeki yeri hakkında sınırlı sayıda yazı mevcuttur. Bu çalışma ile CAPE'nin kolite etkilerinin olduğu bir kez daha vurgulanmış olup, TNBS ile intramusküler olarak eş zamanlı verildiği sürece oluşmuş koliti geriletebildiği görülmüştür.

CAPE, TNBS ile oluşturulan deneysel kolit modelinde; halen günümüzde İBH tedavisinde kullanılmakta olan 5-ASA ile benzer histolojik düzelme sağlamıştır.

Antienflamatuvar ve antioksidan olan CAPE, TNBS ile oluşturulan barsak enflamasyonunun şiddetini azaltır, enflame barsak dokusunda antioksidan etkinliği artırır.

Tüm bu elde edilen sonuçlarla, CAPE'nin etkili bir antienflamatuvar ve antioksidan ajan olarak etkili olduğu tespit edilmiş olup; bu çalışmanın kolit modeliyle gerçekleştirilecek çalışmalara yol göstereceğini ümit etmekteyiz.

Sonuç olarak TNBS belirgin kolit oluşturan bir ajandır. CAPE, etki mekanizması tam olarak ortaya konamamış olsa da oluşmuş koliti geriletken doğal bir üründür. Halen günümüzde İBH tedavisinde kullanılmakta olan 5-ASA ile benzer etkileri görülmüştür. Bu çalışmayla, CAPE'nin insanlarda da benzer mekanizmalarla kolit tedavisinde kullanılabileceği ümidi oluşmaktadır.

7. ÖZET

TRİNİTRO BENZEN SULFONİK ASİD İLE KOLİT OLUŞTURULAN FARELERDE CAFFEİC ACİD PHENETHYL ESTER'İN KORUYUCULUĞU

Giriş: Bu çalışmanın amacı trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) ile inflamatuvar barsak hastalığı (İBH) oluşturulan Sprague Dawley sıçanlarında caffeic acid phenethyl ester (CAPE)'in etkilerini araştırmaktır.

Materyal-Metod: Sprague Dawley sıçanlardan 48'i rastgele 6 gruba ayrıldı. Sırasıyla; kontrol, kolit, CAPE tedavi, aminosalicilyc acid (ASA) tedavi, CAPE ve ASA kontrol. Rektal yolla verilen TNBS ile İBH oluşturuldu.Yedi günlük CAPE veya ASA uygulananı sonrasında histolojik ve biyokimyasal olarak dokularda ve serumda; Malondialdehit (MDA), Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), Glutasyon redüktaz (GSH-Red), Tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) ve İnterlökin-1 (IL-1) çalışıldı. CAPE ve ASA'nın etkileri değerlendirildi.

Bulgular: Histolojik hasar skorlarına göre kolit ve kontrol grupları arasında anlamlı fark oluştu. Kolit oluşturularak CAPE ve ASA uygulanan grupların kolon hasarı kolit grubu kadar olmasa da fark anlamlı değildi. Biyokimyasal analizlere göre; MDA seviyesi incelendiğinde, kolit grubu ile diğer tüm gruplar arasında anlamlı fark gözlenirken, kolit grubu doku MDA düzeyi ile kolit oluşturularak 5-ASA'nın verildiği grup arasında anlamlı fark gözlenmedi. Doku IL-1 değeri incelendiğinde, kolit grubu ile diğer tüm gruplar arasında anlamlı fark gözlendi. Doku TNF- α değerleri incelendiğinde, kolit grubu ile diğer tüm gruplar arasında anlamlı fark gözlendi. Serum TNF- α değerleri incelendiğinde, kolit grubu ile kolit oluşturularak CAPE'nin verildiği grup arasında anlamlı fark izlenmezken, diğer gruplarla anlamlı farklılık gözlendi. GSH-Px değeri incelendiğinde kolit grubu ile kolit oluşturularak 5-ASA'nın verildiği grup arasında anlamlı fark izlenirken diğer gruplarla anlamlı fark gözlenmedi. GSH-Red değeri incelendiğinde kolit grubu ile

kontrol grubu arasında anlamlı fark izlenmezken, kolit grubu ile diğer tüm gruplar arasında anlamlı fark olduğu gözlemlendi.

Sonuç: CAPE ASA'ya benzer şekilde İBH tedavisinde olumlu etkiler gösterdiğinden İBH tedavisinde ek olarak kullanılabilir. CAPE'nin bu olumlu etkileri muhtemelen antiinflatuar ve antioksidan etkileri sayesinde olmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Deneysel kolit, Caffeic Acid Phenethyl Ester, 5-ASA

8. SUMMARY

THE PREVENTIVE EFFECTS OF CAFFEIC ACID PHENETHYL ESTER ON RATS WITH TRINITROBENZENE SULFONIC ACID INDUCED COLITIS

Purpose: The aim of this study was to investigate the effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on the development of inflammatory bowel disease (IBD) in Sprague Dawley rats subjected to trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-induced colitis.

Material and methods: Forty eight Sprague Dawley rats were divided into six subgroups randomly. Vehicle control, colitis control, CAPE treatment, aminosalicic acid (ASA) treatment, CAPE control, ASA control, respectively. Colitis was induced using an enema of TNBS and ethanol, following which CAPE or ASA were administered for 7 days to induce colitis and effect of CAPE and ASA were subsequently evaluated. Microscopic damage was scored. Malondialdehyde (MDA), Glutathione peroxidase (GSH-Px), Glutathione reductase (GSH-Red), Tumor necrosis factor alpha (TNF- α) and interleukin-1 (IL-1) were examined in tissue and serum samples.

Results: Based on microscopic damage scores, there was significant difference between rats of the TNBS colitis and the vehicle-treated groups, whereas treatment with CAPE and ASA, respectively, caused a reduction (but not statistically significant) in colon injury compared to that observed in rats of the TNBS-colitis. In connection with the biochemical analyses, malondialdehyde level in rats from the colitis was significantly different from that of the others but tissue malondialdehyde level in rats from the colitis was not different from that of the ASA treatment group. Tissue IL-1 levels in rat from the colitis group was significantly different from that of the others. Serum IL-1 level in rat from the colitis group was significantly different from that of the others except for CAPE treatment group. GSH-Px level in rat from the colitis group was significantly

different from that of the 5-ASA treatment group only. A GSH-Red level in rats from the colitis group was significantly different from that of the others except for vehicle control group.

Conclusion: CAPE may have a positive effect on the IBD treatment process like ASA and therefore, it could be used as an adjunct therapy in colitis. These effects of CAPE may occur via antiinflammatory and antioxidant mechanisms.

Key Words: Experimental colitis, Caffeic Acid Phenethyl Ester, 5-ASA

9. KAYNAKLAR

1. Mendeloff AI, Calkins BM. The epidemiology of idiopathic inflammatory bowel disease. In: Kirsner JB, Shorter RG eds. *Inflammatory Bowel Disease*, 4th ed. Philadelphia: Lea and Febiger, 1995: 31-39.
2. Benett RA, Rubin PH, Present DH. Frequency of inflammatory bowel disease in offspring of couples both presenting with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1991; 100: 1638-1642.
3. Targan SR, Hanauer SB, Van Deventer SJ, Mayer L, Present DH, Braakman T. A short-term study of chimeric monoclonal antibody cA2 to tumor necrosis factor alpha for Crohn's disease. Crohn's Disease cA2 Study Group. *N Engl J Med* 1997; 337: 1029-1035.
4. Gornet J.M, Couve S, Hassani Z, Delchier J.C, Marteau P, Cosnes J, Bouhnik Y, Dupas J.L, Modigliani R, Taillard F, Lemann M. Infliximab for refractory ulcerative colitis or indeterminate colitis: an open-label multicentre study. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 18: 175-181.
5. Sartor R. Current concepts of the etiology and pathogenesis of ulcerative colitis and Crohn's disease. *Gastroent Cl North America* 1995; 24: 475-507.
6. Sartor R, Bond T, Schwab J. Systemic uptake and intestinal inflammatory effects of luminal bacterial cell wall polymers in rats with acute colonic injury. *Infection and Immunity* 1988; 56: 2101-2108.
7. Malchow H, Ewe K, Brandes JW, Goebell H, Ehms H, Sommer H, Jesdinsky H. European Cooperative Crohn's Disease Study (ECCDS): results of drug treatment. *Gastroenterology* 1984; 86: 249-266.
8. Hanauer, S.B, Dose-ranging study of mesalazine (PENTASA) enemas in the treatment of acute ulcerative proctosigmoiditis: results of a multicentered placebo-controlled trial. The U.S. PENTASA Enema Study Group. *Inflamm Bowel Dis* 1998; 4: 79-83.
9. Markowitz J, Grancher K, Kohn N, Lesser M, Daum F. A multicenter trial of 6-mercaptopurine and prednisone in children with newly diagnosed Crohn's disease. *Gastroenterology* 2000; 119: 895-902.

10. Egan, L.J, Sandborn W.J, Tremaine W.J. Clinical outcome following treatment of refractory inflammatory and fistulizing Crohn's disease with intravenous cyclosporine. *Am J Gastroenterology* 1998; 93: 442-448.
11. Gaginella, T.S, Walsh R.E. Sulfasalazine. Multiplicity of action. *Dig Dis Sci* 1992; 37: 801-812.
12. Banskota AH, Tezuka Y, Kadota S. Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytother Res.* 2001;15: 561-571.
13. Ozer MK, Parlakpınar H, Acet A. Reduction of ischemia-reperfusion induced myocardial infarct size in rats by caffeic acid phenethyl ester (CAPE). *Clin Biochem* 2004; 37: 702-705.
14. Kaymakoğlu S. İnflamatuvar Barsak Hastalıkları. ed. Gastroentero-hepatoloji, Nobel Tıp Kitabevi. İstanbul: 2001; 189-211
15. Gilat T, Grossman A, Fireman Z, Rozen P. İnflammatory bowel disease in jews. In: McConnell R, Rozen R, Langman M, Gilat T, eds. The genetics and epidemiology of inflammatory bowel disease. New York: Karger, 1986: 84-88.
16. Irvine E.J. A critical review of epidemiologic studies in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36:2-15.
17. Retsky JE, Kraft SC. The extraintestinal manifestations of in inflamatory bowel disease. In: Shorter EG (ed), *Inflamatory Bowel Diease* Williams and Wilkins, Baltimore: 1995; 474-491
18. Devecioğlu S, Şen D, Tufan T. Ülseratif kolit. İstanbul: Temel Cerrahi, 1996; 1124-1133
19. Weterman IT, Pena AS. Familial incidence of Crohn's disease in the Netherlands and a review of the Literature. *Gastroenterology* 1984; 86: 449-452
20. Tysk C, Lindberg E, Jarnerot G, Floderus-Myrhed B. Ulcerative colitis and Crohn's disease in an unselected population of monozygotic an dizygotic twins: a study of heritability and the influence of smoking. *Gut* 1988; 29: 990-996

21. Gonzalez R, Medina F.S, Martinez-Augustin O, Nieto A, Galvez J, Risco S, Zarzuelo A. Anti-inflammatory effect of diosmectite in hapten-induced colitis in the rat. *British J Pharmacol* 2004; 141:951-960.
22. Elson CO. Commensal bacteria as targets in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2000; 119: 254-257
23. Sartor RB. Pathogenesis and immune mechanisms of chronic inflammatory bowel diseases. *Am J Gastroenterol* 1997; 92: 5-11
24. Duchmann R, May E, Heike M, Knoille P, Neurath M, Buschenfelde KH. T cell specificity and cross reactivity towards enterobacteria, bacteroides, bifidobacterium, and antigens from resident intestinal flora in humans. *Gut* 1999; 44: 812-818
25. Ardizzone S, Bianchi Porro G. Inflammatory bowel disease: new insights into pathogenesis and treatment. *J Int Med* 2002; 252: 475-496
26. Boirivant M, Marini M, Di Felice G. Lamina propria T cell in Crohn's disease and other gastrointestinal inflammation show defective CD2 pathway-induced apoptosis. *Gastroenterology* 1999; 116: 557-565
27. Shanahan F. Crohn's disease. *Lancet* 2002; 359: 62-69
28. Shanahan F. Inflammatory bowel disease: immunodiagnostics, immunotherapeutics and eotherapeutics. *Gastroenterology* 2001; 120: 622-635
29. İşler M. İnflamatuvar barsak hastalığı ve probiyotikler. *Güncel Gastroenteroloji*, 2005; 135
30. Swidsinski A, Ladhoff A, Pernthaler A, Swidsinski S, Loening-Baucke V, Ortner M, Weber J, Hoffmann U, Schreiber S, Dietel M, Lochs H. Mucosal flora in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2002; 122: 44-54
31. Sartor R.B. Microbial factors in the pathogenesis of Crohn disease, ulcerative colitis and experimental intestinal inflammation. In: *Inflammatory bowel disease*. Kirsner J.B. ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 1999; 153-178

32. Both H, Torp-Pedersen K, Kreiner S, Hendriksen C, Binder V. Clinical appearance at diagnosis of ulcerative colitis and Crohn's disease in a regional patient group. *Scand J Gastroenterol* 1983;18:987-991
33. William F Stenson. Inflammatory bowel disease. In: Yamada T. ed. *Textbook of Gastroenterology*. Lippincott Williams&Wilkins. Philadelphia: 1999; 1699-1759
34. Tribl B, Turetschek K, Mostbeck G, Schneider B, Stain C, Potzi R, Gangla A, Vogelsang H. Conflicting results of ileoscopy and small bowel double-contrast barium examination in patients with Crohn's disease. *Endoscopy* 1998; 30:339-345.
35. Uzunismail H. İnflamatuvar Barsak Hastalığı İBH. ed.Yazıcı H, Hamuryudan V, Sonsuz A. *Cerrahpaşa İç Hastalıkları, İstanbul: Medical Yayıncılık* 2005: 819-827
36. Vasiliauskas EA, Plevy SE, Landers CJ, Binder SW, Ferguson DM, Yang H, Rotter JI, Vidrich A, Targan SR. Perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies in patients with Crohn's disease define a clinical subgroup. *Gastroenterology* 1996;110:1810-1819.
37. Almer S, Bodemar G, Franzen L, Lindstrom E, Nystrom P, Strom. M. Use of air enema radiography to assess depth of ulceration during acut attacks of ulcerativ colitis. *Lancet* 1996; 347:1731-1735.
38. Robert JH, Sachar DB, Aufses AH Jr, Greenstein AJ. Management of severe hemorrhage in ulcerative colitis .*Am J Surg* 1990;159:550-555
39. Cuatrecasas M, De Moragas JM. Acute febrile neutrophilic dermatosis (Sweet's syndrome). *Int J Dermatol* 1993; 32:261-264
40. Baioco PJ, Gorman BD, Korelitz BJ. Uveitis occurring after colectomy and ileal rectal sleeve anastamosis for ulcerative colitis. *Dig Dis Sci.* 1984; 29:570-571
41. Talbot RW, Heppen J, Dozois RR, Beart RW Jr. Vascular complications of inflammatory bowel disease. *Mayo Clin Proc* 1986; 61: 140-141.
42. Pardi DS, Tremaine WJ, Sandborn WJ, Mc Carthy JT. Renal and urologic complications of inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 1998; 93:504-514

43. Christophi C, Hughes ER. Hepatobiliary disorders in inflammatory bowel disease. *Surg Gynecol Obstet* 1985;160:187
44. Farmer RG, Hawk WA, Turnbull RB. Clinical patterns in Crohn's disease: a statistical study of 615 cases. *Gastroenterology* 1975;68:627
45. Myren J, Bouchier JA, Watkinson G, Softley A, Clamp SE, Dombal FT. The O.M.G.E multinational inflammatory bowel disease survey, 1976-1982 a further report of 2657 cases. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1984; 95:1-27
46. Haderslev KV, Tjellesen L, Sorensen HA, Staun M. Alendronate increases lumbar spine bone mineral density in patients with Crohn's disease. *Gastroenterology* 2000;119:639-647.
47. Alexander JW, Boyce ST, Babcock GF, Gianotti L, Peck MD, Dunn DL, Pyles T, Childress CP, Ash SK. The process of microbial translocation. *Ann Surgery* 1990; 212: 496-510
48. Yiğitler C, Güleç B, Aydoğan H, Özcan A, Kılınç M, Yiğit T, Kozak O. Effect of mesalazine, metronidazole and gentamicin on bacterial translocation in experimental colitis. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2004; 19: 1179-1186
49. Kucuk C, Sozuer E, Gursoy S, Canoz O, Artıs T, Akcan A, Akyıldız H, Muhtaroglu S. Treatment with Met-RANTES decreases bacterial translocation in experimental colitis. *The AM J Of Surgery* 2006; 191: 77-83
50. Bery RD. Promotion of the translocation of enteric bacteria from the gastrointestinal tracts of mice by oral treatment with penicilin, clindamycin or metronidazole. *Infact Immun* 1971; 33: 854
51. Banwell JG, Howard R, Cooper D, Costerton JW. Intestinal microbial flora after feeding phytohemagglutinin lectins to rats. *Applied Environ Microbiol* 1985; 50: 68-80
52. Oberhalzer A, Oberhalzer C, Moldower LL. Cytokine signaling regulation of the immune response in normal and critically ill states. *Critical Care Medicine* 2000; 28: 3-12

53. Murch SH, Lamkin VA, Savage MO, Walker-Smith JA, MacDonald T. Serum concentrations of related tumor necrosis factor alpha in childhood chronic inflammatory bowel disease. *Gut* 1991; 32: 913-917
54. Beutler B., Caroni A., Cachectin: More than a tumor necrosis factor. *N. Engl J Med.* 1987; 316: 379-385
55. Sartor RB. Cytokines in intestinal inflammation: pathophysiological and clinical considerations. *Gastroenterology* 1994; 106: 533-539
56. Groir BP. Mediators of septic shock. New approaches for interrupting the endogenous inflammatory cascade. *Crit Care Med.* 1993; 21: 780-786
57. Freeman BA, Crago JD. Biology of the disease free radicals and tissue injury. *Lab. Invest* 1982; 47: 412-426
58. Zengin Ulakoğlu E, Koray Gümüştas M, Belce A, Altuğ T, Kökoğlu E. Strese bağlı mide mukozası hasarında endojen glutatyon tükenişinin enerji metabolizması ile ilişkisi. *Cerrahpaşa J Med.* 1998; 29: 127-131.
59. Alican F. Mide tümörleri. *Cerrahi Dersleri. Cilt II, İstanbul: Afa matbaacılık, 1995; 216- 217.*
60. Öztürk M, Güzelhan Y, Sayar K, Tüzün U. Yaygın Gelişimsel Bozukluğu Olan Çocuklarda Plazma Malondialdehit ve Glutatyon Düzeylerinin Araştırılması. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni* 2001; 11: 155-159
61. Yarıktas M, Fehmi D, Doğru H, Aynalı G, Yönden Z, Delibaş N. Baş-boyun maling tümörlerinde malondialdehit düzeyleri ve antioksidan enzim aktiviteleri. *SDUTF dergisi* 2003; 10: 65-67.
62. Meyers S, Sachar DB, Present DH, Janowitz HD. Olsalazine sodium in the treatment of ulcerative colitis among patients intolerant of sulfasalazine: a prospective randomized, placebo controlled double blind, dose ranging clinical trial. *Gastroenterology* 1987; 93: 1255-1258
63. Allgayer H, Stenson WF. A comparison of effects of sulfasalazine and its metabolites on the metabolism of endogenous vs. exogenous arachidonic acid. *Immunopharmacology* 1988;15:39.
64. Longstreth GF, Green R. Folate status in patients receiving maintenance doses of sulfasalazine. *Arch Intern Med* 1983;143:902

65. Kiilerich S, Ladefoged K, Rannem T, Ranlov PJ. Prophylactic effects of olsalazine and sulphasalazine during 12 months maintenance treatment of ulcerative colitis. *Gut* 1992;33:252-255
66. Hanauer S, Schwartz J, Robinson M, Roufail W, Arora S, Cello J, Safdi M. Mesalamine capsules for treatment of active ulcerative colitis: results of a controlled Pentasa study group. *Am J Gastroenterol* 1993;88:1188-1197
67. Zimmerman, M.J. and D.P. Jewell, Cytokines and mechanisms of action of glucocorticoids and aminosalicylates in the treatment of ulcerative colitis and Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 1996; 10: 93-99
68. Hanauer S.B, Stathopoulos G. Risk-benefit assessment of drugs used in the treatment of inflammatory bowel disease. *Drug Saf.* 1991; 6: 192-219.
69. Munkholm P, Langholz E, Davidsen M, Binder V. Frequency of glucocorticoid resistance and dependency in Crohn's disease. *Gut* 1994; 35: 360-362.
70. Summers RW, Switz DM, Sessions JT, Bechtel JM, Best WR, Kern F, Singleton JW. National Cooperative Crohn's Disease CD Study: results of drug treatment. *Gastroenterology* 1979; 77: 847-869
71. Powell-Tuck J, Brown RL, Lennard-Jones JE. A comparison oral prednisolone given as single or multiple daily doses for active proctocolitis. *Scand J Gastroenterol* 1978; 13: 833-837.
72. Dubinsky MC, Lamothe S, Yang HY, Targan SR, Sinnett D, Theoret Y, Seidman EG. Pharmacogenomics and metabolite measurement of 6-mercaptopurine therapy in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2000; 118: 705-713
73. Greenbloom, S.L, Steinhart A.H, Greenberg G.R. Combination ciprofloxacin and metronidazole for active Crohn's disease. *Can J Gastroenterol* 1998; 12: 53-56
74. Ursing B, Alm T, Barany F, Bergelin I, Ganrot-Norlin K, Hoevels J, Huitfeldt B, Jarnerot G, Krause U, Krook A, Lindström B, Nordle O, Rosen A. A comparative study of metronidazole and sulfasalazine for

active Crohn's disease: the cooperative Crohn's disease study in Sweden. II. Result: *Gastroenterology* 1982; 83: 550-562.

75. Prantera C, Zannoni F, Scribano ML, Berto E, Andreoli A, Kohn A, Luzi C. An antibiotic regimen for the treatment of active Crohn's disease: a randomized, controlled clinical trial of metronidazole plus ciprofloxacin. *Am J Gastroenterol* 1996; 91: 328-332
76. Morris GP, Beck PL, Herridge MS, Depew WT, Szewczuk MR, Wallace JL Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology* 1989; 96:795-803
77. Neurath MF, Fuss I, Kelsall BL, Stuber E, Strober W. Antibodies to interleukin 12 abrogate established experimental colitis in mice. *J Exp Med* 1995; 182:1281-1290
78. Neurath MF, Fuss I, Kelsall BL, Presky DH, Waegell W, Strober W. Experimental granulomatous colitis in mice is abrogated by induction of TGF-beta-mediated oral tolerance. *J Exp Med* 1996; 183:2605-2616
79. McCafferty DM, Smith CW, Granger DN, Kubes P. Intestinal inflammation in adhesion molecule-deficient mice: an assessment of P-selectin alone and in combination with ICAM-1 or E-selectin. *J Leukoc Biol* 1999; 66:67-74
80. Stallmach A, Wittig B, Giese T, Pfister K, Hoffmann JC, Bulfone-Paus S, Kunzendorf U, Meuer SC, Zeitz M. Protection of trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis by an interleukin 2-IgG2b fusion protein in mice. *Gastroenterology* 1999; 117:866-876
81. Qiu BS, Vallance BA, Blennerhassett PA, Collins SM. The role of CD4+ lymphocytes in the susceptibility of mice to stress-induced reactivation of experimental colitis. *Nat Med* 1999; 5:1178-1182
82. Bankova VS, De Castro SL, Marcucci MC. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* 2000; 31: 3-15
83. Mirzoena OK, Calder PC. The effect of propolis and its components on eicosanoid production during the inflammatory response. *Prostaglandins, Leukot and Essent Fatty Acids* 1996; 55: 441-449

84. Sahin S, Sögüt S, Özyurt H, Uz E, İlhan A, Akyol Ö. Tissue xantine oxidase activity and nitric oxide levels after spinal cord ischemia/reperfusion injury in rabbits: comparison of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) and methylprednisolone. *Neurosci Res Commun* 2002; 31: 111-121
85. Dobrowolski JW, Vohoraq SB, Sharma K, Shah SA, Naqvi SAH, Dandiya PC. Antibacterial, antifungal, antiameobic, antiinflammatory, and antipyretic studies on propolis bee products. *J Ethnopharmacol* 1991; 35: 77-82
86. Dimov V, Ivanovska N, Bankova V, Popov S. Immunomodulatory action of propolis: IV. Prophylactic activity against gram-negative infections and adjuvant effect of the watersoluble derivate. *Vaccine* 1992; 10: 817-823
87. Edenharder R, Von Petersdorff I, Rauscher R. Antimutagenic effects of flavanoids, chalcones and structurally related compounds on the activity of 2-amino- 3 methylimidazol (4,5-f) quinoline (IQ) and other heterocyclic amine mutagens from cooked food. *Mutat Res* 1993; 287: 261-274
88. Pascual C, Gonzales R, Torricella RG. Scavenging action of propolis extract against oxygen radicals. *J Ethnopharmacol* 1994; 41: 9-13
89. Tosi B, Donini A, Romagnoli C, Bruni A. Antimicrobial activity of some commercial extracts of propolis prepared with different solvents. *Phytother Res* 1996; 10: 335–336
90. Hishikawa K, Nakaki T. NF-kappa B as a therapeutic drug target. *Nippon Yakurigaku Zasshi* 2001; 118:197-202.
91. Rossi A, Longo R, Russo A, Borrelli F, Sautebin L. The role of the phenethyl ester of caffeic acid (CAPE) in the inhibition of rat lung cyclooxygenase activity by propolis. *Fitoterapia* 2002; 73:30-37
92. Kimoto T, Arai S, Kohguchi M, Aga M, Nomura Y, Micallef MJ, Kurimoto M, Mito K. Apoptosis and suppression of tumor growth by artemillin C extracted from Brazilian propolis. *Cancer Detect Prev.* 1998; 22: 506-515

93. Gonzalez R, Corcho I, Ramirez D. Hepatoprotective effects of propolis extract on carbon tetrachloride-induced liver injury in rats. *Phytother Res* 1995; 9:14–17
94. Ilhan A, Koltuksuz U, Ozen S, Uz E, Ciralik H, Akyol O. The effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on spinal cord ischemia/reperfusion injury in rabbits. *Eur J Cardiothorac Surg*. 1999; 16-4: 458-463
95. Takaisi-Kikuni NB, Schilcher H. Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined propolis provenance. *Planta Med*. 1994; 60: 222-227
96. Lee YJ, Liao PH, Chen WK, Yang CY. Preferential cytotoxicity of caffeic acid phenethyl ester analogues on oral cancer cells. *Cancer Lett* 2000; 29-153: 51-56
97. Castaldo S, Capasso F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia* 2002; 73: 1-6
98. Chiao C, Carothers AM, Grunberger D, Solomon G, Preston GA, Barrett JC. Apoptosis and altered redox state induced by caffeic acid phenethyl ester (CAPE) in transformed rat fibroblast cells. *Cancer Res*. 1995; 15-55: 3576-3583
99. Sud'ina GF, Mirzoeva OK, Pushkareva MA, Korshunova GA, Sumbatyan NV, Varfolomeev SD. Caffeic acid phenethyl ester as a lipoxygenase inhibitor with antioxidant properties. *FEBS Lett* 1993;329:21–24
100. Black RJ. Vulval eczema associated with propolis sensitization from topical therapies treated successfully with pimecrolimus cream. *Clin Exp Dermatol* 2005; 30:91-92
101. Liao XP, She YX, Shi CR, Zhang ZD, Li M. Comparative analysis of adenosine triphosphate-magnesium chloride and allopurinol small bowel ischemia. *Pediatr Surg Int* 1994;9:106-108.
102. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for Lipid Peroxidase in Animal Tissues By Thiobarbituric Acid Reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-358

103. Maity S, Ukil A, Karmakar S, Datta N, Chaudhuri T, Vedasiromoni JR, Ganguly DK, Das PK. The major polyphenol of black tea, ameliorates mucosal injury in trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis. *Eur J Pharmacol* 2003; 30:103-112.
104. Shibata Y, Taruishi M, Ashida T. Experimental ileitis in dogs and colitis in rats with trinitrobenzene sulfonic acid-colonoscopy and histopathologic studies. *Gastroent. Japan* 1993; 28:518-527.
105. Ademoglu E, Erbil Y, Tam B, Barbaros U, Ilhan E, Olgac V, Mutlu Turkoglu U. Do vitamin E and selenium have beneficial effects on trinitrobenzenesulfonic acid-induced experimental colitis. *Dig Dis Sci.* 2004; 49:102–108.
106. Nosalova V, Cerna S, Bauer V. Effect of N-acetylcysteine on colitis induced by acetic acid in rats. *Gen Pharmacol* 2000; 35:77–81
107. D’Odorico A, Bortolan S, Cardin R, D’Inca R, Martines D, Ferronato A, Sturniolo GC. Reduced plasma antioxidant concentrations and increased oxidative DNA damage in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36:1289–1294
108. Koch TR, Yuan LX, Stryker SJ, Ratliff P, Telford GL, Opara EC. Total antioxidant capacity of colon in patients with chronic ulcerative colitis. *Dig Dis Sci.* 2000; 45:1814–1819
109. Blau S, Kohen R, Bass P, Rubinstein A. Relation between colonic inflammation severity and total low molecular weight antioxidant profiles in experimental colitis. *Dig Dis Sci.* 2000; 45: 1180-1184
110. Buffington GD, Doe WF. Depleted mucosal antioxidant defenses in inflammatory bowel disease. *Free Radic Biol Med.* 1995; 19:911–918
111. Fiocchi C. Inflammatory bowel disease; etiology and pathogenesis. *Gastroenterology* 1998; 115: 182-205
112. Derckx B, Taminiou J, Radema S, Stronkhorst A, Wortel C, Tytgat G, van Deventer S. Tumor necrosis factor antibody treatment in Crohn’s disease. *Lancet* 1993; 342: 173-174

- 113.**Tracy KJ, Beutler B, Lowrey SL, Merryweather J, Wolpe. S, Milsark IW, Hariri R J, Fahey T J, Albert JD, Shires. GT, Cerami A. Shock and tissue injury induced by recombinant human TNF. *Science* 1986; 234:470-476
- 114.**Isaacs KL, Sartor R, Haskill S. Cytokine messenger RNA profiles in inflammatory bowel disease mucosa detected by polymerase chain reaction amplification. *Gastroenterology* 1992;103:1587-1589
- 115.**Neilly PJ, Gardiner KR, Kirk SJ, Jennings G, Anderson NH, Elia M, Rowlands BJ. Endotoxemia and cytokine production in experimental colitis. *Br J Surg* 1995; 82: 1479-1482
- 116.**Dubigeon BC, Collin X, Grinaud N, Robert JM, Legaut G, Petit JY. Effects of tumor necrosis factor alpha synthesis inhibitors on rat trinitrobenzene sulphonic acid induced chronic colitis. *Eur Pharmacol* 2001; 12:103-110
- 117.**Karmeli F, Cohan P, Rachmilewitz D. Cyclooxygenase-2 inhibitors ameliorate the severity of experimental colitis in rats. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000; 12: 223-231
- 118.**Guimbaud R, Bertrand V, Chauvelot-Moachon L, Quartier G, Vidon N, Giroud JP, Couturier D, Chaussade S. Network of inflammatory cytokines and correlation with disease activity in ulcerative colitis. *AJG* 1998; 93: 2397-2404.
- 119.**Drapper H, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1990; 186: 421-431
- 120.**Kuralay F, Yildiz C, Ozutemiz O, Islek H, Caliskan S, Bingol B, Ozkal S. Effects of trimetazidine on acetic acid-induced colitis in female swiss rats. *J Toxicol Environ Health A* 2003; 66:169–179
- 121.**Zhou YH, Yu JP, Teng XJ, Ming M, Lv P, An P, Liu SQ, Yu HG. Effects of Ginkgo biloba extract on inflammatory mediators (SOD, MDA, TNF- α , NF- κ Bp65, IL-6) in TNBS-induced colitis in rats. *Mediators Inflamm* 2006; 5:1–9
- 122.**Sandborn WJ. A review of immune modified therapy for inflammatory bowel disease: azathioprine, 6-mercaptopurine, cyclosporine and methotrexate. *Am J Gastroenterol* 1996;91: 423-428