



**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL
KOLİT MODELİNDE ETİL PİRÜVAT'IN
ETKİLERİ İLE KOLİT SÜRECİNİN
BASKILANMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. A. Bahadır ÖZ

KAYSERİ – 2009



T.C.

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL
KOLİT MODELİNDE ETİL PİRÜVAT'IN
ETKİLERİ İLE KOLİT SÜRECİNİN
BASKILANMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. A. Bahadır ÖZ

Danışman

Prof. Dr. Erdoğan M. SÖZÜER

KAYSERİ – 2009

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|-----|
| İÇİNDEKİLER..... | I |
| ŞEKİL VE TABLO DİZİNİ..... | III |
| RESİM VE GRAFİK DİZİNİ | IV |
| KISALTMALAR..... | V |
| ÖZET | VII |
| ABSTRACT | IX |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ..... | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 3 |
| 2.1. KOLİT | 3 |
| 2.2. OKSİDATİF STRES VE İBH | 6 |
| 2.3. ETİL PİRÜVAT (EP)..... | 8 |
| 2.4. TÜMÖR NEKROZİS FAKTÖR ALFA (TNF- α) | 9 |
| 2.5. MYELOPEROKSİDAZ (MPO) | 10 |
| 2.6. İLERİ OKSİDATİF PROTEİN ÜRÜNÜ (AOPP) | 11 |
| 2.7. GLUTATYON (GSH)..... | 11 |
| 2.8.C-REAKTİF PROTEİN (CRP)..... | 11 |
| 3. MATERYAL ve METOD..... | 12 |
| 3.1. GRUPLAR..... | 13 |
| 3.2. CERRAHİ PROSEDÜR..... | 13 |
| 3.3. MAKROSKOPİK SKORLAMA | 14 |
| 3.4. MİKROSKOPİK SKORLAMA..... | 15 |
| 3.5. MYELOPEROKSİDAZ (MPO) AKTİVİTE ÖLÇÜMÜ..... | 15 |
| 3.6. SERUM TNF- α VE CRP DÜZEYLERİNİN ÖLÇÜMÜ..... | 16 |

| | |
|---|----|
| 3.7. MALONDIALDEHİT (MDA) AKTİVİTE ÖLÇÜMÜ | 16 |
| 3.8. GSH DÜZEYLERİNİN ÖLÇÜMÜ | 17 |
| 3.9. AOPP DÜZEYLERİNİN ÖLÇÜMÜ | 17 |
| 3.10. İSTATİSTİKSEL ANALİZ | 17 |
| 4. BULGULAR | 18 |
| 4.1. MAKROSKOPİK DEĞERLENDİRME SONUÇLARI | 18 |
| 4.2. MİKROSKOPİK DEĞERLENDİRME SONUÇLARI | 19 |
| 4.3. TNF- α VE CRP SONUÇLARI | 21 |
| 4.4. AOPP SONUÇLARI | 23 |
| 4.5. GSH SONUÇLARI | 23 |
| 4.6. MPO SONUÇLARI | 24 |
| 4.7. MDA SONUÇLARI | 25 |
| 5. TARTIŞMA | 26 |
| 6. SONUÇLAR | 33 |
| 7. KAYNAKLAR | 34 |
| KABUL ONAY | 42 |

ŞEKİL VE TABLO DİZİNİ

| | | |
|----------------|---|----|
| Şekil 1 | : İnflamatuvar barsak hastalığı'nın etyopatogenezi..... | 4 |
| Tablo 1 | : İBH'da ROS'un hayvan çalışmalarında gösterilmesi..... | 7 |
| Tablo 2 | : İBH'da ROS'un insan çalışmalarında gösterilmesi..... | 8 |
| Tablo 3 | : Kolonik Mukozadaki Makroskobik Bulguların Sınıflandırılması..... | 14 |
| Tablo 4 | : Kolonik Mukozadaki Mikroskopik Bulguların Sınıflandırılması | 15 |

RESİM VE GRAFİK LİSTESİ

| | |
|--|----|
| Resim 1 : TNBS–E Uygulanması | 13 |
| Resim 2 : TNBS–E. (kolit) grubunda izlenen inflamasyon ve nekroz görünümü | 19 |
| Resim 3 : Kontrol grubundan normal kolonik epitel görünümü..... | 20 |
| Resim 4 : Kolit grubundan epitel hücre kayıpları, kriptit, erozyon ve lenfoid follikül görünümü | 20 |
| Resim 5 : Tedavi grubunda epitelyumda orta derecede ödem, hafif inflamasyon görünümü | 21 |
| Grafik 1 : Gruplara göre makroskopik hasar skoru değerleri | 18 |
| Grafik 2 : Gruplara göre mikroskopik hasar skoru değerleri..... | 19 |
| Grafik 3 : Gruplara ve zamana göre TNF- α değerleri | 22 |
| Grafik 4 : Gruplara ve zamana göre CRP değerleri | 22 |
| Grafik 5 : Gruplara göre AOPP değerleri | 23 |
| Grafik 6 : Gruplara göre GSH değerleri | 24 |
| Grafik 7 : Gruplara göre MPO değerleri..... | 24 |
| Grafik 8 : Gruplara göre MDA değerleri..... | 25 |

KISALTMALAR

| | |
|-----------------------------------|------------------------------------|
| AA | : Asetik Asit |
| ASA | : Asetil Salisilik Asit |
| AOPP | : İleri Oksidatif Protein Ürünleri |
| CH | : Crohn Hastalığı |
| COX-2 | : Siklooksijenaz 2 |
| CRP | : C-Reaktif Protein |
| DNA | : Deoksiribonükleik asit |
| DSS | : Dekstran Sülfat Sodyum |
| EP | : Etil Pirüvat |
| GSH | : Glutasyon |
| HMGB1 | : High Mobility Group Box 1 |
| HLA | : İnsan Lökosit Antijeni |
| H₂O₂ | : Hidrojen Peroksit |
| ICAM-1 | : Hücre İçi Adezyon Molekülü |
| IFN-γ | : İnterferon γ |
| IgG | : İmmünglobilin G |
| IL-1 | : İnterlökin 1 |
| IL-2 | : İnterlökin 2 |
| IL-4 | : İnterlökin 4 |
| IL-5 | : İnterlökin 5 |
| IL-6 | : İnterlökin 6 |
| IL-8 | : İnterlökin 8 |
| IL-10 | : İnterlökin 10 |

| | |
|--------------------------------|---------------------------------------|
| IL-11 | : İnterlökkin 11 |
| IL-12 | : İnterlökkin 12 |
| IL-13 | : İnterlökkin 13 |
| IL-18 | : İnterlökkin 18 |
| İBH | : İnflamatuar Barsak Hastalığı |
| LPS | : Lipopolisakkarit |
| MDA | : Malondialdehit |
| MIB | : Makrofaj İnflamatuar Protein |
| MnSOD | : Mitekondrial Süperoksit Dismutaz |
| MPO | : Myeloperoksidaz |
| MHC | : Majör Histokompatibilite Kompleks |
| NF-kB | : Nüklear Faktör |
| OS | : Oksidatif Stres |
| PAF | : Platelet Aktive Edici Faktör |
| PMNL | : Polimorfonükleer Lökosit |
| RA | : Romotoid Artrit |
| ROS | : Reaktif Oksijen Radikalleri |
| SOD | : Süperoksit Dismutaz |
| TGF β | : Tümör Büyüme Faktörü β |
| Th | : T Helper |
| TNBS-E | : Trinitrobenzen Sülfonik Asit-Etanol |
| TNF-α | : Tümör Nekroz Faktör Alfa |
| ÜK | : Ülseratif Kolit |

SIÇANLARDA OLUŞTURULAN DENEYSSEL KOLİT MODELİNDE ETİL PİRÜVAT'IN ETKİLERİ İLE KOLİT SÜRECİNİN BASKILANMASI

ÖZET

Amaç: İnflamatuvar barsak hastalıklarının patogenezinde epitelyal fonksiyon bozuklukları ile birlikte proinflamatuvar sitokinler, oksidan ajanlar ve kemokinlerin önemli rolü olduğu son zamanlarda yapılan çalışmalar ile göstermiştir. Bu çalışmada, sıçanlarda oluşturulan deneysel kolit modelinde, oluşan inflamasyon üzerine antiinflamatuvar ve antioksidan bir ajan olan Etil pirüvat (EP)'in etkileri incelenmiştir.

Materyal ve Metod: Çalışmada ağırlıkları 225–275 gram arasında değişen 24 adet Wistar Albino cinsi dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar randomize olarak eşit sayıda her biri 8 sıçan içeren 3 gruba ayrıldı (kontrol, kolit ve tedavi grupları). Kontrol grubundaki sıçanlara rektal yoldan serum fizyolojik (SF) verildi. Kolit grubuna trinitrobenzen sülfonik asit ve etanol karışımı (TNBS–E) rektal yoldan verilerek kolit oluşturuldu. Son olarak, tedavi grubuna ise TNBS–E ile kolit oluşturulduktan sonra, 30. dakikadan başlanarak on gün boyunca günde bir defa intraperitoneal olarak ringerli laktat solusyonu içinde çözülmüş 100 mg/kg EP verildi. Üçüncü ve 10.günlerde deneklerden 1 cc kan örnekleri alındı. Deneklere, on gün sonra anestezi altında orta hat insizyonla laparotomi yapıldı. Öncelikle vena kava inferiordan kan örnekleri alındı ve santrifigasyona tabi tutuldu. Eş zamanlı olarak sol kolektomi yapıldı. Kolondaki inflamasyon makroskopik ve mikroskopik olarak değerlendirildi ve derecelendirildi. Doku düzeyinde myeloperoksidaz (MPO) ve malondialdehit (MDA), ileri oksidatif protein ürünleri (AOPP), glutatyon (GSH) serumda ise tümör nekroz faktör alfa (TNF– α), C-reaktif protein (CRP) düzeylerine bakıldı.

Bulgular: Kolit ve tedavi grupları karşılaştırıldığında gruplar arasında makroskopik ve mikroskopik açıdan belirgin farklılık mevcuttu ($p<0.05$). Tedavi grubunda doku düzeyinde ölçülen MPO, MDA, AOPP düzeyleri kolit grubuna göre anlamlı düzeyde düşüktü ($p<0.05$). Serumda çalışılan TNF– α , CRP düzeyleri tedavi grubunda kolit

grubuna göre belirgin şekilde düşüktü ($p<0.05$). Tedavi grubundaki GSH düzeyleri kolit grubuna göre anlamlı düzeyde yüksekti. ($p<0.05$).

Sonuç: Deneysel olarak TNBS-E ile oluşturulmuş kolit modelinde uygulanan EP, histopatolojik ve biyokimyasal parametrelere bakıldığında inflamasyonu belirgin düzeyde azaltmıştır. Sonuç olarak, kolit grubunda belirgin düzeyde oluşan inflamasyon EP'in etkisiyle tedavi grubunda belirgin olarak azalmıştır ($p<0.05$).

Anahtar Kelimeler: Etil pirüvat, Deneysel kolit, Trinitrobenzen sülfonik asit-etanol koliti

SUPPRESSION OF COLITIS PROCESS WITH EFFECTS OF EP IN AN EXPERIMENTAL COLITIS MODEL ON RATS

ABSTRACT

Aim: Studies have shown that impairment in inflammatory bowel disease (IBD) along with proinflammatory cytokines and chemokines have important roles in pathogenesis of IBD. In this study, the effects of EP (Ethyl pyruvate) which is an antiinflammatory and an antioxidant agent, on the inflammatory process of the experimental colitis model have been investigated in rats

Materials and Methods: In this study, 24 Wistar albino female rats weighing 225–275 g were used. Rats were randomly divided into 3 groups each including 8 rats (control, colitis and treatment groups). Normal saline (SF) was given to control group rectally. Trinitrobenzene sulfonic acid and ethanol mixture (TNBS–E) was instilled rectally for colitis formation in colitis group. Finally, for the treatment group, after instillation of TNBS–E, beginning from thirtieth minute, 100 mg/kg EP dissolved in lactated Ringer's solution administered intraperitoneally once a day during 10 days. A midline laparotomy was performed on the 10th day. Blood samples were taken from vena cava inferior and santrifugated, and the left colon was resected. Microscopic and macroscopic findings of colonic inflammation were evaluated and graded. Myeloperoxidase (MPO), malondialdehyde (MDA), advanced oxidation protein products (AOPP), glutathione (GSH) levels of the colonic tissues and tumor necrosis factor- α . (TNF- α), CRP levels of blood samples were measured.

Results: Macroscopic and microscopic grades, in colitis and treatment groups' were statistically different ($p < 0.05$). In the treatment group, tissue MPO, MDA and AOPP levels were significantly lower than colitis group ($p < 0.05$). TNF- α , CRP levels were decreased significantly in treatment group when compared to colitis group ($p < 0.05$). Treatment group's GSH levels were significantly higher than the colitis group ($p < 0.05$).

Conclusion: According to histopathological and biochemical findings, administration of EP reduced the inflammation on formed TNBS-E colitis rats. In conclusion, the inflammation formation in colitis group decreased significantly in treatment group with the effects of EP ($p < 0.05$).

Key words: Ethyl pyruvate, Experimental colitis, Trinitrobenzene sulfonic acid-ethanol colitis.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnflamatuvar barsak hastalıkları (İBH), gastrointestinal sistemi tutan ve hastanın yaşam kalitesini etkileyen hastalıklardır. İnflamatuvar barsak hastalıklarının patogeneğinde immün sistemin, genetik yatkınlığın ve çevresel faktörlerinin rol oynadığı düşünülmektedir. Son yıllarda bu hastalıkların görülme sıklığında belirgin bir artış dikkati çekmektedir. Ülseratif kolit (ÜK) ve Crohn hastalığı (CH) İBH olarak değerlendirilmekte ve benzerliklerinden dolayı aynı grupta incelenmektedir. Etkilenen dokuda inflamatuvar hücre göçü ve sitokinlerin etkisiyle ilerleyici doku yıkımı gelişmektedir (1). İnflamatuvar barsak hastalığının etyolojisi hala netlik kazanmamıştır. Etyopatogeneşte birçok faktörün beraber rol oynadığı düşünülmektedir. Genetik yatkınlığı olan bireylerde çevresel faktörlerin de etkisiyle gastrointestinal sistemde (GİS) kontrol dışı ve yaygın inflamasyon sonucunda barsağın bariyer fonksiyonlarında meydana gelen değişiklikler İBH'nın patogeneğini açıklamaya yönelik en akla yatkın teoridir (2). İnflamatuvar barsak hastalığında oksidatif stres, potansiyel ve/veya tetikleyici etyolojik faktördür. İnflamasyonun ilerlemesinde reaktif oksijen moleküllerinin zararlı etkileri tam olarak kanıtlanmıştır. İnflamatuvar barsak hastalıklarında, yapılan birçok insan ve deneysel hayvan çalışmalarında intestinal mukozada oksidatif stresin arttığı, plazmada ve kolon mukozasında glutasyon peroksidaz (GPx), miyeloperoksidaz (MPO), süperoksid dismutaz (SOD) gibi hücre içi antioksidan enzimlerin aktivasyonunun arttığı ve anti-oksidan (vitamin C ve E, selenyum, glutasyon, β karoten gibi) maddelerin seviyesinin azaldığı saptanmıştır (3). Etil pirüvat (EP), son yıllarda deneysel çalışmalarda sıkça kullanılan, çeşitli hayvan modellerinde güçlü bir antiinflamatuvar olduğu ispatlanmış umut verici yeni bir ajandır.

Pirüvat'ın etkili bir serbest oksijen radikali (ROS) temizleyicisi olarak tanımlanmasından sonra araştırmacılar bu maddeyi bir çok patolojik durumun tedavisinde kullanmayı denediler (4). Bu konuda en erken çalışmalardan birisi Salahudeen ve ark. tarafından yapılmıştır (5). Diğer araştırmacılar, EP tedavisi ile deneysel hayvan modellerinde yapılan miyokard, intestinal ve hepatik iskemiye takiben iskemi/reperfüzyondaki organ hasarının veya disfonksiyonunun düzeltilebildiğini rapor etmişlerdir. (6,7,8). Etil piruvat NF-κB ve p38 mitojen-aktif protein kinaz moleküllerinin aktivitelerini bloke eder. Bu iki molekül hücre içi proinflamatuvar sinyal iletim zincirinde önemli iki maddedir. Yang ve ark.'nın yaptığı deneysel hemorajik şok modelinde EP tedavisi ile proinflamatuvar transkripsiyon faktörü, nükleer faktör (NF)-κB, nitrik oksit (NO) sentetaz, tümör nekrozis faktör alfa (TNF-α), Siklooksijenaz 2 (COX-2) ve interlökin-6 (IL-6) düzeylerinin karaciğerde, ileal ve kolonik mukozada azaldığı gösterilmiştir (9). Bütün bu bulgular EP'nin antiinflamatuvar ve antioksidan aktiviteye sahip bir ajan olabileceğini düşündürmektedir. Tsai ve ark.'nın yaptığı deneysel hipoksik pulmoner vazokontrüksiyon çalışmasında, EP tedavisinin IL-6 ve TNF-α gibi proinflamatuvar sitokinleri baskılayarak akut akciğer hasarına karşı koruyucu etkileri gösterilmiştir (10).

Kolit sürecinin patofizyolojisinden yola çıkararak, Etil piruvatın anti-inflamatuvar ve antioksidan özelliğinden yararlanarak, kolit üzerindeki engelleyici etkileri araştırılıp, kolit tedavisinde yeni bir terapatik ajanın kullanılması amaçlanmaktadır

2. GENEL BİLGİLER

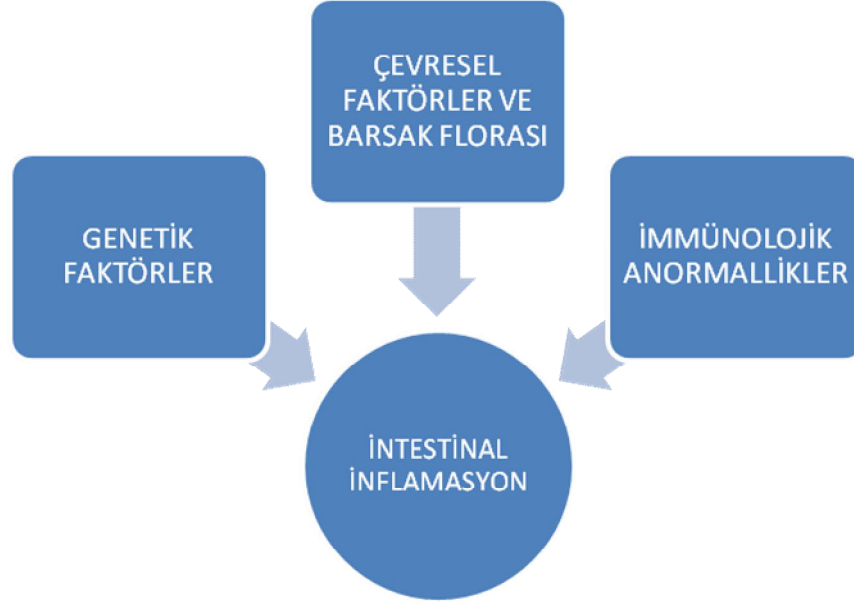
2.1. KOLİT

2.1.1. Etyoloji ve Patogenez

Ülseratif kolit ile Crohn hastalığı akut ve/veya kronik inflamasyon ile karakterize, genel populasyon ile karşılaştırıldığında artmış kolorektal kanser riski olan, etyolojisi bilinmeyen iki hastalıktır (11). Ülseratif kolit gelişimini tek bir mekanizma ile açıklamak mümkün değildir. Gelişen inflamasyonda; salgılanan inflamatuvar mediyatörler, oksidatif stres, artmış intestinal geçirgenlik, sülfid üretiminde artma ve azalmış metilasyon rol oynar (12). Kuzey ülkelerinde, Amerika Birleşik Devletleri (ABD), İngiltere, Norveç ve İsveç'te yüksek sıklıkta görülür. İnflamatuvar barsak hastalığı özellikle yüksek sosyoekonomik koşulları olan toplumlarda daha sık görülmektedir (3). Bu durum batılılaşma, diyet değişiklikleri, sigara tüketimi, kimyasal maddelere maruz kalma ve çevresel kirlilik ile ilişkilendirilebilir (13,14). İnflamatuvar barsak hastalığının etyolojisi hala netlik kazanmamıştır. Etyopatogenezde birçok faktörün beraber rol oynadığı düşünülmektedir. (2). Yapılan birçok klinik araştırmada İBH'nın gelişiminde genetik yatkınlığın rol oynadığı görülmüştür. Başlıca 1, 3, 6, 7, 12, 14, 16 ve 19. kromozomlardaki değişiklikler sorumlu tutulabilir (14). NOD2 gen mutasyonu da İBH'da tespit edilmiştir (15,16).

İnflamatuvar barsak hastalığının patogenezi hala tam olarak bilinmese de immünolojik anormallikler, genetik faktörler ve çevresel faktörleri içine alan çeşitli çalışmalarda önemli ilerleme ve görüşler sağlanmıştır (Şekil 1). İnflamatuvar barsak hastalıklarının patogenezinde genetik faktörler hem CH hemde ÜK hastalığında çok açıktır.

Epidemiyolojik çalışmalar genetik faktörlerin CH'da ÜK'den daha önemli olduğunu göstermiştir. İmmünopatolojinin aydınlatılması yeni teropatik ajanların keşif edilmesi açısından önemlidir (17).



Şekil 1. İBH'nın etyopatogenezi (17).

Çevresel faktörler arasında gıda alımı, İBH'nın patofizyolojisini etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Sakamoto ve ark. İBH için hangi tür gıdaların risk faktörü olduğunu analiz etmişler. Aynı yaştaki sağlıklı bireyler zararlı gıda alanlar ile karşılaştırıldığında, şekerden ve yağdan zengin gıda alımının, CH gelişmesine katkıda bulunduğu tespit edilmiştir. (18). Japon hastalarında sigara içilmesi ve apendektomi koruyucu etki göstermiştir. Oysa, Çinli hastalarda sigara içenler ile ÜK'in şiddeti arasında hiçbir ilişki tespit edilmemiştir. Avrupalı ve Amerikan çalışmalarında özellikle genç hastalarda yapılan çalışmalarda ÜK'in gelişimi ile sigara içilmesi arasında negatif bir ilişki saptanmıştır (19,20). İntestinal flora mukozal defans sisteminde anahtar rol oynar. Crohn hastalarının kolonik lezyonlarında invaziv E.Coli bulunmuştur. Buna ilaveten mukozanın derin katlarında artmış bakteriyel translokasyon Crohn hastalarında gösterilmiştir. Son zamanlarda, İBH'nın patofizyolojisinde, özellikle CH'da önemli yeni ışıklar belirlemiştir. Patogeneizde özellikle Th1 ile ilişkili güçlü kanıtlar vardır. Mikroplar veya gıda antijenleri Th1 sitokinlerini üretmek için makrofajları direkt olarak uyarabilir. Ülseratif Kolit'te hümmoral immünitenin baskın olduğu, yüksek immünglobülin seviyeleri (özellikle

IgG1) ve otoantikolarlar (anti-kolon, anti-musin, anti-nötrofil antikor) ile açıklanmaktadır (17). Yapılan birçok çalışmada kolon enterositleri üzerinde immünglobülin ve kompleman olduğu gösterilmiştir. Bu da ÜK'te hümmoral immünitenin rol oynadığı otoimmün bir patoloji olduğunu desteklemektedir (21,22). Crohn'da Th1 lenfositin ürettiği sitokinler ile uyarılan makrofajlar interlökin-12 (IL-12), interlökin-18 (IL-18) ve makrofaj göçünü inhibe edici faktör (MİF) salgılayarak Th1 lenfositin daha da fazla uyarılmasını sağlar. Bununla birlikte aktive olan makrofajlar salgıladıkları TNF- α , IL-1 ve interlökin-6 (IL-6) gibi güçlü sitokinler ile inflamasyona katkıda bulunur. İmmün hücre topluluğunun salgıladığı aracılar da (sitokinler, kemokinler, araşidonik asid metabolizma ürünleri, nitrik oksid gibi reaktif oksijen metabolitleri) inflamatuvar olaya katkıda bulunarak doku harabiyeti gelişmesini sağlar (23,24). Ülseratif kolit'te görülen sitokin profiline bakıldığı zaman, gelişen Th2 cevabı ile interlökin-5 (IL-5) ve interlökin-8 (IL-8)'in doku düzeyinde artışı görülürken, interferon alfa (IFN- α) düzeyinin değişmediği görülmüştür. Sistemik inflamasyondan sorumlu olan IL-1, IL-6 ve TNF- α düzeyinin de hem CH hem de ÜK'te arttığı saptanmıştır (25).

2.1.1. Reaktif oksijen radikalleri kaynağı ve etkileri

Reaktif oksijen metabolitlerinin kaynaklarının başlıcaları; mitokondriyal elektron taşıma sistemlerinin bileşenleri, endoplazmik retikulum, prostoglandin sentetaz, lipoksijenaz sistemleri, bazı enzimler ve proteinler (hemoglobun, triptofan deoksijenaz, ksantin oksidaz v.b.), çeşitli küçük moleküller (flavinler, tiol bileşikleri, iki değerlikli metaller v.b.) ve çevresel etkenlerdir (radyasyon, hava kirliliği, zararlı kimyasallar v.b.).

Oluşan reaktif metabolitler, hücre içinde çeşitli metabolik bozukluklara yol açarak hücre hasarı ve nihayet hücre ölümüne sebep olurlar. Hücre membranlarının fosfolipid tabakasında yer alan doymamış yağ asitlerine saldırarak, lipid peroksidasyonunu başlatırlar. Lipid peroksidasyonu, reaktif metabolitler tarafından başlatılan ve zar yapısındaki doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna kadar ilerleyen bir kimyasal olay olarak tanımlanmaktadır. Lipid peroksidasyonu, kuvvetli yükseltgen bir radikalın, zar yapısında yer alan doymamış yağ asiti zincirindeki alfa-metilen gruplarından bir hidrojen atomu uzaklaştırması ve yağ asidi zincirinin radikal özellik kazanması ile başlar. Dayanıksız olan lipid radikalinden önce lipid konjuge dien molekülü, daha sonra

da moleküler oksijenin bağlanmasıyla lipid peroksi radikali oluşur. Lipid peroksi radikali ise, ya başka bir lipid molekülü ile etkileşerek lipid hiperoksid molekülünü oluşturur, ya da lipid endoperokside dönüşür. Oluşan lipid peroksi radikalleri, zar yapısındaki diğer doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumunu sağlar ve olay kendi kendini katalizleyerek devam eder.

Reaktif oksijen radikallerine bağlı hücre hasarında üç ana mekanizma rol oynar;

- a) Reaktif oksijen radikalının belirli bir hedefe saldırarak yaptıkları direkt etki,
- b) Yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu lipid membranlarının hasarı ve buna bağlı olarak membran enzimleri ve membran taşıma sistemlerinin zarar görmesi,
- c) Toksik, non-radikal lipid parçalanma ürünlerinin belirli bir hedef ile reaksiyona girmesi.

Özellikle sonuncu mekanizma hücre içinde oluşan radikallerin ne şekilde zincirleme yayılım gösterdiklerini açıklamak açısından önemlidir. Gerçekten de endojen oluşan bazı non-radikal maddeler, kaynaklandıkları yerden difüze olarak ana radikale ait hasar verici potansiyeli hücre membranına, mitokondriyuma, ribozomlara, nükleusa ve diğer hücre içi organellere taşırlar (26).

2.2. OKSİDATİF STRES ve İBH

Reaktif oksijen radikalleri (ROS) normal oksijen metabolizmasının doğal ürünü olarak ortaya çıkan, paylaşılmamış elektronların sonucundaki yüksek reaktif moleküllerdir. Canlı dokular ROS'un zarar verici etkisini düzenlemek için karmaşık bir antioksidan sistemi ile donatılır. Oksidatif stres, ROS'un üretilmesi ve bunları nötralize etmek için kullanılan antioksidanların arasında belirgin bir dengesizlik varsa ortaya çıkar (27). Antioksidan sistem non-enzimatik ve enzimatik ROS temizleyicisi olarak kategorize edilebilir. Vit C, vit E, minareller (selenyum, çinko), glutatyon (GSH), ürik asit ve ubiquinol non enzimatik antioksidanlar arasındadır. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz (GPO) asıl enzimatik antioksidanlardır (28). İnflamatuar barsak hastalığının hayvan modelleri günümüzde ideal değildir. İnflamatuar barsak hastalığını deneysel insan modellerinde oluşturmak sınırlıdır. Ancak birçok hayvan modelleri ROS'un durumunu değerlendirmek için rehber olmuştur (27) (Tablo 1).

Tablo 1. Oksidatif stresin hayvan çalışmalarında gösterilmesi (27).

| ÇALIŞMALAR | MODEL | TÜR | SONUÇ |
|--------------------|-------|------|--|
| Tham ve ark. | DSS | FARE | Glutasyon peroksidaz↑ |
| Ardite ve ark. | TNBS | FARE | Glutasyon ↓ |
| Nieto ve ark. | DSS | FARE | Glutasyon peroksidaz ↑ Glutasyon ↓,SOD ↑ Katalaz ↑ |
| Ghazanfari ve ark. | AA | FARE | Lipid peroksidasyon↑ Myeloperoksidaz ↑ |
| Ghafari ve ark. | AA | FARE | Lipid peroksidasyon↑ Myeloperoksidaz ↑ |

İnflamatuvar barsak hastalığı olan insan çalışmalarında ROS'un mevcudiyeti ile hasarlanmış moleküller yaygın olarak kullanılmıştır (Tablo 2). Bazı sonuçlar çelişkili olsa bile İBH olan bireyler sağlıklı bireyler ile karşılaştırıldığında değişik organ sistemlerinden alınan örneklerde fazla miktarda artmış okside moleküller gösterilmiştir (27). Barossa ve ark. ÜK'li hastalarda balık yağı verilmesiyle tedavi grubunda lipid peroksidasyonunun plazmada azaldığını tespit etmişlerdir (29).

Tablo 2. Oksidatif stresin insan çalışmalarında gösterilmesi (27).

| ÇALIŞMALAR | HASTA SAYISI | İBH | ÖRNEK | SONUÇ |
|---------------------|--------------|---------|--------------|----------------------------------|
| Rezaie ve ark. | 28 | CH | Tükrük | Lipid peroksidasyon ↑ |
| Jahanshahi ve ark. | 30 | CH & ÜK | Tükrük | Lipid peroksidasyon : CH↑,ÜK(nd) |
| Barbosa ve ark. | 9 | ÜK | Plazma | Lipid peroksidasyon(nd) |
| Kruidenier ve ark. | 42 | CH & ÜK | Kolon dokusu | Lipid peroksidasyon: CH ↑&ÜK↑ |
| Tuzun ve ark. | 43 | CH & ÜK | Plazma | Lipid peroksidasyon: CH↑ |
| Sampietro ve ark. | 44 | CH | Serum | Lipid peroksidasyon ↑ |
| Forrest ve ark. | 13 | CH & ÜK | Serum | Lipid peroksidasyon: CH↑↑ & ÜK↑ |
| D'Odorico ve ark. | 45 | CH & ÜK | Plazma | 8-OHdG: CH & ÜK ↑ |
| Wendland ve ark. | 17 | CH | Solunum | Solunum etan,pentan↑ |
| Levy et al. ve ark. | 46 | CH | Plazma | Lipid peroksidasyon ↑ |
| Chiarpotto ve ark. | 22 | CH | Kolon dokusu | Lipid peroksidasyon ↑ |
| Lih-Brody ve ark. | 67 | CH & ÜK | Kolon dokusu | ROS : CH & ÜK↑ |
| Cao ve ark. | 9 | ÜK | Kolon dokusu | Hidrojen peroksit:ÜK↑ |
| Hatoum ve ark. | 33 | CH & ÜK | Kolon dokusu | ROS :ÜK↑ |
| Koch ve ark. | 15 | ÜK | Kolon dokusu | Lipid peroksidasyon: ÜK ↑(nd) |

(Nd: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamı yok)

2.3. ETİL PİRÜVAT (EP)

Etil piruvat ,kimyasal adı ;Ethyl 2 –oxopropionate olan molekül ağırlığı ;116,12, suda çözünen, dansitesi 1.060-1.062 , vizkozitesi 1.186 cp olan bir maddedir. Pirüvat, pirüvat kinaz enzim ile katalizlenen glikolitik yolun son ürünüdür. Pirüvat ayrıca memeli hücrelerinde gerçekleşen pek çok kimyasal yolun ana ve ara maddesi olarak doğada bulunur ki bu reaksiyonlardan bir diğeri; α-ketoglutarat ve alanin aminotransferaz tarafından alaninin transaminasyonudur. Pirüvat kullanılan bir diğere reaksiyon da anaerobik şartlarda glikoliz ile oluşturulan pirüvatın çoğunun laktat oluşturmak için laktat dehidrogenaz reaksiyonunda indirgenmesi ve nikotinamid adenin dinükleotidin (NAD⁺) oksitlenmesidir. Aerobik şartlarda pirüvat sitozolden mitokondriye transport edilir, burada da asetil koenzim A oluşturmak için oksitlenir. α-keto karboksilatlar hidrojen peroksiti nonenzimatik olarak indirger ve bu reaksiyonda ürün olarak CO₂ ve H₂O elde edilir. (CH₃COCOO⁻ +H₂O₂ → CH₃COO⁻+ H₂O + CO₂). Hidrojen peroksit'e ek olarak, pirüvat bir diğere kuvvetli serbest oksijen radikali olan hidroksil

radikalini de temizleyebilme yeteneğine sahiptir. Pirüvat'ın etkili bir ROS süpürücüsü olarak tanımlanmasından sonra araştırmacılar bu maddeyi bir çok patolojik durumun tedavisinde kullanmayı denediler (4). Bu konuda en erken çalışmalardan bir tanesi Salahudeen ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (5). Diğer araştırmacılar, EP tedavisi ile deneysel hayvan modellerinde yapılan miyokard, intestinal ve hepatik iskemiye takiben iskemi/reperfüzyondaki organ hasarının veya disfonksiyonunun düzeltebildiğini rapor etmişlerdir. (6,7,8). Pirüvat içeren solüsyonlar hayvan modellerinde galaktozla veya diyabetle oluşturulan katarakta, inme, hemorajik şok ve galaktoz, fruktoz veya oksidan maddelerce oluşturulan lens hasarında etkileyici sonuçlar göstermiştir (30).

2.4. TÜMÖR NEKROZİS FAKTÖR ALFA (TNF- α)

TNF geninin 6. Kromozom üzerinde ve MHC gen lokusunun içinde HLA class I ve II arasında yer aldığı gösterilmiştir (31). Benzer biyolojik özelliklerde iki formu saptanmıştır. Bu iki form TNF- α (kaşektin) ve TNF- β (lenfotoksin) dir. TNF- α özellikle makrofajlarda, TNF- β ise lenfositlerde üretilmektedir. TNF- α 'nın değişik rekombinant formları mevcuttur. TNF- α 'nın antitümör etkileri invitro deney ve hayvan deneylerinde tek başına yada interlökin-2 (IL-2) ve interferon gibi sitokinlerle birlikte kombine şekilde araştırılmaktadır. Bir Crohn hastasında ilk kez TNF gen lokusu ile ilişkili "TNFA2B1C2D4E" geni bir risk faktörü olarak tanımlanmıştır (32). TNF- α ve IL-1 proinflamatuvar ürünlerin birçoğunu oluşturur. TNF- α , İBH'da mukozal inflamasyonun artmasında kritik olarak ortaya çıkar (33). Her iki sitokin primer olarak, intestinal makrofajlar, nötrofiller ve fibroblastların aktivasyonu ile, monosit ve makrofajlardan salınır. IL-1 ve TNF- α 'nın artmış salınımı İBH'da teşhis edilmiştir. TNF- α 'nın bu önemli rolü de bu hastalıkların kökeninde teyid edilmiştir. İntestindeki TNF- α 'nın etkileri mukozal inflamasyonda rol oynayabilir. Bu durum intestinal epitel bariyerin hasarını, villus epitelyal hücrelerinin apoptozisinin artmasını, kemokinlerin sekresyonunu içerir. TNF- α 'nın endotelyumda kemokin ve sitokinlerin salınımını arttırması yanında, E-selektin ve ICAM-1 gibi diğer adezyon moleküllerinin artması ile endotelyum aktif hale gelir. TNF- α nötrofilleri ve makrofajları aktive eder, B hücrelerini stümile eder. IL-12 ve IL-18 birbirinden bağımsız olarak mukozal T-hücreler aracılığı ile IFN-gamma'nın üretimini artırır. Bu T hücrelerindeki CD 34 'ü aktive eder, intraepitelyal lenfosit proliferasyonunu ve migrasyonunu artırır. TNF- α intestindeki dendritik hücrelerden harekete geçer. Granulom formasyonunun belirleyici etkeni olarak ortaya çıkar. IL-6, IL-1 ile beraber

İBH'nın semptomlarına katkıda bulunur ve akut faz proteinlerinin üretimine neden olur (34). Beutler ve ark. kronik inflamasyonlu hastalarda şiddetli kilo kaybına neden olan faktörleri incelerken, monositlerden salınan bir faktörün bundan sorumlu olduğunu bulmuşlardır. Bu proteine kaşektin adını vermişler, daha sonra bu proteinin TNF- α 'nın protein yapısına benzediğini bulmuşlardır. Yapılan bir çalışmada, kaşektin-TNF- α 'nın sepsis patogenezindeki rolünü keşfedebilmek için LPS'nin etkilerine dirençli bir fare grubu kullanılmıştır. LPS verilen hayvanların kanlarında yapılan incelemelerde TNF- α yoğunluğu düşük bulunmuştur. Daha sonra LPS dirençli farelere TNF- α verildiğinde sepsise benzer bir tablo görülmüştür (35).

TNF- α gram negatif bakterilere konakçı yanıtının temel mediyatörüdür. TNF- α yüksek yoğunluklu lipopolisakkaride (LPS) bağlı doku hasarında, damar içi pıhtılaşmada (DIC) ve septik şokta temel mediyatördür. TNF- α 'nın temel hücrel kaynağı LPS'nin uyardığı mononükleer fagositlerdir. Ayrıca bu protein, antijen ile uyarılmış T hücreleri, aktive edilen doğal öldürücü hücreler ve aktive edilmiş mast hücreleri tarafından salgılanır. Aktive olan hücrelerin TNF sentez ve salgılama olayı çok sayıda ardışık olayı içerir. T hücreleri tarafından üretilen interferon γ , reseptör defekti olan farelere verildiğinde, TNF- α üretiminin azaldığı çalışmalarda gösterilmiştir (36).

2.5. MYELOPEROKSİDAZ

Myeloperoksidaz (MPO) fagositik hücrelerde bulunan lizozomal bir enzimdir. Polimorfonükleer lökositlerin azurofil granüllerinde fazla miktarda bulunur. Diğer inflamatuvar hücreler olan monosit ve makrofajlarda çok az miktarda bulunur veya hiç bulunmaz. Bu nedenle nötrofil sekestrasyonunun kantitatif bir göstergesi olarak ölçülmesinde kullanılan ve duyarlı bir gösterge oluşturan MPO aktivitesi giderek artan bir poplarite kazanmaktadır. Myeloperoksidaz'ın görevi nötrofiller tarafından fagosite edilen ürünlerin yıkımını oluşturan bazı tepkimeleri katalizlemektir (37).

Myeloperoksidaz moleküler ağırlığı 140 kDa olan bir kan proteindir. İki çift alt birim içeren tetramer yapıda bir enzimdir. Alt birimlerinden ikisi ağır (55.000–62.000 Da), ikisi de hafif (10.000–15.000 Da) alt birim olarak adlandırılır. Ağır olanların her birine bir prostetik grup bir de karbonhidrat grubu bağlıdır. Nötrofiller savunma sisteminin en önemli bakterisidal silahıdır. Bu etkileri, hipoklorik asit (HOCl) üretimini katalize etmeleri sonucu ortaya çıkan, hidrojen peroksit ve klor iyonundan gelen güçlü bir antioksidan mekanizmaya bağlıdır. İnflamasyon durumunda MPO ekstrasellüler ortama

salınır. Bunun ölçümü nötrofil aktivasyonunun bir göstergesi olarak kullanılır. Bir başka ifade ile dokulardaki nötrofillerin çokluğunun bir göstergesidir (38).

2.6. İLERİ OKSİDATİF PROTEİN ÜRÜNLERİ (AOPP)

İleri oksidatif protein ürünleri asıl olarak protein çapraz bağları ve ditirozin rezüdülerin oluşmasına bağlı klorlanmış bileşiklerin aktivasyonu sonucu meydana gelmiştir. İleri oksidatif protein ürünleri, oksidatif dengesizliğin olması durumunda, T-lenfositler, monositler ve nötrofillerin aktivasyonu ile inflamasyonun devam etmesine katkıda bulunur. İleri oksidatif protein ürünlerin artmış durumu birçok patolojik durumda erken marker ve prognostik faktör olarak tanımlanmıştır. Son zamanlarda monitörize edilen kritik hastalarda AOPP düzeyleri ölçümünün kullanımı ayrıca önerilmiştir. Çalışmak için daha stabil ve daha kolaydır (39).

2.7 GLUTATYON (GSH)

Glutamat, sistein ve glisinden sentezlenen bir tripeptiddir. Başta karaciğer olmak üzere pek çok dokuda yüksek düzeyde bulunur. Glutatyon hücre içinin en önemli antioksidan molekülüdür (40). Serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek oksidatif hasara karşı hücreleri korur. Ayrıca hücrenin protein yapısındaki sülfhidril (-SH) gruplarını indirgenmiş halde tutarak pek çok proteinin ve enzimin inaktivasyonunu engeller. Glutatyon amino asitlerin membrandan taşınmasında da rol alır (41,42). Glutatyon, GSH-transferaz ve peroksidazlar için bir substrat olup ksenobiyotik ve reaktif oksijen türlerinin detoksifikasyonuna katılır. (43,44). Glutatyon oksidasyonu, apoptotik sürecin erken belirtisidir ve metabolik sinyal gibi davranabilir (45).

2.8. C-REAKTİF PROTEİN (CRP)

C-reaktif protein beş monomer içeren en önemli akut faz proteinlerden biridir. C-reaktif protein diğer akut faz proteinleri ile karşılaştırıldığında 19 saat gibi kısa bir yarılanma ömrüne sahiptir. Bu nedenle inflamasyonun başlangıcında erken dönemde hızlıca artar, inflamasyonun gerilemesinde ise hızlı bir şekilde düzeyleri azalır (46). C-reaktif protein seviyelerinin artması, esas olarak IL-6'nın artması ile, daha az oranda ise IL-1 beta ve TNF- α 'nın artması ile olmaktadır. CRP'nin klinikte ve pratikte kullanımı farklı amaçlar için olabilir. Organik hastalığın tanısında, takibinde, ayırıcı tanısında ve tedaviye cevabı görmek için kullanılmıştır (47).

3. MATERYAL ve METOD

Bu deneysel çalışma Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nde (DEKAM), Ekim 2008-Ocak 2009 tarihleri arasında yapıldı. Çalışma ile ilgili olarak Tıp Fakültesi Etik Kurulunun onayı alındı (Etik kurul onay no: TST-08-470)

Çalışmada ağırlıkları 225–275 gram arasında değişen, 28–32 haftalık 24 adet dişi Wistar-Albino sıçan kullanıldı. Gruplar randomize olarak her biri 8'er sıçandan oluşan 3 gruba ayrıldı:

Grup 1 (kontrol); Bu gruptaki deneklere rektal yoldan serum fizyolojik verildi.

Grup 2 (kolit) ; TNBS–E maddesi ile kolit oluşumu tetiklendi ve tedavi verilmedi,

Grup 3 (tedavi) ; Kolit tetiklendikten sonra Etil pirüvat uygulandı.

Sıçanlar deneyden 1 hafta önce laboratuvar koşullarına alınarak, 21⁰C'de barındırıldı ve standart sıçan yemi ile beslendi. Deneylerden önceki gece su serbest olmak üzere 12 saat aç bırakıldı. Bütün cerrahi işlemler sabah 08:00 – 11:00 saatleri arasında yapıldı. Anestezi intraperitoneal 50 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg xylazine ile sağlandı. Deney süresince spontan solunuma bırakıldı. Anestezi sonrası sıçanlar tartılarak ağırlıkları kaydedildi.

Kolit oluşumu Yano ve ark.'ın tarif ettikleri şekilde oluşturuldu (48). Bu metoda göre 3.5 F plastik kanül rektal yoldan 8 cm içeri itildi. Bu kanülden %50 TNBS+%50 etanol (TNBS–E) olacak şekilde 15 mg/0,3 ml/rat TNBS–E kolon içerisine yavaşça instile

edilerek kolit tetiklendi. Daha sonra sıçanlar verilen maddenin kaçmasını engellemek için supin pozisyonunda anesteziden çıkana kadar bekletildi



Resim 1. TNBS-E Uygulanması

3.1. GRUPLAR

Kontrol grubunda (grup 1) rektal yoldan yapılan kateterizasyonla kolona sadece % 0,9'luk NaCl verildi.

Kolit grubunda (grup 2) kateterizasyon ile 15 mg 2, 4, 6-trinitrobenzene sulphonic acid ile 0.25 ml %30'luk etanolün karışımı (TNBS-E) intrakolonik olarak verilip kolit oluşumu tetiklendi.

Tedavi grubuna ise (grup 3) kateterizasyon ile TNBS-E intrakolonik olarak verilip kolit oluşumu tetiklendikten sonra 30.dakikadan başlanarak ringerli laktat solusyonu içinde çözülmüş 100 mg/kg EP 10 gün boyunca günde bir defa intraperitoneal olarak verildi. Tüm sıçanlar 10 gün boyunca standart sıçan yemi ile beslendi.

3.2. CERRAHİ İŞLEM

Kolit indüksiyonunun 3.günü CRP ve TNF- α seviyelerini ölçmek için 1cc kan alındı. 10. gününde İntraperitoneal olarak 50 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg xylazine ile sağlanan

anestezi sonrasında sıçanlara orta hat laparotomi yapıldı. TNF- α , CRP düzeylerini çalışmak için Vena kavadan 5 cc kan alındı. Ardından transvers kolonun ortasından rektuma kadar kolon rezeksiyonu yapıldı.

Sıçanlar letal doz tiopental sodyum verilerek sakrifiye edildiler. Kan örnekleri santrifüj edilip - 80 dereceye konuldu. Dokuda MDA, MPO, AOPP, GSH düzeylerini ölçmek , makroskopik ve mikroskopik değerlendirme yapmak için kolon rezeksiyon materyali longitudinal olarak açılıp fekal içerik %0.9 salin ile temizlendi. Daha sonra dokuda çalışılması gereken örnekler -80C'de homojenize edilmek üzere saklandı. Mikroskopik ve makroskopik değerlendirme yapmak için dokuların diğer kısmı ise %10'luk formaldehit içerisinde saklandı.

3.3. MAKROSKOPİK SKORLAMA

Kolonik mukozadaki makroskopik değişiklikler Pedro ve Campos tarafından tarif edildiği gibi 5 farklı şekilde sınıflandırıldı (49). Makroskopik morfoloji skorlamaları Tablo 3' de gösterilmiştir.

Tablo 3. Kolonik mukozadaki makroskopik bulguların sınıflandırılması (49)

| DERECE | BULGU |
|--------|---|
| 0 | Korunmuş, normal görünümlü mukozal tabaka |
| 1 | Ödem konjesyon ve yüzeysel ülserasyon olmadan eritemli alanlar |
| 2 | Lineer yüzeysel ülserasyonlar. (7-15mm), deprese olmuş eritematöz veya daha koyu mukoza görünümü, granüler zemin |
| 3 | Düzensiz zemin üzerinde ülserli alan. (15-45mm); ülserli mukoza çevresinde normal adacıkların ve ödematöz mukozanın bulunması |
| 4 | Yaygın düzensiz ve multipl ülserler. (>45mm); incelmış barsak duvarı, granüler, irregüler zemin |

3.4. MİKROSKOPİK SKORLAMA

Mukozanın makroskopik olarak değerlendirilmesinden sonra histolojik değerlendirmeler Yamamoto ve ark'nın tariflediği şekilde yapıldı. Kısaca, parafin bloklar oluşturulduktan alınan kesitler H&E ile boyanıp mikroskop altında incelendi. Kolonik mukozadaki mikroskopik değişiklikler 0–3 değerleri arasında derecelendirildi (50).

Tablo 4. Kolonik mukozadaki mikroskopik bulguların sınıflandırılması (50)

| DERECE | BULGU |
|--------|---|
| 0 | Normal epitel, hücrelerde şişme yok, normal kript görünümü mevcut, düşük düzeyde monosit infiltrasyonu, ya hiç ya da çok az nötrofil infiltrasyonu |
| 1 | Tek epitel hücre kaybını ifade eder. Epitelyumda orta derecede şişme, kriplere tek inflamatuvar hücre infiltrasyonu, hafif monosit-nötrofil infiltrasyonu |
| 2 | Multipl epitel hücre kaybı, epitelyal düzleşme, kriptit oluşumu ve orta düzeyde monosit-nötrofil infiltrasyonu |
| 3 | Belirgin epitelyal ülserasyon, kript abseleri ve monosit ve nötrofil düzeylerinde belirgin artış olması |

3.5. MPO AKTİVİTE ÖLÇÜMÜ

Kolon mukozasındaki miyeloperoksidaz aktivitesi kolon homojenatları oluşturularak Krawisz ve ark'nın tariflediği şekilde MPO sıçan kiti kullanılarak (Hbt, Netherlands) Elisa yöntemi ile ölçüldü (37). Bu tekniğe göre kolonik mukoza buz soğukluğunda potasyum fosfat buffer ile (PH:6.0) heksadesiltrimetil amonyum bromid içeren çözeltide homojenize edildi. Homojenat 3 kez freeze low döngüsüne tabi tutuldu. 15 dk boyunca 40000 g'de 4 derecede santrifüj edildi. O–Dianisidin–H₂O₂ buffer süpernatanta eklendi ve absorbans değişikliği ($\lambda=460$ nM) 2 dk boyunca ölçüldü. 1 MPO aktivite ünitesi 1

dk'da degrade olan 1 mMol H₂O₂'e karşılık gelmektedir. Sonuçlar gram doku başına enzim aktivite ünitesi (U/g doku) şeklinde ifade edildi.

3.6. SERUM TNF- α VE CRP DÜZEYLERİNİN ÖLÇÜMÜ

Serum TNF- α , CRP düzeyleri için kan örnekleri 4000 devir/dakikada 10 dakika santrifüj edilerek serum ayrıştırıldı. Serum örnekleri eppendorf tüplerine konularak analiz gününe kadar -70°C'de saklandı. Serum CRP düzeyi ng/ml olarak sıçan kiti ile saptandı (ELİSA kiti, BioVendor, Czech Republic). Serum TNF- α düzeyi pg/ml olarak sıçan TNF- α Elisa kiti ile saptandı (Rat TNF- α Enzyme Immunometric Assay Kit, Biosource, Belgium).

3.7. MALONDİALDEHİT (MDA) AKTİVİTE ÖLÇÜMÜ

Sıçan kolon dokusu MDA tayininde, Okhawa ve arkadaşları tarafından geliştirilen metod kullanıldı (51). Sıçan kolon dokusu %10 (w/v) olacak şekilde pH 7.4 fosfat tamponu içinde homojenize edildi. Dokular santrifüj edildi ve süpernatant MDA tespitinde kullanıldı. Süpernatantlardan 0.1 ml alınarak kapaklı cam tüplere aktarıldı. Üzerlerine sırasıyla %8.1'lik 0.1 ml sodyum dodesil sülfat, 0.75 ml asetik asetik, 0.75 ml tiyobarbitürik asit ve 0.3 ml distile su ilave edildi. Kapakları sıkıca kapatılan tüpler kaynar su banyosunda 60 dk. süreyle tutuldu. Bu sürenin bitiminde tüpler musluk suyu altında soğutuldu. Soğuyan tüplere 0.5 ml distile su ve 2.5 ml n-butanol-PRİDİN karışımı ilave edildi. Tüp içerikleri PVC tüplere aktarıldı ve 4°C'de 4000 rpm'de 15 dk. süreyle santrifüj edildi. Tüplerin üst kısmındaki pembe renkli organik fazın absorbansı 532 nm'de distile su ile aynı şekilde çalışılan köre karşı okutuldu. Değerlendirme standart eğri üzerinden yapıldı. Standart seri hazırlamak için stok MDA çözeltisinden 100 nmol/ml yoğunlukda olacak şekilde hazırlandı. Ara stoktan 2.5; 5; 10; 20; 40; 50 nmol/ml yoğunluklarda olacak şekilde tetrametoksipropana karşı MDA üretimi sağlandı. Sonuçta oluşan MDA yoğunlukları dokunun yaş ağırlığının her bir gramındaki nmol cinsinden MDA olarak tariflendi

3.8.GSH DÜZEYLERİNİN ÖLÇÜMÜ

Glutasyon ölçümleri ise Sendlay ve Lindsay ark (52)'nin yaptığı gibi kolon dokuları TCA ile (% 10 v/v) olacak şekilde homojenize edilerek, santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantların üzerine Na₂HPO₄ çözeltisi ile ditiyobis nitro benzoik asit içeren Elman ayıracı eklendi ve 412 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak Elisa kiti ile okundu (Cayman marka, USA). Sonuçlar nmol/mg protein olarak ifade edildi.

3.9.AOPP DÜZEYLERİNİN ÖLÇÜMÜ

AOPP seviyelerinin spektrometrik ölçümü Witko'nun metoduna göre yapılmıştır (53). Sonuçlar nmol/mg protein olarak ifade edilmiştir.

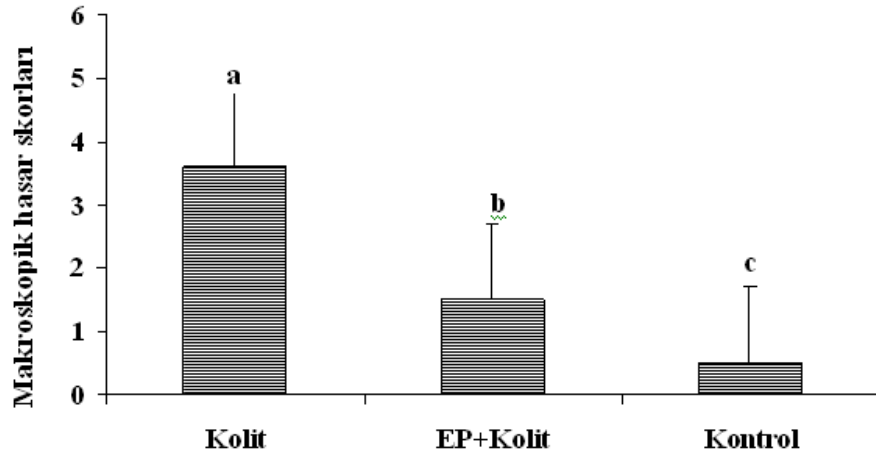
3.10. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistik değerlendirme; bilgisayar ortamında, Statistical Package for the Social Sciences (SPSS,11.0 version) programında yapıldı. P<0.05 değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Myeloperoksidaz, MDA, AOPP, GSH, CRP ve TNF- α değişken dağılımları ortalama \pm standart sapma (mean \pm SEM) olarak tanımlandı. Bu değişkenlerin gruplar arasındaki farkına Anova testi kullanılarak bakıldı. Makroskobik ve mikroskobik değerlendirmede kullanılan veriler medyan (min-max) değerleri ile tanımlandı. C-reaktif protein ve TNF- α değişken dağılımlarının ortalama değerlerinin farklı zamanlardaki farkına non parametrik testler yapılarak saptandı. Bunlara Wilcoxon testi kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. MAKROSKOPİK DEĞERLENDİRME SONUÇLARI

Çalışmamızda, TNBS-E ile kolit oluşturulan gruptaki makroskopik skorların hesaplanması sonucunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık saptandı ($p<0.05$). Kolit grubunda belirgin düzeyde oluşmuş olan inflamasyon tedavi grubunda anlamlı şekilde azalmıştır ($p<0.05$). Grafik 1’de gruptaki makroskopik skorlar gösterilmiştir.



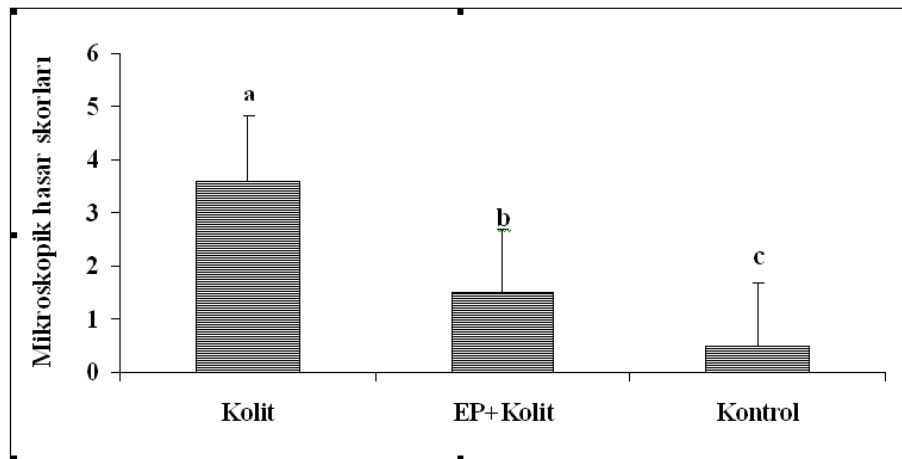
Grafik 1. Gruplara göre makroskopik hasar skoru değerleri. Değerler ortalama (mean \pm SEM) olarak ifade edilmiştir. Farklı harfler grupların birbirinden farklı olduğunu ifade etmektedir ($p<0.05$).



Resim 2. TNBS-E (kolit) grubunda izlenen inflamasyon ve nekroz görünümü

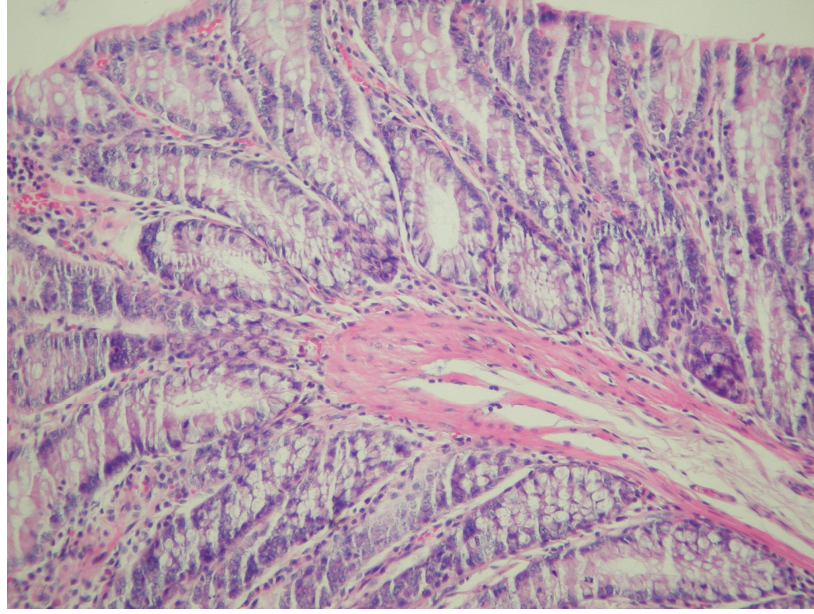
4.2. MİKROSKOPİK DEĞERLENDİRME SONUÇLARI

Çalışmamızda, TNBS-E ile kolit oluşturulan gruptaki mikroskopik skorların hesaplanması sonucunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık saptandı ($p<0.05$). Kolit grubunda belirgin düzeyde oluşmuş olan inflamasyon tedavi grubunda anlamlı şekilde azalmıştır ($p<0.05$). Grafik 1’de gruplardaki mikroskopik skorlar gösterilmiştir. Gruplara göre mikroskopik hasar skoru değerleri Grafik 2’de gösterilmiştir.

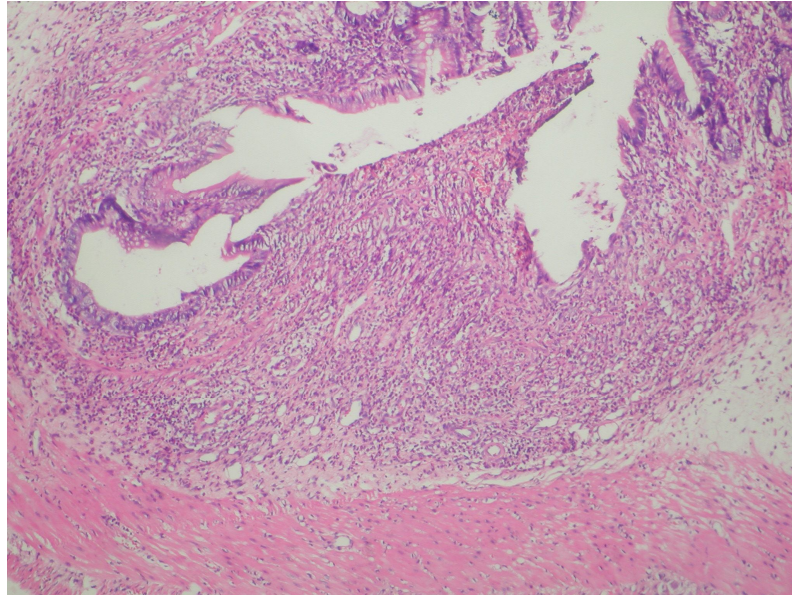


Grafik 2. Gruplara göre mikroskopik hasar skoru değerleri. Değerler ortalama (mean \pm SEM) olarak ifade edilmiştir. Farklı harfler grupların birbirinden farklı olduğunu ifade etmektedir ($p<0.05$).

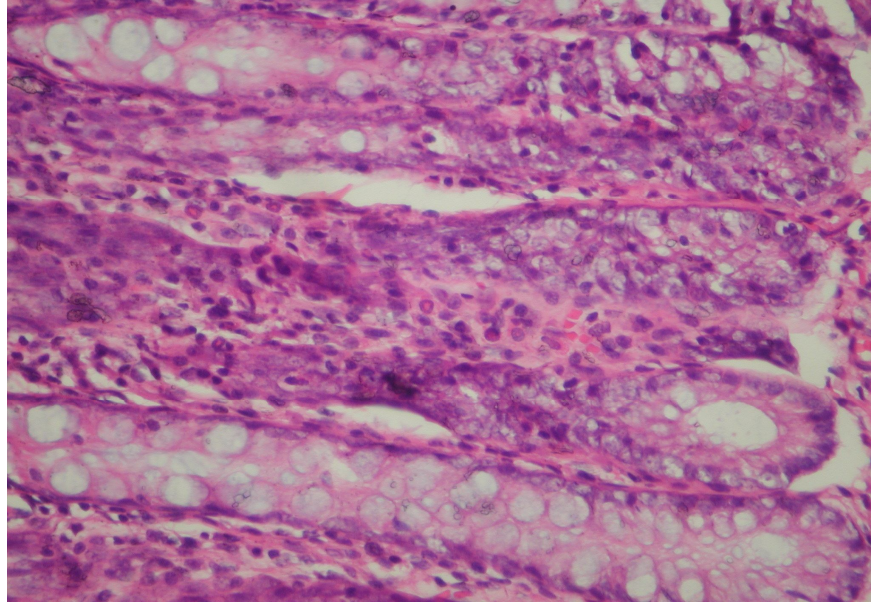
Gruplardan histopatolojik görünüm örnekleri;



Resim 3. Kontrol grubundan normal kolonik epitel görünümü



Resim 4. Kolit grubundan epitel hücre kayıpları, kriptit, erozyon, lenfoid follikül görünümü ve mukozal ülserasyon (Derece 2)



Resim 5. Tedavi grubunda epitelyumda orta derecede ödem, hafif inflamasyon görünümü lamina propriada nötrofil infiltrasyonu (Derece 1)

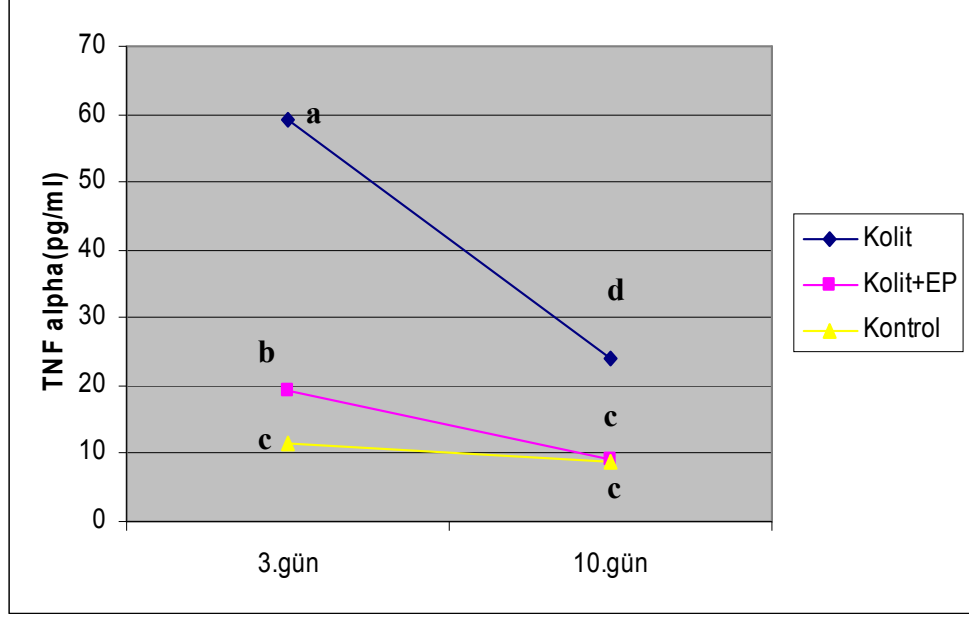
4.3. TNF- α ve CRP SONUÇLARI

Serumda çalışılmış olan 3. gündeki TNF- α değerleri karşılaştırıldığında kolit ve tedavi grubundaki değerlerin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır ($p<0.05$). Tedavi grubundaki TNF- α değerleri kolit grubuna göre anlamlı düzeyde daha düşüktür ($p<0.05$). TNF- α 'nın 10. gündeki değerleri karşılaştırıldığında, tedavi grubundaki değerlerin kolit grubuna göre anlamlı düzeyde düşük olduğu görüldü. ($p<0.05$).

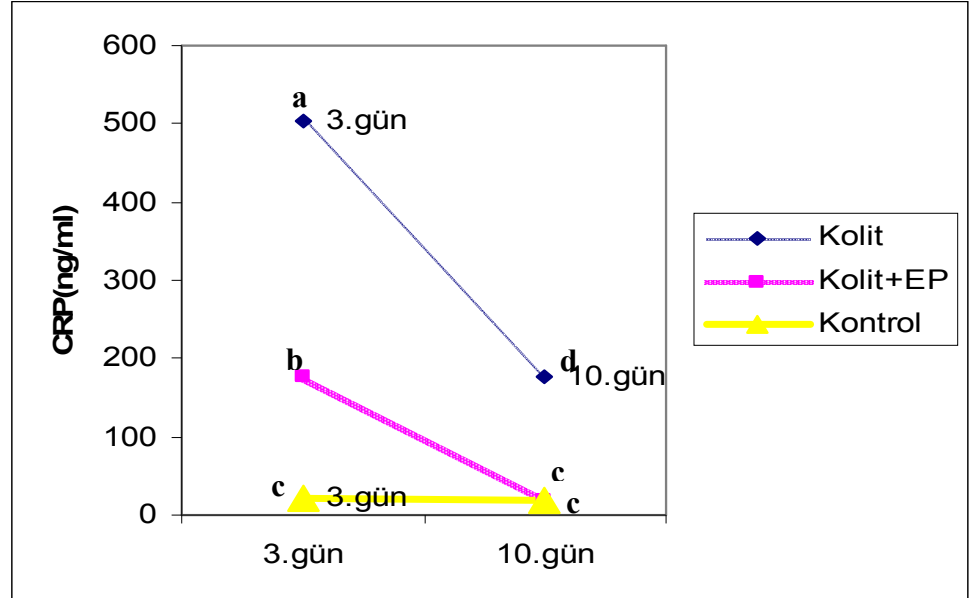
C-reaktif protein'nin 3. gündeki değerleri karşılaştırıldığında kolit ve tedavi grubundaki değerlerin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Tedavi grubundaki değerlerin ise kolit grubuna göre anlamlı düzeyde düşük olduğu saptanmıştır ($P<0.05$). C-reaktif protein'nin 10. gündeki değerleri karşılaştırıldığında, tedavi grubundaki değerlerin kolit grubuna göre anlamlı düzeyde düşük olduğu görüldü ($p<0.05$). TNF- α ve CRP'nin 10. gündeki değerleri karşılaştırıldığında, tedavi grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı düzeyde fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

TNF- α ve CRP'nin 3. gün değerleri 10. gün değerleri ile karşılaştırıldığında, kolit ve tedavi grubundaki değerlerin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azalma olduğu

saptanmıştır ($p<0.05$). TNF- α ve CRP'nin gruplara göre ve zamana göre ortalama ve standart sapma değerleri Grafik 3'de gösterilmiştir.



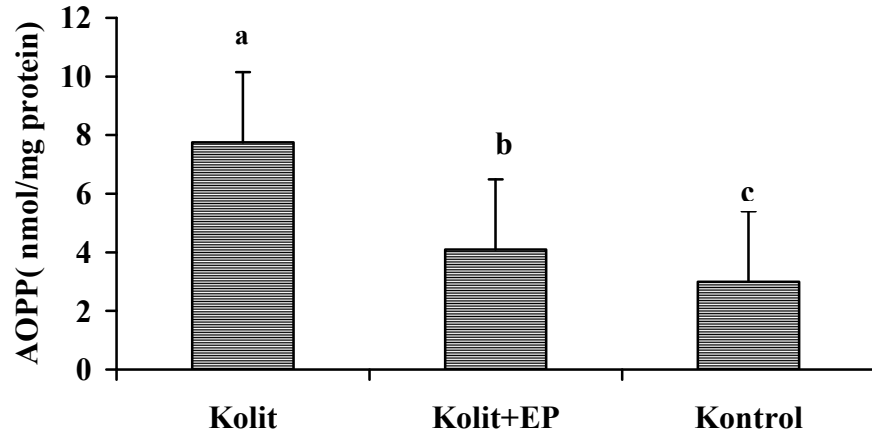
Grafik 3. Gruplara ve zamana göre TNF- α değerleri. Farklı harfler grupların birbirinden hem zamana göre hemde kendi arasında farklı olduğunu ifade eder ($p<0.05$).



Grafik 4. Gruplara ve zamana göre CRP değerleri. Ortalama (mean \pm SEM) olarak ifade edilmiştir. Farklı harfler grupların birbirinden hem zamana göre hemde kendi arasında farklı olduğunu ifade eder ($p<0.05$).

4.4. AOPP SONUÇLARI

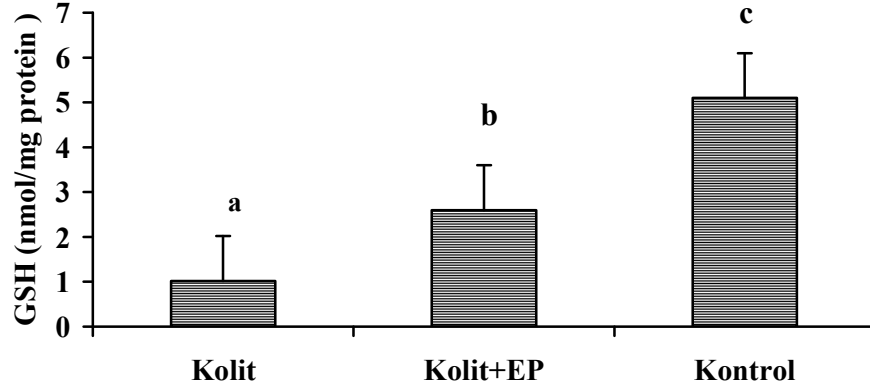
Dokuda çalışılan AOPP değerleri karşılaştırıldığında, kolit grubundaki değerlerin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır. ($p<0.05$). Tedavi grubundaki değerlerin kolit grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı düzede düşük olduğu saptanmıştır ($p<0.05$). Ortalama ve standart sapmaların karşılaştırılması Grafik 5 'de gösterilmiştir.



Grafik 5. Gruplara göre AOPP değerleri. Ortalama (mean \pm SEM) olarak ifade edilmiştir. Farklı harfler grupların birbirinden farklı olduğunu ifade eder ($p<0.05$).

4.5. GSH SONUÇLARI

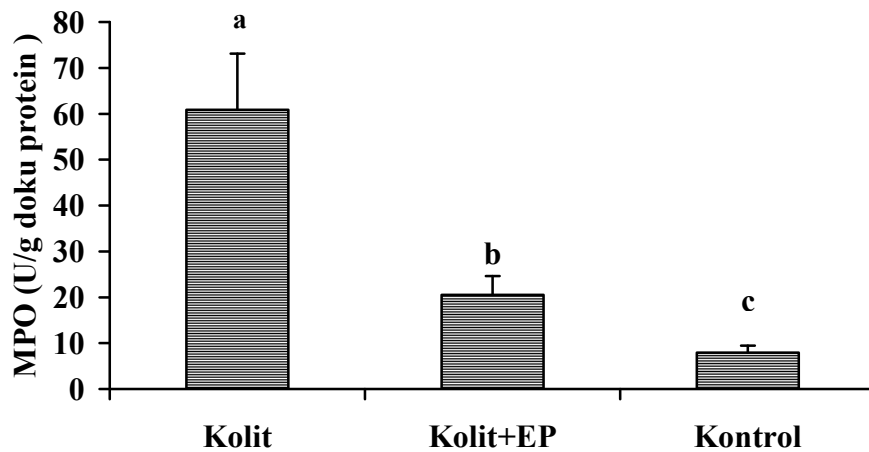
Dokuda çalışılan glutatyon (GSH) değerleri karşılaştırıldığında, kolit ve tedavi grubundaki değerlerin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük olduğu saptanmıştır ($p<0.05$). Tedavi grubundaki değerlerin ise kolit grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p<0.05$). Glutatyon düzeylerinin ortalama ve standart sapmaların karşılaştırılması Grafik 6'da gösterilmiştir.



Grafik 6. Gruplara göre GSH değerleri. Ortalama (mean \pm SEM) olarak ifade edilmiştir. Farklı harfler grupların birbirinden farklı olduğunu ifade eder ($p < 0.05$).

4.6. MPO SONUÇLARI

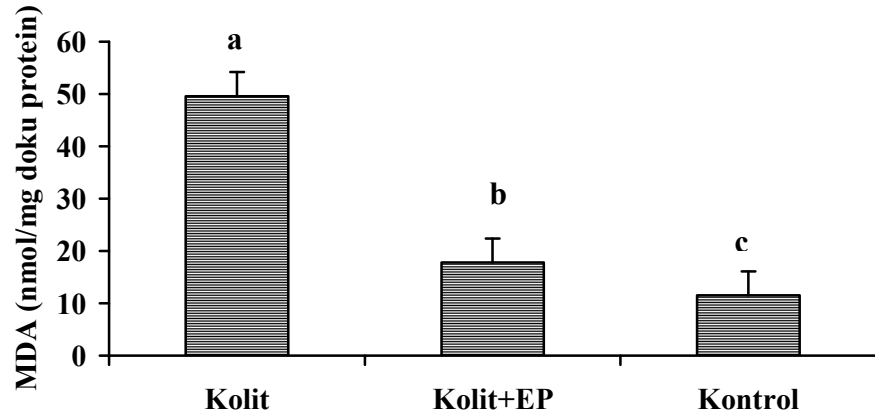
Doku düzeyinde çalışılan MPO değerleri karşılaştırıldığında kolit ve tedavi grubundaki değerlerin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$). Tedavi grubundaki değerlerin ise kolit grubuna göre anlamlı düzeyde düşük olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$). Myeloperoksidaz düzeylerinin ortalama ve standart sapmalarının karşılaştırılması ise Grafik 7’de gösterilmiştir.



Grafik 7. Gruplara göre MPO değerleri. Ortalama (mean \pm SEM) olarak ifade edilmiştir. Farklı harfler grupların birbirinden farklı olduğunu ifade eder ($p < 0.05$).

4.7. MDA SONUÇLARI

Doku düzeyinde çalışılan MDA değerleri karşılaştırıldığında kolit ve tedavi grubundaki değerlerin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır ($p<0.05$). Tedavi grubundaki MDA düzeyleri kolit grubuna göre anlamlı düzeyde düşük olduğu saptanmıştır ($p<0.05$). MDA düzeylerinin ortalama ve standart sapmalarının karşılaştırılması Tablo 8’de gösterilmiştir



Grafik 8. Gruplara göre MDA değerleri. Ortalama (mean \pm SEM) olarak ifade edilmiştir. Farklı harfler grupların birbirinden farklı olduğunu ifade eder ($p<0.05$).

5. TARTIŞMA

Ülseratif kolit ve Crohn hastalığı akut ve/veya kronik inflamasyon ile karakterize olup, genel popülasyon ile karşılaştırıldığında artmış kolorektal kanser riski olan, etyolojisi bilinmeyen iki hastalıktır (11). Ülseratif kolit 15- 30 ve 50-70 yaşları arasında iki kez pik yapar. Hastaların sadece %10'u 18 yaş altındadır. Hastalık kadın ve erkeklerde eşit sıklıkta görülür (54). İnflamatuvar barsak hastalığı, coğrafi dağılıma göre farklılık göstermektedir. Asya ve Güney Amerika'da daha nadir olup ÜK ve CH için görülme sıklıkları sırasıyla 0,5/100.000 ve 0,08/100.000'dir. ABD verilerine göre görülme sıklığı ÜK için 11/100.000 iken, CH için 7/100.000'dir. (55). Akut olaylarda bir çok deneysel hayvan modeli İBH'nin özelliklerini ortaya çıkarmakta eksik kalır. Trinitro-benzen sülfonik asid (TNBS) kolitinin, İBH çalışmalarında kullanışlı olduğu ispatlanmıştır (56). İnflamatuvar barsak hastalıklarının araştırılmasında kullanılacak bir maddenin kolit modelinde, barsakta benzer morfolojik değişiklikler ortaya çıkmalı ve patofizyoloji ile klinik semptom ve bulgular insandaki İBH'na benzer olmalıdır. Ayrıca deneyde kullanılacak hayvanların genetik geçmişleri, immünolojik sistemleri ve kullanılacak kimyasal maddelerin etkileri iyi tanımlanmış olmalıdır. Trinitro-benzen sülfonik asid (TNBS) ile oluşturulan kolit modeli hapten ile tetiklenmiş gecikmiş tip hipersensitivite sonrası oluşan kronik bir inflamasyon ve ülserasyon modelidir. Ülserasyon ve barsak duvarındaki kalınlaşma yaklaşık 8 hafta kadar devam ettiğinden bu model, kronik kolit oluşması için tercih edilmektedir. Histolojik olarak mukoza ve submukozada PMNL, makrofaj, lenfosit, bağ dokusu, mast hücreleri ve fibroblastlardan oluşmuş inflamatuvar cevap mevcuttur (57,58). Bundan dolayı çalışmamızda TNBS kolitini kullandık. On yıl önce, ÜK ve CH sakat bırakan önemli bir hastalık olarak tartışılıyordu. O zamanlarda

daha az miktarda çalışma yapıyordu. Etiyolojisi tam olarak aydınlatılmadığı halde, moleküler arabulucuların ve doku hasarı mekanizmalarının anlaşılmasında büyük ilerlemeler sağlanmıştır. İnflamatuvar barsak hastalıklarının patogenezinde immün sistemin, genetik yatkınlığın ve çevresel faktörlerin rol oynadığı düşünülmektedir. (34). İnflamatuvar barsak hastalığındaki intestinal hasar, antioksidan sistemin bozulması ve fagositik hücrelerin infiltrasyonu sonucu ROS'un artması ile ilişkilidir (11). Dolayısıyla temel fizyopatolojik mekanizma Th1 ve Th2 lenfositlerinin aktivasyonunda düzensizlik ya da proinflamatuvar sitokinler ile antiinflamatuvar sitokinler arasında dengenin bozulmasıdır. Bu yönde çok sayıda çalışma yapılmıştır. Th1 hücreleri inflamatuvar yanıtın devamlılığını sağlayan sitokinleri (TNF- α , IL-1, IL -2, IL-6, IL -8, IL -12, INF- γ) üretirken (59), Th2 hücreleri ise inflamasyonu azaltan sitokinleri (IL-4, IL-10, IL-11, IL -13) üretirler. Bunlardan proinflamatuvar sitokinler inflamasyonu alevlendirir. Anti-inflamatuvar sitokinler ise inflamasyonu yatıştırır. Bu düşünce ile proinflamatuvar sitokinlerin etkisini yok edecek ya da azaltacak tedaviler üzerinde çalışılmaktadır (60).

Pirüvat, hücrelerde endojen ROS temizleyicisi olarak fonksiyon görür. Bazı verilere göre diğer ROS ve hidroksil radikallerini de temizleme yeteneğine sahiptir. Salahudeen ve ark (5) pirüvat içeren solusyonların, hidrojen peroksit ile tetiklenmiş akut renal yetmezlikli sıçan modellerinde renal fonksiyonları koruduğunu göstermiştir. EP'nin diğer araştırmalarda hepatik, intestinal ve miyokardial iskemi/reprfüzyon hayvan modellerinde organ hasarını veya disfonksiyonunu düzelttiği gösterilmiştir. Yine pirüvat içeren solusyonlar diyabet ile indüklenmiş katarakt, hemorajik şok ve basınç ile tetiklenmiş retinal hasar modellerinde faydalı etkilere sahiptir (61). Etil pirüvat NF- κ B ve p38 mitojen-aktif protein kinaz moleküllerinin aktivitelerini bloke eder. Bu moleküller hücre içi proinflamatuvar sinyal iletim zincirinde önemli iki maddedir. Yang ve ark.'nın yaptığı deneysel hemorajik şok modelinde EP tedavisi ile proinflamatuvar transkripsiyon faktörü, nükleer faktör (NF)- κ B, nitrik oksit (NO) sentetaz, tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α), siklooksijenaz 2 (COX-2) ve interlökin-6 (IL-6) düzeylerinin karaciğerde, ileal ve kolonik mukozada azaldığı gösterilmiştir. Bütün bu bulgular EP'nin antiinflamatuvar ve antioksidan aktiviteye sahip bir ajan olabileceğini düşündürmüştür (9). Çalışmamızda İBH'nin patofizyolojisinden yola çıkarak EP'yi antioksidan ve anti-inflamatuvar etkisinden yararlanarak, kolit modelinde bu süreci baskılamak için kullandık. Literatürde sepsis, ileus ve iskemi-reprfüzyon gibi değişik

hayvan modellerinde EP'nin kullanım dozları 40-150 mg/kg arasında verilmiştir (62). Uchiyama T ve ark. deneysel iskemi/reperfüzyon modelinde EP'nin doza bağlı etkilerini araştırmışlar. EP'nin 50 mg/kg üzerindeki dozlarda, barsakta mikrovasküler hipoperfüzyonu ve mukozal hasarı azalttığını tespit etmişler (63). Li ve ark sıçanlardaki deneysel ciddi abdominal enfeksiyonda intestinal mukozadaki iyileşmeyi EP'nin 100 mg/kg tedavi dozunda göstermişlerdir (64). Biz de çalışmamızda EP'nin tedavi edici dozunu 100 mg/kg olarak belirledik. Çalışmamızda EP'nin proinflamatuvar sitokinler üzerine etkisini değerlendirmek için kolit oluşumunun 3. gününde serum TNF- α ve CRP düzeylerine, 10. gününde ise serum TNF- α , CRP ve doku MPO düzeylerine bakılmıştır. TNF- α , İBH'da inflamasyon sürecini göstermede en önemli proinflamatuvar sitokinlerden biridir. Son zamanlarda yayınlanan çalışmalarda deneysel kolit modellerinde oral TNF- α antikorlarının verilmesi ile etkili tedavi sağlanmıştır. TNF- α düzeylerinin yüksek olması da bütün sıçan kolit modellerinin özelliğidir. Küçük ve ark., Met-RANTES'in deneysel kolit modelinde oluşan bakteriyel translokasyon üzerine etkilerini incelemişlerdir. TNF- α seviyelerinin inflamasyonunun artışına paralel olarak yükseldiğini, Met-RANTES tedavisinin serum TNF- α seviyelerini ve bakteriyel translokasyonu azalttığını tespit etmişlerlerdir (65). Funakoshi ve ark'nın çalışmasında ise kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, CH ve ÜK'li hastalarda IL-1 β , IL-6, IL-8 ve TNF- α mRNA'sının artmış ekspresyonu gösterilmiştir (66). Benzer bir çalışmada, Masuda ve ark. inaktif ÜK'te bile IL-8, TNF- α ve IFN- γ mRNA'nın artmış üretiminin olduğunu ve bu üç sitokinin ÜK'in tekrarlayan inflamasyon patogenezinde önemli bir rol oynadığını tespit etmişler (67). Çalışmamızda da benzer şekilde kolit oluşumunun 3. ve 10. gününde ölçülen TNF- α ve CRP değerleri karşılaştırıldığında, tedavi grubundaki değerlerin kolit grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığı saptanmıştır. (p<0.05) (Grafik 3).

İnfliximab (Anti-tümör nekrozis faktör), 1990'larda biyolojik tedavilerin gelişimi sonucunda İBH'da güçlü tedavi edici ilaç olarak tanıtıldı. İnfliximab son zamanlarda kortikosteroide dirençli, inatçı, aktif veya fistülize olan CH'da ve dirençli ÜK hastalarında kullanılmaktadır. Anti-TNF tedavisi bilinen güncel tedavilere cevap vermeyen hastalarda dikkat çekici bir etkiye sahiptir (68).

C-reaktif protein'nin bir çok inflamatuvar hastalıklarda düzeyi artmasına rağmen, ÜK ile CH arasında CRP cevabı açısından dikkat çekici bir fark vardır. Crohn'da CRP cevabı güçlü iken ÜK'te ise ılımlı veya yoktur. Henriksen ve ark. yaptığı prospektif bir çalışmada ÜK'te oluşan inflamasyonun göstergesi olarak CRP'nin yol gösterici bir faktör olup olmadığını değerlendirilmiştir. Sonuç olarak CRP düzeylerinin sadece yaygın kolit durumunda belirgin yükseldiği, diğer durumlarda (proktit ve prokto-sigmoidit gibi) ise CRP düzeylerinde değişme olmadığı gözlenmiştir (47). Çalışmamızda da kolit ve tedavi grubundaki CRP düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunurken, tedavi grubunda ise kolit grubuna göre anlamlı olarak azalma saptanmıştır ($p<0.05$) (Grafik 4). Bu da bize EP tedavisi ile inflamasyonun baskılandığını göstermiştir. Kolit grubunda CRP düzeylerindeki belirgin artışın, deneysel kolit modelinde yaygın kolit oluşumuna bağlı olabileceği kanısına vardık.

İnflamatuvar barsak hastalığının asıl patolojik özelliği mononükleer hücrelerin ve nötrofillerin intestinal dokulara infiltrasyonudur. Nötrofil ve monosit migrasyonu, lokal üretilmiş sitokinler ve bakteriyel hücre duvarı ürünlerinin tetikleme ile oluşur. MPO aktivitesi, inflamasyon gelişmiş gastrointesitinal sistemde, nötrofil akımının göstergesi olarak kullanılmıştır. You ve ark. yaptığı deneysel kolit modelinde N-asetil sistein (NAC) uygulanan farelerin intestinal dokusunda MPO seviyelerinin histolojik bulgular ile uyumlu olarak belirgin düşük olduğu gösterilmiştir (69). Çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak kolit oluşturulan sıçanlarda MPO düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanmış ($p<0.05$), EP tedavisi verilen grupta ise doku MPO düzeylerinin kolit grubuna göre anlamlı düzeyde düşük olduğu tesbit edilmiştir ($p<0.05$) (Grafik 7). Bu sonuçlar ışığında, ortaya çıkan mukozal hasar ve inflamasyon sürecinde EP'nin antiinflamatuvar sisteme katkısı ile doku MPO düzeylerinde anlamlı azalma olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$) (Grafik 6). Buraya kadar EP'nin proinflamatuvar sitokinler üzerine etkisinden ve bunların salınımını azaltarak kolit sürecini baskılanmasından bahsettik. Burada üzerinde durulması gereken bir diğer nokta da EP'nin antioksidan etkisidir. Antioksidanların salınımı değişik organlarda değişik çalışmalarda araştırılmıştır. İnflamatuvar barsak hastalığında OS'in önemli rolü göz önüne alındığında, antioksidan tedavi bu hastalığın tedavisinde yer almayı hak etmiştir. Nitekim en eski ve en sık kullanılan ilaç aminosalisilik asit (ASA), ROS

temizleyicisi olarak gösterilmiştir (27). Aghdassi ve ark.'nın 57 Crohn hastasını içeren çalışmasında antioksidan tedavinin etkinliğini araştırmak için bu hastalara 4 hafta boyunca E vit(800 IU) ve C Vit(1,000 mg) verilmiştir. OS markerları karşılaştırıldığında tedavi grubundaki değerlerin plasebo grubuna göre belirgin azalmış olduğu tespit edilmiştir (70). Geerling ve ark. 3 aylık bir peritotta CH'da antioksidan tedavinin etkinliğini araştırmışlardır. Bu hastalara Selenyum (12,4 mikrogram), beta karoten (150 mikrogram), vit C (20 mg) ve vit E (4 mg) antioksidan tedavi olarak verilmiştir. Tedavi alan hastalarda SOD aktivitesi azalmış olarak bulunmuştur (71). Siedner ve ark. 121 ÜK'li hastada antioksidan tedavinin etkinliğini araştırmışlardır. Antioksidan tedavi olarak vit E (72 UI), vit C 156 mg), β karoten (1185 mikrogram), selenyum (30 mikrogram) ve balık yağı verilmiştir. 6 ay sonra tedavi ve plasebo grubunda belirgin iyileşme olmuş, ancak oral antioksidan madde verilen hasta grubunda tedavi edici kortikostereoid dozunda belirgin azalma olduğu tespit edilmiştir (72)

Çalışmamızda EP'nin antioksidan etkisini göstermek için doku düzeyinde MDA, GSH ve AOPP düzeylerine bakılmıştır. Malondialdehit lipid peroksidasyonunun son ürünüdür. Kolit sürecindeki ataklarda, OS esnasında belirgin şekilde artmaktadır. Bu molekülün ortamdaki miktarı lipid peroksidasyon derecesinin bir ölçüsü olarak kabul edilir. Malondialdehit ile çeşitli moleküller arasında çapraz bağlar oluşabilir. Bu çapraz bağlar sitotoksisiteye, mutajenlere, membran yıkımına ve enzim değişikliklerine yol açabilir. Malondialdehit düzeyi serbest radikal miktarını değil, net oksidatif hasarı yansıtır (73). Çalışmamızda kolit oluşturulan sıçanların doku MDA düzeylerinde belirgin artış olurken, tedavi grubundaki sıçanların doku MDA düzeylerinde kolit grubuna göre anlamlı şekilde azalma olmuştur ($p<0.05$) (Grafik 8). Yang ve ark.'nın yaptığı deneysel pankreatit modelinde EP tedavisinin pankreatite sekonder gelişen karaciğer hasarı üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Sonuç olarak EP tedavisi OS ve hepatosellüler hasarı düzelttiği gösterilmiştir. EP tedavisi ile karaciğer doku MDA düzeylerinde belirgin olarak azalma tespit edilmiştir. Etil pirüvat NF-κB-DNA bağlanmasını engelleyebilir. Proinflamatuvar sitokinleri (TNF-α, IL-6, iNOS ve COX-2 gibi), geç proinflamatuvar mediatörü (HMGB1) ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunu azaltır. Hepatik oksidatif stresi tersine çevirerek karaciğeri korur (74). Sıçanlarda yapılan intestinal ve hepatik iskemi/reperfüzyon çalışmalarında, lipid peroksidasyonun göstergesi olan doku MDA düzeyleri belirgin artmış olup, EP tedavisi uygulanan sıçanlarda doku MDA

düzeylerinin belirgin azaldığı gösterilmiştir. Böylece EP'nin de ROS temizleyicisi olduğu ortaya konmuştur (75). Oksidatif stresin İBH'da intestinal hasarın patogenezinde anahtar rolü oynadığına inanılır. Nitekim, İBH'daki intestinal mukoza hasarı endojen antioksidan sistemin düşük konsantrasyonu ve artmış serbest radikal ürünleri ile ilişkilidir. Bir çok çalışmada süperoksit, hidrojen peroksit, hipoklorik asit ve hidroksil radikalleri intestinal mukoza hasarında arabulucu role sahiptir (76). Glutasyon, oksidatif strese karşı en önemli hücre içi defanstır. Barsağın fonksiyonel ve yapısal bütünlüğü için önemlidir. Glutasyon inflamatuvar hastalıklarda azalabilir. Glutasyon eksikliği olan farelerin jejunum ve kolon mukozasında ciddi yapısal bozukluklar görülmüştür (77). Çalışmamızda bu durumdan yola çıkarak EP'nin antioksidan özelliğini ortaya koymak için kolon dokusunda glutasyon düzeyi çalıştık. Tedavi grubundaki doku GSH değerlerinin kolit grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğunu saptadık ($p<0.05$) (Grafik 6). Bu da bize EP'nin, antioksidan özellik göstererek, kolit sürecinde glutasyon kullanımını engellediğini göstermiştir. Oksidatif hasarın bir göstergesi de AOPP dir. Özellikle lipid peroksidasyon ürünleri OS'in işareti olarak yaygınca kullanılır. Son zamanlarda keşfedilen ve yaygın olarak kullanılan AOPP, oksidatif dengesizliğin işareti olarak görülür. (78). AOPP'nin artışı, birçok patolojik durumda erken marker ve prognostik faktör olarak tanımlanmıştır (39,79). Son zamanlarda monitörize edilen kritik hastalarda AOPP düzeylerinin ölçümü ayrıca önerilmiştir (80). İleri oksidatif protein ürünlerinin artmış değerleri fibrinojen, CRP ve TNF- α gibi bazı inflamasyon markerları ile korelidir (81,82,83). AOPP seviyelerinin otoimmün ve/veya kronik inflamasyon ile ilişkili diabet, romatoid artrit, kanser, arterioskleroz ve kronik renal yetmezlik gibi durumlarda arttığı tekrar rapor edilmiştir (84). Çalışmamızda hem AOPP'nin klinikte kullanımı açısından hem de EP'nin antioksidan etkinliğinin gösterilmesi açısından doku AOPP düzeylerini değerlendirdik. Sonuç olarak AOPP değerleri tedavi grubunda kolit grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p<0.05$) (Grafik 5). Buda bize EP'nin antioksidan bir madde olma özelliğini göstermektedir. Melatonin de güçlü bir antikoksidan ajandır. Eskiocak ve ark.'nın neonatal sıçanlarda hipoksik beyin modeli çalışmasında, melatonin verilen gruptaki AOPP değerleri hipoksik grup ile karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (85). Baskol ve ark. ÜK hastalarında AOPP değerlerinin yüksek olduğunu tespit etmiş olup, hastalığın seyrini ve aktivitesini değerlendirmek için yol gösterici bir marker olabileceğini savunmuşlardır (39). Çalışmamızda tedavi grubunda doku

düzeyinde hem makroskopik hem de mikroskopik düzeyde anlamlı derecede inflamasyonun azaldığı tesbit edilmiştir. ($p<0.05$). Çok yakın zamanda EP'nin deneysel kolit modelinde iyileştirici etkisi Dave ve ark'nın yaptığı bir çalışmada gösterilmiştir. Bu makalede, özellikle EP verilen grup kolit grubu ile karşılaştırıldığında, doku HGMB1, NF-kappa B düzeylerinin düşük tespit edilmesine dayanarak, EP'nin antiinflamatuvar etkisi ile kolit sürecini iyileştirdiği gösterilmiştir (86). Fakat bu çalışmada EP'nin kolit üzerine antioksidan etkisi değerlendirilmemiştir. Çalışmamızda deneysel kolit modelinde EP'nin hem antioksidan hem de antiinflamatuvar etkisi değerlendirilmiştir.

Sonuçlar ışığında; EP tedavisi antiinflamatuvar ve antioksidan sisteme katkıda bulunarak kolit sürecini baskılamış olup, daha ileri deneysel ve klinik çalışmalar ile desteklenerek, İBH tedavisinde alternatif bir yaklaşım olabilir.

6. SONUÇLAR

Deneysel olarak TNBS-E ile oluşturulan kolit modelinde araştırılan EP'nin etkileri incelenmiş ve aşağıdaki sonuçlar ortaya konmuştur.

1. TNBS-E ile deneysel olarak anlamlı şekilde kolit oluşumu sağlanmıştır.
2. EP verilen tedavi grubunda makroskopik skorlar ve histopatolojik görünüm açısından belirgin bir iyileşme saptanmıştır ($p<0.05$).
3. Kolit grubunda artan doku AOPP,MDA ve MPO düzeyleri tedavi grubunda anlamlı düzeyde azalmıştır ($p<0.05$).
4. Kolit grubunda azalan GSH düzeyleri tedavi grubunda anlamlı düzeyde artmıştır ($p<0.05$).
5. Kolit grubunda artan TNF- α ve CRP düzeyleri tedavi grubunda anlamlı düzeyde azalmıştır ($p<0.05$).

Sonuçlar ışığında; EP tedavisi antiinflamatuvar ve antioksidan sisteme katkıda bulunarak kolit sürecini baskılamış olup, daha ileri deneysel ve klinik çalışmalar ile desteklenerek, İBH tedavisinde alternatif bir yaklaşım olabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Sharon P, Stenson WF. Enhanced synthesis of leukotriene B₄ by colonic mucosal inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1984; 86: 453–60.
2. Thompson-Chagoyan OC, Maldonado J, Gil A. Aetiology of inflammatory bowel disease (IBD): role of intestinal microbiota and gut-associated lymphoid tissue immune response. *Clin Nutr.* 2005; 24: 339-52.
3. Loftus EV Jr, Sandborn WJ. Epidemiology of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am.* 2002; 31(1): 1-20.
4. Mitchell P. Fink, MD, FCCM. Ethyl pyruvate; A novel anti-inflammatory agent. *Crit Care Med.* 2003; 31: 51-6.
5. Salahudeen AK, Clark EC, Nath KA: Hydrogen peroxide-induced renal injury: A protective role for pyruvate in vitro and in vivo. *J Clin. Invest.* 1991; 88: 1886-93.
6. Cicalese L, Lee K, Schraut W, Watkins, Borle A .Pyruvate prevents ischemia-reperfusion mucosal injury of rat small intestine. *Am J Surg* 1996; 171: 97–100.
7. DeBoer LW, Bekx PA, Han L, Steinke L. Pyruvate enhances recovery of rat hearts after ischemia and reperfusion by preventing free radical generation. *Am J Physiol* 1993; 265: 1571-6.
8. Tsung A, Kaizu T, Nakao A, et al. Ethyl pyruvate ameliorates liver ischemia-reperfusion injury by decreasing hepatic necrosis and apoptosis. *Transplantation.* 2005; 79: 196-204.
9. Yang R, Gallo DJ, Baust JJ, et al: Ethyl pyruvate modulates inflammatory gene expression in mice subjected to hemorrhagic shock. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 283: G212-21.
10. Tsai BM, Lahm T, Morrell ED, et al. Ethyl pyruvate inhibits hypoxic pulmonary vasoconstriction and attenuates pulmonary artery cytokine expression. *J Surg Res.* 2008; 145: 130-4.

11. Dincer Y, Erzin Y, Himmetoglu S, Gunes KN, Bal K, Akcay T. Oxidative DNA Damage and Antioxidant Activity in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Dig Dis Sci* 2007; 52: 1636-1641.
12. Fiocchi C. Inflammatory bowel disease pathogenesis: therapeutic implications *Chin J Dig Dis* 2005; 6; 6–9.
13. Andres PG, Friedman LS. Epidemiology and the natural course of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am.* 1999; 28(2): 255-81.
14. Farrell RJ, Peppercorn MA. Ulcerative colitis. *Lancet.* 2002; 359: 331-40.
15. Cho JH. Significant role of genetics in IBD: the NOD2 gene. *Rev Gastroenterol Disord* 2003; 3: S18–22.
16. Inoue N, Tamura K, Kinouchi Y, et al. Lack of common NOD2 variants in Japanese patients with Crohn's disease. *Gastroenterology* 2002; 123: 86–91.
17. Hibi T, Ogata H. Novel pathophysiological concepts of inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol* 2006; 41: 10–16.
18. Sakamoto N, Kono S, Wakai K, et al. Dietary risk factors for inflammatory bowel disease: a multicenter case-control study in Japan. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 154–63.
19. Naganuma M, Iizuka B, Torii A, et al. Appendectomy protects against the development of ulcerative colitis and reduces its recurrence: results of a multicenter case-controlled study in Japan. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 1123–6.
20. Head KA, Jurenka JS. Inflammatory bowel disease Part 1: ulcerative colitis--pathophysiology and conventional and alternative treatment options. *Altern Med Rev.*2003; 8: 247-83.
21. Halstensen TS, Das KM, Brandtzaeg P. Epithelial deposits of immunoglobulin G1 and activated complement co-localize with the "M(r) 40 kD" putative auto-antigen in ulcerative colitis. *Adv Exp Med Biol.* 1995; 371B: 1273-6.
22. Toms C, Powrie F. Control of intestinal inflammation by regulatory T cells. *Microbes Infect.*2001; 3: 929-35.

23. Swidsinski A, Ladhoff A, Pernthaler A, et al Mucosal flora in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2002; 122: 44-54.
24. MacDonald TT, Murch SH. Aetiology and pathogenesis of chronic inflammatory bowel disease. *Baillieres Clin Gastroenterol*. 1994; 8: 1-34.
25. Mahida YR, Ceska M, Effenberger F, Kurlak L, Lindley I, Hawkey CJ. Enhanced synthesis of neutrophil-activating peptide-1/interleukin-8 in active ulcerative colitis. *Clin Sci (Lond)*. 1992; 82: 273-5.
26. Parks DA. Oxygen radicals: mediators of gastrointestinal pathophysiology. *Gut* 1989; 30: 293-8.
27. Rezaie A, Parker RD, Abdollahi M. Oxidative Stress and pathogenesis of inflammatory bowel disease: an epiphenomenon or the cause? *Dig Dis Sci* 2007; 52: 2015–2021.
28. Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol* 2004; 142: 231–255.
29. Barbosa DS, Barbosa DS, Cecchini R, El Kadri MZ, Rodríguez MA, Burini RC. Decreased oxidative stress in patients with ulcerative colitis supplemented with fish oil omega-3 fatty acids. *Nutrition*. 2003; 19: 837-42.
30. Varma SD, Hegde KR, Kovtun S. Oxidative damage to lens in culture: reversibility by pyruvate and ethyl pyruvate. *Ophthalmologica* 2006; 220: 52–7.
31. Carroll MC, Katzman P, Alicot EM, et al. Linkage map of the human histocompatibility complex including the tumor necrosis factor genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 8535-9.
32. Plevy SE, Targan SR, Yang H, Fernandez D, Rotter JI, Toyoda H. Tumor necrosis factor microsatellites define a Crohn's disease associated haplotype on chromosome 6. *Gastroenterology* 1996; 110: 1053-1060.
33. Sartor RB. Cytokines in intestinal inflammation: pathophysiological and clinical considerations. *Gastroenterology* 1994; 106: 533–9.
34. Ardizzone S, Bianchi Porro G. Inflammatory bowel disease: new insights into pathogenesis and treatment. *J Intern Med* 2002; 252: 475–496.

35. Beutler B, Cerami A. Cachectin : more than a tumor necrosis factor. *N Engl J Med* 1987; 316: 379–85.
36. Parker SJ, Watkins PE. Experimental models of gram–negative sepsis. *Br J Surg* 2001; 88 : 22–30.
37. Krawisz JE, Sharon P, Stenson WF. Quantitive assay for acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity. Assesment of inflammation in rat and hamster models. *Gastroenterology* 1984; 87: 1344–50.
38. Nauseef WM. Insights into myeloperoxidase biosynthesis from its inherited deficiency. *Mol Med.* 1998; 76: 661–8.
39. Baskol M, Baskol G, Koçer D, Ozbakir O, Yucesoy. M. Advanced oxidation protein products: a novel marker of oxidative stress in ulcerative colitis. *J Clin Gastroenterol.* 2008; 42(6): 687-91.
40. J. Mrtensson, Jain A, Meister A. Glutathione is required for intestinal function. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 1990; 87: 1715-9.
41. Nakazawa H, Genka C, Fujishima M. Pathological aspects of active oxygens/free radicals. *Jpn J Physiol* 1996; 46: 15- 32.
42. Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition* 2002; 18: 872-9.
43. Kim YG, Kim SK, Kw on JW, et al. Effects of cysteine on amino acid concentration and transsulfuration enzyme activities in rat liver with protein-calorie malnutrition. *Life Sci* 2003; 72: 1171-81.
44. Parcell S. Sulfur in human nutrition and applications in medicine. *Altern Med. Rev* 2002; 7: 22-44.
45. Esteve JM, Mompo J, Garcia de la Asuncion J, et al. Oxidative damage to mitochondrial DNA and glutathione oxidation in apoptosis studies in vivo and in vitro. *FASEB J* 1999; 13: 1055-64.
46. Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P. Laboratory markers in IBD: Useful, magic, or unnecessary toys?. *Gut* 2006; 55: 426–431.

47. Henriksen M, Jahnsen J, Lygren I, et al . C-reactive protein: a predictive factor and marker of inflammation in inflammatory bowel disease. Results from a prospective population-based study. *Gut* 2008; 57: 1518–23.
48. Yano Y, Yao H, Aoyagi K, et al. Photochemically induced colonic ischaemic lesions: a new model of ischaemic colitis in rats. *Gut* 1997; 41 : 354–7.
49. Bertevello PL, Logullo AF, Nonogaki S, et al. Immunohistochemical Assessment of Mucosal Cytokine Profile in Acetic Acid Experimental Colitis. *Clinics(Sao Paulo)* 2005; 60: 277–86.
50. Yamamoto M, Yoshizaki K, Kishimoto T, Ito H. IL–6 is required for the development of Th1 cell–mediated murine colitis. *J Immunol* 2000; 164: 4878–82.
51. Ohkawa H Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-8.
52. Sedla'k J, Lindsay RH. Estimation of total protein-bound and non-protein sulphhydryl groups in tissue with Ellman' s reagent. *Ann Biochem* 1968; 25: 192–205.
53. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillere-Blandin C, et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int* 1996; 49: 1304–13.
54. Andres PG, Friedman LS. Epidemiology and the natural course of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am.* 1999; 28: 255-81
55. Loftus EV, Jr., Sandborn WJ. Epidemiology of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am.* 2002; 31(1): 1-20.
56. Akcan A, Muhtaroglu S, Akgun H, et al. Ameliorative effects of bombesin and neurotensin on trinitrobenzene sulphonic acid-induced colitis, oxidative damage and apoptosis in rats. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1222-30.
57. Wallace J.L., Le T., Carter L., Appleyard C.B., Beck P.L. Hapten-induced chronic colitis in the rat: alternatives to trinitrobenzene sulfonic acid. *Pharmacol Toxicol Methods.* 1995; 33: 237-9.

58. Shibata Y., Taruishi M., Ashida T. Experimental ileitis in dogs and colitis in rats with trinitrobenzene sulfonic acid—colonoscopic and histopatologic studies. *Gastroent Japan*. 1993; 28: 518-27.
59. Cousins DJ, Lee TH, Staynov DZ. Cytokine coexpression during human Th1/Th2 cell differentiation: direct evidence for coordinated expression of Th2 cytokines *J Immunol*. 2002; 169: 2498-506.
60. Constant SL, Brogdon JL, Piggott DA, et al. Resident lung antigen-presenting cells have the capacity to promote Th2 T cell differentiation in situ. *J Clin Invest*. 2002; 110: 1441-8.
61. Fink MP. Ethyl pyruvate. *Current Opinion in Anesthesiology* 2008;21:160–7.
62. Karabeyoğlu M, Unal M, Bozkurt B, et al. The effect of ethyl pyruvate on oxidative stress in intestine and bacterial translocation after thermal Injury. *J Surg Res* 2008; 144: 59–63.
63. Uchiyama T, Delude RL, Fink MP. Dose-dependent effects of ethyl pyruvate in mice subjected to mesenteric ischemia and reperfusion. *Intensive Care Med*. 2003; 29: 2050-8.
64. Li K, Wu CT, Qiu XH. Effect of ethyl pyruvate on peroxidation injury of intestinal mucosa in rats with severe abdominal infection. *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue*. 2006; 18: 154-6.
65. Kucuk C, Sozuer C, Gursoy S, et al. Treatment with Met-RANTES decreases bacterial translocation in experimental colitis. *Am J Surg* 2006; 191: 77–83.
66. Funakoshi K, Sugimura K, Anezaki, Bannai H, Ishizuka K, Asakura H. Spectrum of cytokines gene expression in intestinal mucosal lesions of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Digestion* 1998; 59: 73-8.
67. Masuda H, Iwai S, Tanaka T, Hayakawa S. Expression of IL-8, TNF-alpha and IFN-gamma m-RNA in ulcerative colitis, particularly in patients with inactive phase. *J Clin Lab Immunol* 1995; 46: 111-23.
68. Hoentjen F, van Bodegraven AA. Safety of anti-tumor necrosis factor therapy in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 2067-73.

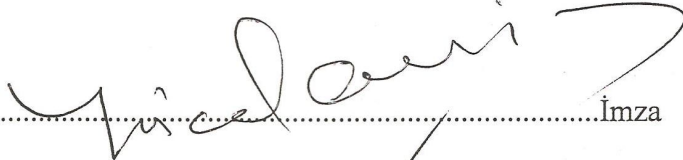
69. You Y, Fu JJ, Meng J, Huang GD, Liu YH. Effect of N-acetylcysteine on the murine model of colitis induced by dextran sodium sulfate through up-regulating PON1 activity. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 1643–50.
70. Aghdassi E, Wendland BE, Steinhart AH, Wolman SL, Jeejeebhoy K, Allard JP. Antioxidant vitamin supplementation in Crohn's disease decreases oxidative stress: a randomized controlled trial. *Am J Gastroenterol* 2003; 98(2): 348–353.
71. Geerling BJ, Badart-Smook A, Stockbrügger RW, et al. Nutritional supplementation with N-3 fatty acids and antioxidants in patients with Crohn's disease in remission: effects on antioxidant status and fatty acid profile. *Inflamm Bowel Dis* 2000; 6: 77–84
72. Seidner DL, Lashner BA, Brzezinski A, et al. An oral supplement enriched with fish oil, soluble fiber, and antioxidants for corticosteroid sparing in ulcerative colitis: a randomized, controlled trial. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005; 3: 358–369.
73. Gawel S, Wardas M, Niedworok E, Wardas P. Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker. *Wiad Lek* 2004; 57: 453-5.
74. Yang R, Shaufel AL, Killeen ME, Fink MP. Ethyl pyruvate ameliorates liver injury secondary to severe acute pancreatitis. *J Surg Res* 2009; 153: 302–309
75. Fink MP. Ethyl pyruvate: a novel treatment for sepsis and shock. *Minerva Anesthesiol* 2004; 70: 365-71.
76. Qualls JE, Kaplan AM, van Rooijen N, Cohen DA, et al. Suppression of experimental colitis by intestinal mononuclear phagocytes. *J Leukoc Biol*. 2006; 80: 802–815.
77. Oz HS, Chen TS, McClain CJ, de Villiers WJ. Antioxidants as novel therapy in a murine model of colitis. *J Nutr Biochem*. 2005; 16: 297-304.
78. Mera K, Anraku M, Kitamura K, Nakajou K, Maruyama T, Otagiri M. The structure and function of oxidized albumin in hemodialysis patients: Its role in elevated oxidative stress via neutrophil burst. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005; 334: 1322–1328.

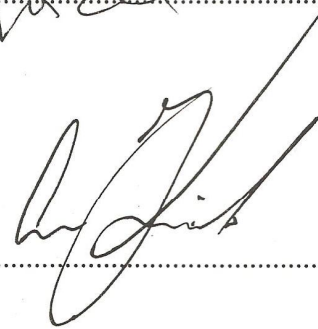
79. Wykretowicz A, Adamska K, Krauze T, et al. The plasma concentration of advanced oxidation protein products and arterial stiffness in apparently healthy adults. *Free Radic Res.* 2007; 41: 645– 649.
80. Selmeçi L, Seres L, Antal M, Lukács J, Regöly-Mérei A, et al. Advanced oxidation protein products(AOPP) for monitoring oxidative stress in critically ill patients: a simple, fast and inexpensive automated technique. *Clin Chem Lab Med.* 2005; 43: 294 –297.
81. Drueke T, Witko-Sarsat V, Massy Z, et al. Iron therapy, advanced oxidation protein products, and carotid artery intima-media thickness in end-stage renal failure. *Circulation.* 2002; 106: 2212–7.
82. Selmeçi L, Szekely M, Soos P, Seres L, Klinga N, et al. Human blood plasma advanced oxidation protein products (AOPP) correlates with fibrinogen levels. *Free Radic Res.* 2006 ; 40(9): 952-8.
83. Gallardo JM, Prado-Uribe M, Amato D, Paniagua R. Inflammation and oxidative stress markers by pentoxifylline treatment in rats with chronic renal failure and high sodium intake. *Arch Med Res.* 2007; 38: 34 –38.
84. Krzystek-Korpacka M, Neubauer K, Berdowska I, et al. Enhanced formation of advanced oxidation protein products in IBD. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 794-802.
85. Eskiocak S, Tutunculer F ,Basaran UN, Taskiran A, Cakir E. The effect of melatonin on protein oxidation and nitric oxide in the brain tissue of hypoxic neonatal rats. *Brain Dev* 2007; 29: 19–24.
86. Davé SH, Tilstra JS, Matsuoka K, Li F, Demarco RA, et al. Ethyl pyruvate decreases HMGB1 release and ameliorates murine colitis. *J Leukoc Biol.* 2009 [Epub ahead of print].

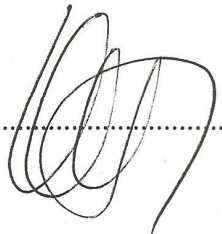
T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

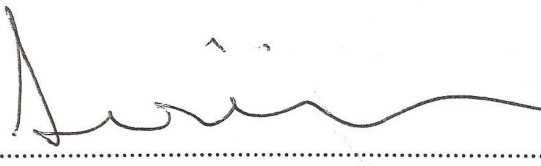
Dr. A. Bahadır ÖZ'e ait "SIÇANLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL KOLİT MODELİNDE ETİL PİRÜVAT'IN ETKİLERİ İLE KOLİT SÜRECİNİN BASKILANMASI" adlı çalışma, jürimiz tarafından Genel Cerrahi Anabilim Dalında Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

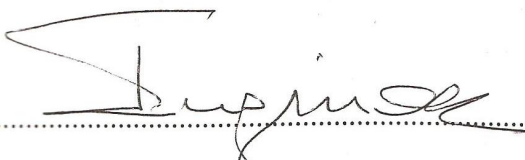
Tarih: 29.11.2009

Başkan..........İmza

Üye..........İmza

Üye..........İmza

Üye..........İmza

Üye..........İmza