



T.C
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL KOLİT MODELİ ÜZERİNE GLUTAMİN, N-ASETİL
SİSTEİN VE İNTRAREKTAL METOTREKSAT'IN
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Dr. İSMAİL CEM ERAY

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. ÖMER ALABAZ

ADANA-2009

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından Tf20081tp23 proje numarası ile desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

Başta, tez çalıŐmalarım döneminde yardımlarından dolayı; Sayın Hocam Prof. Dr. Ömer ALABAZ'a olmak üzere tüm Hocalarım'a, Patoloji Anabilim dalı ğretim yesi Prof. Dr. Figen DORAN'a ve asistanı ArŐ. Gör. Ferhat YILDIRIM'a, Biyoistatistik Anabilim dalında ğretim Görevlisi Doç. Dr. GülŐah SEYDAOĞLU'na, Biyokimya Anabilim dalında görevli Uzm. Dr. Şule MENZİLETOĞLU'na, Onkoloji Bilim Dalı ğretim yesi Prof. Dr. Semra PAYDAŐ'a, TIBDAM sorumlusu Uzman Veteriner Hekim Kenan DAĞLIOĞLU'na ve tezime ilgili, kendinde bulunan kaynakları paylaŐan Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı ğretim yesi Doç. Dr. Bahadır M. GÜLLÜOĞLU'na teŐekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLO LİSTESİ	III
ŞEKİL LİSTESİ	IV
KISALTMA LİSTESİ	V
ÖZET	VI
ABSTRACT	VII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Kolon Embriyoloji ve Anatomisi	4
2.2. Kolon Fizyolojisi	8
2.3. Kolon Mikroflorası	12
2.4. Ratlarda Kolon Anatomisi	13
2.5. İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları	14
2.6. Deneysel Kolit Modelleri ve Literatürün Gözden Geçirilmesi	20
2.7. Deneysel Kolit Modeli Üzerine Tedavi Amacıyla Kullanılan Ajanlar	21
2.7.1 N Asetil Sistein	21
2.7.2. Glutamin	22
2.7.3. Metotreksat	24
2.8. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres	25
3. GEREÇ ve YÖNTEM	32
3.1. Gruplar	32
3.2. Kolonun Makroskopik Değerlendirmesi	36
3.3. Kolonun Histopatolojik Değerlendirilmesi	36
3.4. Süperoksit Dismutaz (SOD) Ölçüm Yöntemi	37
3.5. Oksidatif Hasarın Ölçümü	42
3.6. İstatistiksel Analiz	45
4. BULGULAR	46
4.1. Ağırlıkların Değerlendirilmesi	46
4.2. Kolonun Makroskopik ve Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları	47
4.3. Biyokimyasal Ölçümlerin Değerlendirilmesi	56
4.3.1. SOD Ölçümlerinin Değerlendirilmesi	56
4.3.2. Malonil Dialdehid Ölçümlerinin Değerlendirilmesi	58
5. TARTIŞMA	60
SONUÇ	68
KAYNAKLAR	69
ÖZGEÇMİŞ	81

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Gruplar	33
Tablo 2. Makroskopik Hasar Skalası	36
Tablo 3 Histopatolojik Hasar Skalası.....	37
Tablo 4. SOD İçin Standart Eğrinin Çizimi.....	39
Tablo 5. SOD İçin Homojenatın Hazırlanması.....	39
Tablo 6. SOD İçin Protein Standart Eğrisinin Çizimi	41
Tablo 7. SOD İçin Pipetleme İşlemi.....	42
Tablo 8. MDA Standart Eğrisi	43
Tablo 9. MDA Ölçümü	44
Tablo 10. Fark dağılımda grupların birbirleri ile karşılaştırılması	47
Tablo 11. Makroskopik ve Histopatolojik Hasar Skorlarının Değerlendirilmesi	48
Tablo 12. Grupların Makroskopik Hasar Skorlarına Göre Birbirleri İle Karşılaştırılması.....	48
Tablo 13. Grupların Histopatolojik Hasar Skorlarına Göre Birbirleri İle Karşılaştırılması	48
Tablo 14. SOD Ölçüm Sonuçları.....	56
Tablo 15. SOD Dağılımda Grupların Birbirleri İle Karşılaştırılması	57
Tablo 16. MDA Ölçüm Sonuçları	58
Tablo 17. MDA Dağılımda Grupların Birbirleri İle Karşılaştırılması.....	59

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Kolonun Arteriyel Sistemi.....	6
Şekil 2. Kolonun Venöz Sistemi	7
Şekil 3. Kolonun Lenfatik Sistemi	8
Şekil 4. Rat Kolon Anatomisi	13
Şekil 5. Ülseratif Kolitte Pankolit Durumu.....	19
Şekil 6. Crohn Kolitinde, Mukozada Lineer Ülserasyonlar ve Kaldırım Taşı Manzarası.....	19
Şekil 7. Ülseratif Kolit, İnvaziv Kanserin Neden Olduğu Daralma	19
Şekil 8. Ağırlıkların Kaydedilmesi.....	34
Şekil 9. Rektal Yoldan TNBS-E Uygulanması.....	35
Şekil 10. İntraperitoneal NAC Enjeksiyonu	35
Şekil 11. Median Laparotomi.....	35
Şekil 12. Süperoksit Dismutaz Standart Eğrisi.....	40
Şekil 13. Protein Standart Eğrisi	42
Şekil 14. Malonildialdehit Standart Eğrisi.....	44
Şekil 15. Ağırlıkların Grafik İle Değerlendirilmesi	46
Şekil 16. Kontrol Grubu Makroskopik Görünüm	49
Şekil 17. Etanol Grubu Makroskopik Görünüm.....	49
Şekil 18. Kolit Grubu Makroskopik Görünüm	50
Şekil 19. Kolit Grubunda Adezyon.....	50
Şekil 20. Kolit Grubunda Antimezenterik Kenar Açıldıktan Sonra Makroskopik Görünüm.....	50
Şekil 21. Kolit Grubu Makroskopik Görünüm: Ülserasyon.....	51
Şekil 22. Kolit Grubu Makroskopik Görünüm: Nekroz.....	51
Şekil 23. NAC Grubu Makroskopik Görünüm	51
Şekil 24. GLN-NAC Grubu Makroskopik Görünüm	52
Şekil 25. GLN-MTX Grubu Makroskopik Görünüm.....	52
Şekil 26. Normal Kolon.....	52
Şekil 27. Etanol Grubunda Histopatolojik Görünüm	53
Şekil 28. Deneysel Kolit Modelinde Tam Kat Nekroz.....	53
Şekil 29. Deneysel Kolit Modelinde Kronik İltihap.....	54
Şekil 30. Deneysel Kolit Modelinde Ülser	54
Şekil 31. NAC Grubu Histopatolojik Görünümü.....	54
Şekil 32. MTX Grubu Histopatolojik Görünüm	55
Şekil 33. GLN-NAC Grubunda Histopatolojik Görünüm.....	55
Şekil 34. GLN-MTX Grubunda Histopatolojik Görünüm	55
Şekil 35. Gruplara Göre SOD Değerlerinin Dağılımı	57
Şekil 36. Gruplara Göre MDA Değerlerinin Dağılımı	59

KISALTMA LİSTESİ

CH	: Crohn Hastalığı
GLN	: Glutamin
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
İBH	: İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı
İFN	: İnterferon
İL	: İnterlökin
LT	: Lökotrien
MDA	: Malonil Dialdehid
MTX	: Metotreksat
NAC	: N-Asetil Sistein
NO	: Nitrik Oksit
OH	: Hidroksil
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SOR	: Serbest Oksijen Radikalleri
TGF	: Tümör Büyüme Faktörü
TNBS	: Trinitrobenzenosülfonik Asit
TNBS-E	: Trinitrobenzenosülfonik Asit-Etanol
TNF	: Tümör Nekroz Faktörü
TX	: Tromboksan
PAF	: Platelet Aktive Edici Faktör
ÜK	: Ülseratif Kolit

ÖZET

Amaç:

Bu çalışmada, TNBS ile oluşturulan deneysel kolit modeli üzerine N -Asetil sistein'in, glutamin'in ve metotreksat'ın etkilerini incelenmesi amaçlandı.

Gereç ve yöntem:

Bu amaçla 71 Wistar Albino rat kullanıldı. Kontrol grubuna serum fizyolojik dışında uygulama yapılmadı. Etanol grubuna, intrarektal etanol lavmanı verilerek, etkinliği değerlendirildi. NAC grubuna intraperitoneal NAC enjeksiyonu yapıldı. MTX grubuna intrarektal MTX verildi. GLN-NAC grubu deneklerin içme sularına 1g/kg olacak şekilde glutamin karıştırıldı ve intraperitoneal NAC enjeksiyonu yapıldı. GLN-MTX grubuna da içme sularına glutamin karıştırıldıktan sonra intrarektal MTX verildi. Deneyin başında ve sonunda ratların ağırlıkları kaydedildi. Deneyin sonunda, ratlar sakrifiye edildi. Distal kolon çıkarılarak, çalışmanın içeriğinden haberi olmayan, iki patolog tarafından makroskopik olarak değerlendirildikten sonra histopatolojik değerlendirme için patolojiye gönderildi. Antioksidan etkiyi değerlendirmek amacı ile SOD ve MDA seviyelerini ölçmek için hasarlanmış kolondan örnekler alındı.

Bulgular:

Ağırlıklardaki değişiklikler karşılaştırıldığında kontrol ve etanol gruplarında değişiklik saptanmazken, kolit oluşturulan tüm gruplarda kilo kaybı saptandı ($p<0,05$). Tedavi verilen gruplarda kilo kaybının daha az olmasını beklerken, bu sonuçlara ulaşamadı. MTX verilen grupta kilo kaybı sadece kolit oluşturulan gruptan daha fazla olarak hesaplandı ($p<0,001$). NAC ve MTX tedavilerine glutamin eklenen gruplarda kilo kaybı daha az olarak hesaplandı. Morfolojik hasar skorları hesaplandığında kontrol ve etanol gruplarında morfolojik hasar saptanmadı ($p=0,635$). Kolit oluşturulan tüm gruplarda hasar skorları yüksekti ($p<0,05$). Tedavi verilen gruplarda hasar skorları düşük hesaplandı. En düşük skorlar, GLN verilen gruplarda ölçüldü. Antioksidan etkinlik kıyaslandığında, kolit grubunda SOD ve MDA seviyeleri anlamlı olarak artmışken ($p<0,017$), tedavi verilen gruplar kontrol grubuna yakınlık göstermekle beraber aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu. Fakat, glutamin verilen gruplardaki etkinlik, diğer tedavi yöntemlerine kıyasla daha az olarak hesaplandı

Sonuç:

Serbest oksijen radikallerinin etkisini önlemek amacıyla verilen GLN'nin ve NAC'nin olumlu etkileri olduğunu, bu iki maddenin berber verilmesiyle morfolojik olarak iyileşmeye daha fazla katkı sağladığını gözlemledik. MTX verilen ratlarda diğer tüm gruplara göre daha fazla kilo kaybı saptanmıştır. MTX'in lavman şeklinde verilmesi her ne kadar inflamatuvar parametreler üzerinde olumlu etkisi olduğu görülse de, deneysel kolitin semptomları üzerine olumsuz etkisi olabileceğini düşündürmektedir

Anahtar Kelimeler: Deneysel Kolit, Glutamin, Metotreksat, N-Asetil Sistein, trinitrobenzenosülfonik asit-etanol

ABSTRACT

Purpose:

In this study, it has been aimed to analyze the effects of N-Acetyl cysteine, glutamine and methotrexate on the experimental colitis model formed by use of TNBS.

Materials and Method:

For this purpose, 71 Wistar Albino rats have been used. No application except normal saline has been made on the control group. Ethanol group has been subjected to intrarectal ethanol enema, and its efficiency has been evaluated. Intraperitoneal NAC injection was made to the NAC group. Intrarectal MTX has been applied to the MTX group. 1g/kg glutamine has been added to the drinking water of the GLN-NAC experimental group's members; and intraperitoneal NAC injection has been made also for this group. Glutamine has also been added to the drinking water of the GLN-MTX group, and then the group has been subjected to intrarectal MTX. Weights of the rats have been recorded before and after the experiment. At the end of the experiment, the rats have been sacrificed. Distal colon has been removed and macroscopically analyzed by two pathologists who have not been informed about the concept of the study, and it has been sent to pathology for histopathological evaluation. In order to analyze antioxidant effect, samples from the damaged colon have been taken for measuring SOD and MDA levels.

Results:

When the changes in weights have been compared, no change has been found in the control and ethanol groups while weight-loss has been observed in all groups on whom colitis was created. Although the treated group has been expected to experience less weight-loss, this result could not be observed. Weight-loss of the group subjected to MTX has been measured to be more than the weight loss of only the group on whom colitis has been created. Less weight-loss has been observed on the groups whose NAC and MTX treatments have been included glutamine. When morphologic damage scores were calculated; no morphologic damage has been observed on the control and ethanol groups. Damage scores has been all high on the groups on whom colitis have been created. Damage scores have been calculated to be low on the treated groups. The lowest scores have been measured on the groups given glutamine. When antioxidant efficiency was compared, SOD and MDA levels on colitis group were found to have increased significantly while treated groups were found to be similar with the control group; furthermore, there have been statistically significant differences among them. However, the efficiency on the group given glutamine has been calculated to be less compared to the other treatment methods.

Conclusion:

We have observed that glutamine and NAC given with the purpose of preventing the effect of free oxygen radicals have positive effects, and they contribute more to recuperation morphologically when given together. The rats given MTX have been found to lose more weight compared to the other groups. Although it has been seen that giving Methotrexate as enema contributes positive effects on parameters, it is also thought that it may have negative effect on the symptoms of the experimental colitis.

Keywords: Experimental Colitis, Glutamine, Methotrexate, N- Acetyl Cysteine, Trinitrobenzosulphonic Acid-Ethanol.

1. GİRİŞ

İBH, gastrointestinal sistemi tutan ve hastanın yaşam kalitesini etkileyen, sistemik bir hastalıktır. Genel olarak, ağızdan anüse kadar tüm sindirim sistemini tutabilen ve önemli ölçüde mortalite ve morbiditeye neden olabilen hastalıklardır. Son yıllarda bu hastalıkların insidansında belirgin bir artış dikkati çekmektedir. İBH'larından en önemlileri ÜK ve CH olarak iki başlık altında toplanırlar.

İBH tedavisinde hafif vakalarda, diyetin düzenlenmesi, sulfosalazin, 5 aminosalisilik asit deriveleri, steroid kullanılmaktadır. Bu tedaviye yanıt vermeyen vakalarda azotiopurin, siklosporin gibi önemli yan etkilere sahip immün supresif ajanlar kullanılmaktadır. İnflamatuvar bağırsak hastalıkları, belirgin inflamasyonun neden olduğu hastalık grubu olduğu için genellikle inflamasyonu azaltmaya veya yok etmeye yönelik ajanlar denenmektedir.

İnsan İBH için birçok deneysel kolit modeli geliştirilmiştir. Genişçe kullanılan modeller kimyasal ajanlarla indüklenen modellerdir. Bu modeller iritanlar; ya lüminal olarak (TNBS, asetik asit, oksazon, dinitroklorobenzen, iodoasetamid), ya içme suyuyla (dekstan sodyum sülfat), ya gastrik lavajla (siklosporin A) veya çoklu intramural injeksiyonla (peptidoglikan, polisakkarid) oluşturulur. 1989 yılında Morris ve arkadaşları deneysel kolit modeli oluşturmak için yeni bir ajan olan, TNBS, bildirmişlerdir. Beş-30 mg/kg TNBS'nin 0,25 ml % 50'lik etanol ile transrektal yoldan uygulanması sonucunda kolonik mukozada ülserasyonlar ve inflamasyon tespit etmişlerdir.¹ Bu modelde insanlarda oluşan CH birçok histopatolojik ve klinik özellikleri gözlenmekte ve oluşan kronik inflamatuvar yanıtın süresi 8 haftaya kadar uzanmaktadır. Etanol, mukoza bariyerini ortadan kaldırmak ve bu yolla TNBS'nin bağırsak duvarına penetre olmasına yardımcı olmak amacıyla verilmektedir. Lavman şeklinde uygulanan TNBS, kovalen reaktif bir bileşik (hapten) olduğu için bağırsakta oksidatif hasara ve buna bağlı olarak genellikle transmural akut nekroza yol açmaktadır.

Deneysel kolit modelleri üzerine, tedavi amacıyla, bir çok madde denenmiştir. Bu denenilen maddelerin de bir kısmını antioksidan ajanlar oluşturmaktadır. Yapılmış olan çalışmalarda aktif ÜK'de antioksidan enzim aktivetelerinde ve glutatyon düzeylerinde azalma tespit edilmiştir.² GSH, glutamin, sistein ve glisin'den oluşan önemli bir antioksidan moleküldür. NAC, bir tiol molekül mukolitik ajan olup L - sistein ve

indirgenmiş glutatyonun prekürsörüdür. NAC hücrelerde sülfidril gruplarının kaynağı olup, OH gibi reaktif oksijen radikalleriyle etkileşerek serbest radikalleri temizler.³ Ayrıca NAC apoptozisi önleyebilmekte, çeşitli proteinlerin aktivitelerini düzenleyerek hücre surviyini uzatmaktadır.⁴ Literatürde NAC'nin İBH üzerine etkisini araştıran az sayıda yayın vardır.

GLN, kanda en çok bulunan, non-esansiyel amino asittir.⁵ Sadece, çoğu bölünen hücrenin, birincil enerji kaynağı olmayıp, nükleotid sentezi için de gereklidir.⁶ Protein Enerji Malnütrisyonu ve mikronütrient eksikliği İBH'de siktir. Bu durumlar, bağırsak mukozal rejenerasyonu inhibe eder ve mukozal antioksidan kapasiteyi azaltır. Azalmış splanktik kan akımı, sitokinler, besinsel antioksidanlara ulaşımın azalması (GSH, GLN, çinko, selenyum, Vitamin A,C,E), ekzojen barsak trofik besinlerin yetersiz alımı (GLN, kısa zincirli yağ asitleri), bağırsak hücrelerinin trofik besinleri ütilize etmesindeki yetersizlik (azalmış GLN emilimi) gibi nedenler mukozal hücre hasarına neden olabilirler. Ayrıca çoğunluğun kabul ettiği gibi intestinal mukozal hücrelerin ve immün hücrelerin major yakıtı ve substratıdır. Bazı yayınların, GLN'nin herhangi bir olumlu etkisinin olmadığını belirtmesine rağmen parenteral ve enteral diyetdeki proteinin % 15-40 GLN desteğinin genellikle infeksiyöz morbiditeyi azalttığı ve katabolik stres modellerinde mortaliteyi azalttığı gösterilmiştir. GLN desteğinin, ayrıca plazma ve doku GLN ve GSH seviyelerini arttırdığı gösterilmiştir.⁶ GLN'nin, deneysel kolit modellerindeki etkinliği araştırılmıştır. Ancak, bizim bilgilerimize göre, NAC ve GLN beraber denenmemiştir.

İBH'nin tedavisinde immünmodülatör ilaçlar tedavide yerlerini almışlardır. Azotiopürin ve 6 - merkaptopürin gibi tiopürin grubu ilaçlar, İBH'de indüksiyon ve remisyonun devamında etkili oldukları gösterilen ve ilk önce kullanılan immünmodülatör ilaçlardır.^{7,8} Bununla beraber bu ilaçlara intoleransı veya direnci olan hastalarda tedavi yönetimi uğraştırıcıdır.⁹

1989 yılında ilk defa MTX'in İBH üzerine sistemik etkisi yayınlandıktan sonra bazı çalışmalar yapılmış ve metotreksatın İBH üzerine etkisini gösteren yazılar yayınlamıştır.¹⁰⁻¹² Bu ilacın yan etkilerinden dolayı, lavman şeklinde vererek etkinliğini incelemeyi amaçladık. Bu yöntem de, bilgilerimiz ışığında, hiç denenmemiştir.

Bu çalışmada da, literatürdeki bilgiler paralelinde, TNBS ile oluşturulan deneysel kolit modeli üzerine NAC'nin, GLN'nin ve MTX'in etkilerini incelemenmesi amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kolon Embriyoloji ve Anatomisi

Kolon Embriyolojisi

Dördüncü gestasyonal haftada gelişen primitif bağırsak; ön bağırsak (foregut), orta bağırsak (midgut), son bağırsak (hindgut) olmak üzere üçe ayrılır. Midgutdan, ince bağırsaklar ve transvers kolonun orta kısmının proksimalinde kalan kalın bağırsaklar gelişir. Hindgutdan transvers kolonun orta kısmından başlayarak anüsün proksimaline kadar olan kalın bağırsaklar ve alt ürogenital sistem gelişir.

Altıncı gestasyonel haftada gelişen midgut abdominal kavite dışına çıkarken süperior mezenterik arter etrafında saat yönünün tersine 270°'lik dönüşünü tamamlayarak abdominal kavitedeki son halini alır. Hindgut ise 6. haftada anatomik septumla ventralde ürogenital sinüs ile dorsalde rektuma bölünen kloaka ile sonlanır.¹³

Kolon Anatomisi

Kolon, ileoçekal bileşmeden başlayıp anüse kadar uzanır. 130-150 cm uzunluğunda 2,5-8,5 cm çaptadır. Çekum ile terminal ileum arasında ilioçekal kapak bulunur. Bu kapak sayesinde kolonik içeriğin ileuma geçişi engellenir. Longitudinal kas lifleri bir araya gelerek tenya omentalis, tenya libera, tenya mesokolika denilen üç ayrı bant oluşturur. Sirküler kas lifleri ise haustra denilen keselenmeleri meydana getirir. Pilika semilunaris olarak adlandırılan hilal biçimli yapılarla haustralar birbirinden ayrılırlar. Appendiks epiploika ise tenyalara tutunan periton kaplı yağlı çıkıntılardır.

Kolon duvarı içten dışa sırasıyla; mukoza, submukoza, sirküler kaslar, longitudinal kaslar ve serozadan oluşur.

Kolon; çekum, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon, sigmoid kolon, rektum olmak üzere kısımlara ayrılır. Büyük omentum transvers kolonun üst kenarına tutunur. Çıkan kolon, inen kolon, hepatic ve splenic fleksura arka yüzleri genellikle retroperitonealdir. Çekum, transvers kolon, sigmoid kolon ise intraperitonealdir.¹⁴

Çekum; kolonun ilk parçası olup, sağ iliak fossada yer alır. Yaklaşık 6 cm uzunluğunda, 7,5 cm çapındadır. Arka yüzde psoas majör ve muskularis iliakus ile

komşudur. Tenyalar çekum posteromedialinde appendiks vermiformisin yapıştığı yerden başlar. İlioçekal kapağın ileum tarafında villuslar bulunur.

Çıkan kolon; çekum ile hepatik fleksura arasındaki 15-20 cm'lik kısımdır. Karaciğer alt komşuluğuna uzanır ve sola öne dönerek transvers kolonu oluşturur. Arkada iliak kaslar, quadratus lumborum kası ve sağ böbrek ile komşudur.

Transvers kolon; hepatik fleksuradan başlayarak splenik fleksuraya doğru transvers şekilde uzanır. Yaklaşık 50 cm'dir. Hepatik fleksura duodenum 2. parçası ve pankreas başı ile komşudur. Gastrokolik ligaman ile mideye bağlıdır. Büyük omentuma tamamen yapışıktır. Dalağın hemen infreiorunda splenik fleksurayı oluşturur.

İnen kolon; splenik fleksuradan itibaren yaklaşık 25 cm'lik kısmını oluşturur. Sol iliak fossada yerleşir. Sol böbrek dış kenarı, psoas majör kası, kuadratus lumborum kası ile komşudur.

Sigmoid kolon; rektum ile inen kolon arasındaki yaklaşık 40 cm'lik kısımdır. Promontoryumun hemen önünde rektosigmoid bileşke bulunur. Rektosigmoid bileşke yakınında tenyalar net görülmez, appendiks epiploikalar kaybolur.

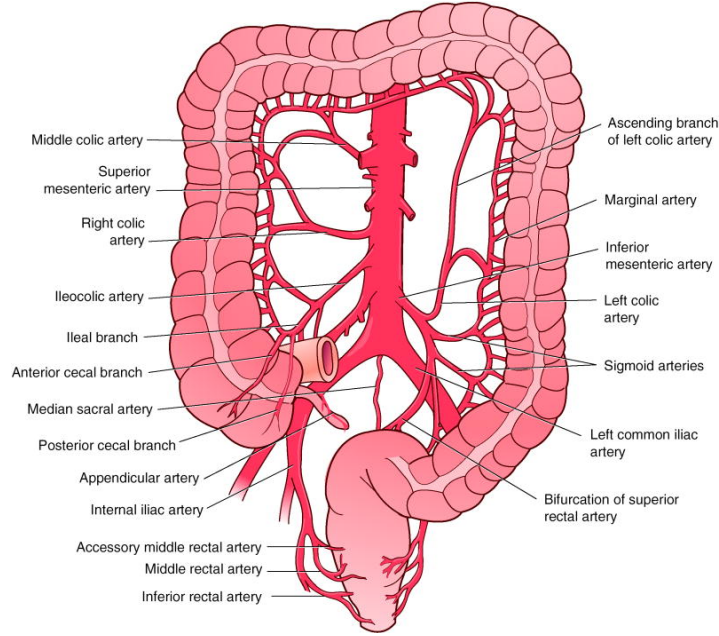
Rektum; promontoryumun hemen önünde başlar. Sakrum ve koksiksin eğimine uygun olarak aşağı ve arkaya doğru yönelir. Sakral bölgeyi geçip pelvik diafragma da anüs ile birleşir. Yaklaşık 14 cm uzunluğunda ve 4 cm genişliğindedir. Haustra, appendiks epiploika ve tenya içermez. Üst 2/3'lük kısmı periton ile örtülüdür.

Kolonun Arteriyel Sistemi

Süperior mezenterik arter (SMA), çölyak trunkusun altından, aortanın önünden ayrılır. Çekum, çıkan kolon ve transvers kolonu ileokolik, sağ kolik, orta kolik dalları ile besler.

İnferior mezenterik arter (İMA), SMA'nın altında infrarenal aortadan çıkarak inen kolon, sigmoid kolon ve üst rektumu sırası ile sol kolik, sigmoidal ve süperior rektal arter dalları ile besler. İMA süperior rektal arter olarak devam eder ve internal iliak arterin medial rektal arter dalı ve internal pudental arterin inferior rektal arter dalı ile birleşerek anastomoz yapar ve rektumu beslerler. Splenik fleksura hizasında SMA ve İMA arasında kollateraller bulunur. İleokolik, sağ kolik, orta kolik, sol kolik arterler aralarında anastomoz oluşturarak Drummond' un marjinal arterini meydana getirirler. Kolonun mezenterik sınırı boyunca yer alarak kolona vasa rektaları verirler. Böylece

mezenterik kenar boyunca devamlı kan akımı elde edilmiş olur. İMA' nın sol kolik dalı ile SMA'nın orta kolik dalı arasındaki sabit olmayan anastomozlar ise Riolan arki olarak adlandırılır. (Şekil 1).^{14,15}

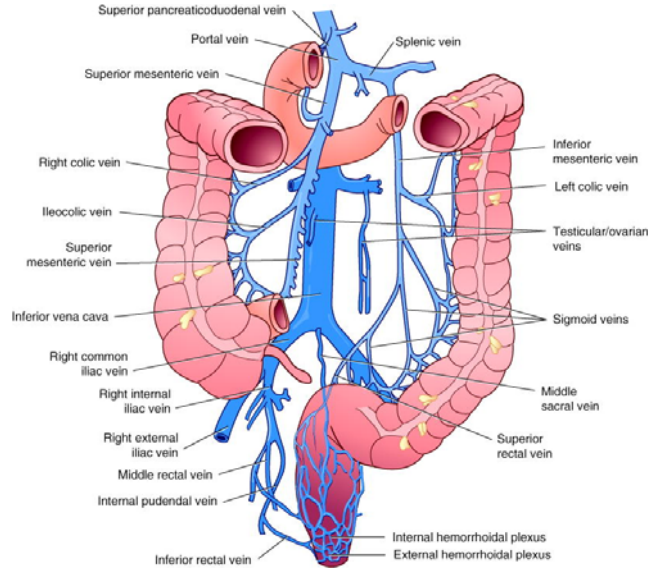


Şekil 1. Kolonun Arteriyel Sistemi

(Townsend CM, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL(eds): Sabiston Textbook of Surgery The Biological Basis of Modern Surgical Practice 17th Ed. 2004,p.1407)

Kolonun Venöz Sistemi

İnferior mezenterik ven dışında kolonu drene eden venler arterlerle aynı yolu takip eder. İnferior mezenterik ven inen kolonu, sigmoid kolonu ve proksimal rektumu drene eder. Trietz ligamanının solunda retroperitoneal olarak ilerler, pankreas gövdesi arkasında devam eder ve splenik vene katılır. Süperior mezenterik ven çekumu, çıkan kolonu ve transvers kolonu drene ederek splenik venle birleşip portal veni oluşturur (Şekil 2).

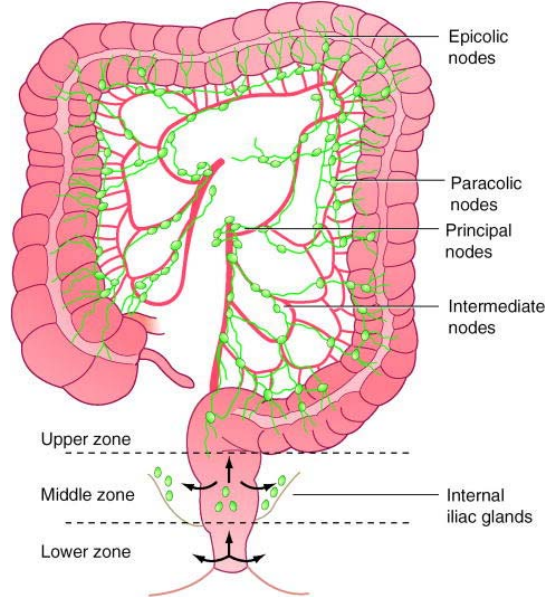


Şekil 2. Kolonun Venöz Sistemi

(Townsend CM, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL(eds): Sabiston Textbook of Surgery The Biological Basis of Modern Surgical Practice 17th Ed. 2004. p.1412)

Kolonun Lenfatik Drenajı

Kolon submukoza ve musküler tabakada yerleşmiş lenfatik kanallarla çevrilidir. Mukozada lenfatik drenaj yoktur. Lenfatik damarlar kolonun arteriyel dolaşımını takip ederler. Lenf nodları bağırsak duvarında (epikolik), bağırsak kenarının iç yüzeyi boyunca (parakolik), mezenterik arterler boyunca (intermediate) ve SMA, İMA çıkışları civarında (ana lenf nodları) yer alırlar (Şekil 3).



Şekil 3. Kolonun Lenfatik Drenajı

(Townsend CM, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL(eds): Sabiston Textbook of Surgery The Biological Basis of Modern Surgical Practice 17th Ed., 2004. p.1413)

Kolonun Sinirleri

Sempatik sinirler T11-L3' ten kaynaklanan sempatik ganglionlardan sağlanır. Sempatik sinirler peristaltizmi ve sekresyonları azaltır. İlioçekal kapak ve anal sfinkter tonusunu arttırarak defekasyonu geciktirir.

Parasempatik sinirler ise sağ kolon ve transvers kolonun ilk yarısı nervus vagustan splenik fleksura ve inen kolon için ise S1-S3 pleksusundan köken alır. Parasempatik sinirler sekresyonları ve peristaltizmi arttırır. Sakral parasempatiklerin dağılımı hipogastrik pleksusdan geçerek splenik fleksuraya kadar ulaşır.

2.2. Kolon Fizyolojisi

Kolon, sindirim artıklarının deposu ve iletim kanalı yanında sodyum ve kloru emer, potasyum, bikarbonat ve mukus salgılar. Bu da karbonhidratların, proteinlerin sindirimi için ve K vitamininin bakteriyel üretimini sağlayan ortamın oluşturulması için gereklidir. Kolonda belirlenen fizyolojik olaylar:

Su ve Elektrolit Değişimi

Kolonun majör emici fonksiyonu bağırsakta su ve elektrolit dengesini düzenlemektir. Kolon su ve elektrolitlerin % 90'ından fazlasını emerek enterik içeriğin hacmini azaltır. Günde yaklaşık 6,5 litre sıvı ince bağırsaklar tarafından 1,4 litre sıvı,

200 mEq sodyum ve klor kolon tarafından emilir. Yüz ml kadar sıvı feçes ile dışarı atılır. Kolon günlük absorpsiyon kapasitesini 5-6 litreye çıkarabilir. Eğer ince bağırsakların günlük absorpsiyon kapasitesi 2 litreden az olursa kolonun sıvı emme gücü aşıldığından fekal su miktarı artar ve klinik olarak diare ortaya çıkar.

Kolon yüksek konsantrasyon gradiyentine karşı sodyum absorbe edebilme yeteneğine sahiptir. Özellikle distal kolonda böbreğin distal tübüllerindeki benzer temel hücresel mekanizmalarla sodyum ve su transportu gerçekleşir. Kolon günlük 400 mEq sodyum emebilme kapasitesine sahiptir. Dehidratasyon sırasında aldesteron stimülasyonuna kolonik cevap önemli kompensatuar mekanizmadır. İleostomili hasta bu absorpsiyon kapasitesini kaybeder, bu yüzden artmış sodyum kaybını tolere edemez. Aldesteron ve glikokortikoidler apikal membran permeabilitesinin sodyuma karşı geçirgenliğini artırarak absorpsiyonunu artırır. Bu nedenle ülseratif kolitli hastalara tuzsuz diyet önerilmektedir. Kolondaki potasyum geçişi sodyumun aktif transportu sonucu oluşan elektrokimyasal gradiente göre pasif olarak gerçekleşir. Potasyum sekresyonu, lümendeki konsantrasyon 15 mEq'den daha az olduğu sürece devam eder. Bu düzey altında ise potasyum sekresyonu durur ve absorpsiyonu başlar. Aldesteron ve epinefrin sodyum ve potasyum sekresyonunu artırırken, betanekol azaltır.

Klor, konsantrasyon gradientine karşı kolon mukozasından aktif emilir. Klor ve bikarbonat lümenal yüzeyde değişime uğrar. Lümeninde asidotik ortam varsa klor absorpsiyonu artar. Bu da bikarbonat sekresyonunu artırır. Üreterosigmoidostomili hastalarda üriner klor absorpsiyonu ve aşırı bikarbonat sekresyonu nedeniyle metabolik asidoz ve hiperkloremi gelişebilir. Klor konsantrasyonu % 25 oranında bikarbonat değişimi, % 75 oranında nötral NaCl absorpsiyonu ile olur.

Besinlerin aktif emilimi minimal olsa da kolon, emilmemiş karbonhidratlardan intraluminal bakteriyel fermentasyonla oluşan kısa zincirli yağ asitlerini pasif olarak emebilir. Emilmiş butirat, asetat ve propionat gibi kısa zincirli yağ asitleri kolonik epitelin yakıt kaynağıdır. Oluşan enerji aktif sodyum transportunda gereklidir. Ülseratif kolitli hastalarda kısa zincirli yağ asitlerinin metabolizmasının bozulması sonucu sodyum absorpsiyonu bozulur. Bu hastalarda, intraluminal kısa zincirli yağ asitleri fayda sağlayabilir.

Kolonik bakteriler protein ve üreyi parçalayarak amonyak oluşturur. Amonyum iyonları bikarbonat ile reaksiyona girerek noniyonize amonyak olarak kolon mukozası

ile karaciğere taşınır. Kolon lümeni asidotik ise amonyak emilimi azalır. Orta spektrumlu antibiyotik, lavman, müshil kullanımı kolondaki bakteri miktarını azaltarak amonyum üretimi azaltılır. Karaciğer yetmezliği olan hastalarda kullanılabilen tedavi yöntemlerindedir.

Bakteri, enterotoksin, vazoaktif intestinal polipeptid, nörotransmitter, laksatifler kolondaki sıvı ve elektrolit sekresyonunu uyarır. Vazoaktif intestinal polipeptidin kolondaki su absorpsiyonunu önlediği saptanmıştır. Ülseratif kolit ve laksatiflerle oluşan diarede prostoglandinler kolondaki sekresyonun artışına neden olur.¹⁶

Motilite

Kolondaki bölgesel farklılıklar ve düzensiz kontraktıl dalgalar nedeniyle kolon motilitesi hakkında çalışma yapmak zordur. Kolondaki kontraksiyonlar üç tiptedir.

Geriye Doğru Hareket: Transvers kolondan kaynaklanan ve çekuma doğru ilerleyen kontraktıl dalgalarıdır. Bu kontraksiyonlar, bağırsak içeriğinin sağ kolondan geçişini yavaşlatarak mukozayla temasını uzatır. Böylece transit zamanı uzar, sıvı ve elektrolit absorpsiyonu artar.

Segmental Kontraksiyon: En sık gözlenen kontraksiyon tipidir. Longitudinal ve sirküler kasların, izole bir kolon segmentinde eşzamanlı kontraksiyonu ile karakterizedir. Tüm kolonda oluşmakla birlikte daha çok sağ kolonda gözlenir. Sigmoid kolonda ortaya çıkışlarının divertikül oluşumunda rolü olduğu öne sürülmüştür. Bu kontraktıl aktivite yiyeceklerle ve kolinerjik ilaçlarla artar.

Kitle Hareketi: En az görülen kolon aktivitesidir. Uzun bir kolon segmentinde ilerletici kontraktıl dalga ile karakterizedir. Koordine bir hareket ile kitle uyarısının oluştuğu noktanın proksimalinde sirküler bir kasılma ve distalinde de gevşeme ile karakterizedir. Kolonik içeriğin 0,5-1 cm/sn'lik hızla ileri doğru itilmesini sağlar. 20-30 sn kadar sürer ve lümende 100-200 mmHg'lık bir basınç artışı oluşturur. Sıklıkla kahvaltı sonrası olmak üzere günde 3-4 kez ortaya çıkar. Sigmoid kolonda da defekasyon sırasında kitle hareketi olabilir.

Kolonda üç tip myoelektrik aktivite mevcuttur. Tip 1 kısa süreli düşük amplitüdü, monofazik basit dalgalarıdır. Tip 2 daha uzun süreli, daha yüksek basınç oluşturabilen ortalama 2/dak hızda gelen dalgalarıdır. Tip 3, Tip 1 ve Tip 2' ye süperimpoze genellikle

10 cm-H₂O'dan daha düşük basınç ve bazal basınçta değişiklik oluşturan dalgalardır. Kolonun motilitesini etkileyen faktörler vardır. Bunlar:

Yemek: En büyük fizyolojik uyarandır. Özellikle sabah kahvaltısından 15-30 dakika sonra gastrokolik ve duodenokolik refleks propulsif hareketi arttırarak içeriğin distale iletilmesini, defekasyon hissinin oluşmasını sağlar. Yiyeceğin mideye girmesi ile refleksin ilişkisi net ortaya konamamıştır. Nöral ve hormonal mekanizmaların da etkili olduğu anlaşılamamıştır. Yemek alımından sonra kolonik aktivitenin başlaması için gastrin, kolesistokinin ve gastrik inhibitör polipeptidin kan düzeylerinde yükselmesi arasında bir paralellik saptanmıştır. Nöral yolların ise nervus vagus ile sağlandığı kabul edilmektedir. Yapılan çalışmalarda bu refleksin oluşmasında santral sinir sistemi, lumbokolonik sinirler, vazovagal yollar ve vazolumbal kolonik refleks yolları etkili olmaktadır. Antikolinergik ilaçlar ile bu refleksin erken cevabı önlenmektedir.

Emosyonel Durum: Nefret, kızgınlık ve küskünlük hipermotiliteye, kaygı ve korku hipomotiliteye neden olur.

Egzersiz: Fizik aktivite sırasında segmental ve peristaltik kasılma artarken, uyku sırasında azalmaktadır.

Kolonik Distansiyon: Kolonda oluşan gerilim ile kolonik aktivitede artış izlenir. Bu özellik laksatif kullanım prensibinin temelini oluşturur. Sindirilemeyen polisakkaritve selüloz derivelere, lümende suyu absorbe ederek kitle etkisi oluşturur ve propulsif hareketi başlatır.

Motilite: Henüz tam anlaşılamamış kompleks ekstrensek ve intrinsek nöronal sistemlerle düzenlenir. Ekstrensek sistem vagustan ya da pelvik pleksustan (S₂, S₃, S₄) gelen preganglionik sempatik nöronları (T₁₁, L₂) içerir. İntrensek sinir sistemi (enterik) kolon duvarındaki nöronlardan oluşur. Bu intramural nöronlar, geniş bağlantı pleksusları ile ilişki halindedir. İntrensek pleksuslar kolon duvarındaki lokalizasyonlarına göre isimlendirilirler: Subserozal, myenterik (Auerbach pleksusu), submukozal (Meissner pleksusu) ve mukozal pleksus. Ayrıca intrinsek nöronlar duyuşsal ve motor nöronlar olarak ayrılabilir. Duyuşsal nöronlarda oluşuşan uyarı motor nöronlara aktarılarak, komplike şekilde uyarının oluşuştuğu yerin proksimalinde kasılma, distalinde gevşeme oluşturur. Motor nöronlar eksitator veya inhibitör olabilir. Eksitator nöronlar submukozal ve subserozal pleksustaki postganglionik parasempatiklerdir. Asetilkolin en önemli eksitator nörotransmitterdir. Etkisi atropin ile bloke edilebilir.

Nonkolinerjik ajan olarak substance-P enterik nöronlardan salınır ve eksitator etki gösterir. İnhibitör nöronlar ise esas olarak subserozal pleksusta yerleşir. Bunlar nonkolinerjik ve nonadrenerjiktir. Adenozintrifosfat gibi purin nükleotidlerini ve vasoaktif inhibitör peptidi nörotransmitter olarak kullanır. İnhibitör nöronlar esas olarak kitle hareketi gibi propulsif kontraksiyonların koordinasyonunu sağlar.¹⁶

2.3. Kolon Mikroflorası

Doğumda insan kolonu sterildir. Ancak saatler içinde bağırsaklar ağızdan anüse doğru kolonize olur. Neonatal dönem ve hayatın ilk aylarında mide-bağırsak kanalına bakteriler yerleşmeye başlar ve zamanla gastrointestinal kanalın değişik yerlerinde kompozisyonları farklı olan mikroflora oluşur. Kalın bağırsak, feçes kuru ağırlığının 1/3'ünü oluşturan yoğun bakteri popülasyonunu barındırır. Feçesin her gramı 10^{11} - 10^{12} bakteri içerir. Anaerobik bakterilerin aerob bakterilere oranı 1/1000 kadardır. *Bacteriodes* türleri en sık rastlanan kolonik organizmalardır. Feçesin milimetresinde 10^{11} - 10^{12} arasında bulunurlar. *Escherichia coli* ise milimetrede 10^{10} kadar bulunur. Mide-bağırsak lümeni içeriği, konağın metabolik süreçlerine ve immünolojik yanıtına da müdahalede bulunan aktif bir mikrobiyolojik ekosistemdir.¹⁷

Normalde bağırsak mukozasının kalıtsal olarak sahip olduğu yapısal ve fonksiyonel özellikleri, lümendeki bakterilerin mukozaya kolonize olmalarına ve bağırsak duvarını invaze etmelerine engel olur. Enterik immün sistem ile mikroorganizmalar arasındaki dengenin bozulması, kronik inflamatuvar bağırsak hastalığını başlatan süreci tetikler. İBH'de bağırsak lümenindeki bakteri sayısının arttığına ve flora kompozisyonunun değiştiğine ait bilgiler vardır.^{18,19}

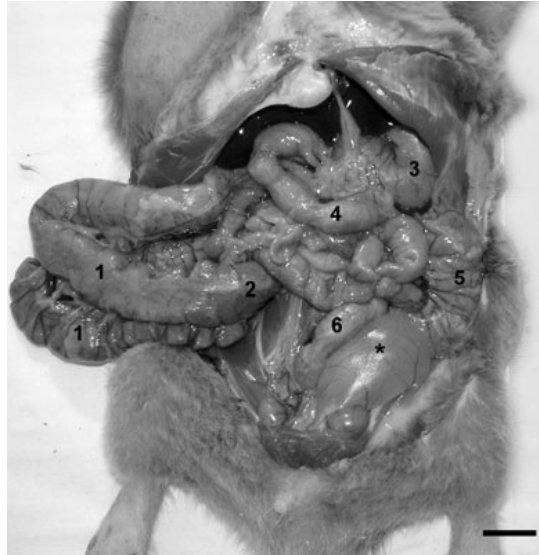
ÜK'li hastaların feçeslerinde adeziv ve invazif özellikleri olan *Escherichia coli* saptanmıştır.²⁰ Yapılan çalışmalarda ÜK hastalarının bağırsak florasında *Bacteriodes vulgatus* en sık izole edilen ve konsantrasyonu en yüksek olan bakteri olduğunu ve bu hastaların serumlarında *Bacillus vulgatus*, *Bacillus fragilis* ve *Clostridium romasum* aglutinin titrelerinin de yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir. İBH'de şiddeti arttıkça mukozal bakteri konsantrasyonunun yükseldiği de bildirilmiştir.²¹

Endojen kolon bakterileri sindirilmeden geçen karbonhidrat ve proteinlerin yıkımında önemli rol oynarlar. Ayrıca enterohepatik dolaşım ile yeniden kazanılan

birçok maddelerin (bilirubin, safra asitleri, östrojen, kolesterol) metabolizmasında görev alır. K vitamini gibi gerekli maddeleri üretirler.

2.4. Ratlarda Kolon Anatomisi

Ratların gastrointestinal anatomisi insan anatomisi ile oldukça benzerdir. Ratlarda safra kesesi yoktur. Duodenum anatomisi de insandaki anatomiden farklıdır. S şeklinde karaciğerin viseral yüzünü takip ederek önce sağa, sonra orta hatta yönelir, transvers kolon ile arasında mevcut olan bağlantı kolonun disseksiyonu sırasında önemlidir. İleum doğrudan kolona açılır, insanda mevcut olan ilioçekal valv yapısını bulundurmaz. Çekum ratlarda da kolonun en geniş kısmını oluşturur ve 6-9 cm. uzunluktadır. Daha sonra daralarak insandaki gibi çıkan kolon, transvers kolon ve inen kolon kısımlarını oluşturur. Ortalama uzunluğu 21-24 cm kadardır. Makroskopik olarak ayırt edilebilen tenya yapısı yoktur. Rektum mukozal oblik pililerin bağırsak uzun eksenine paralel hale gelmesiyle kolonun diğer segmentlerinden ayırt edilir. İnsandan farklı olarak kolonun neredeyse tamamı mobildir ve visseral periton ile örtülüdür Bu özellikleri ile rat kolonu anatomik olarak kolit modeli oluşturmak için, uzun süredir kullanılan yeterli bir modeldir (Şekil 4).²²



Şekil 4. Rat Kolon Anatomisi

(1) ve (2) çıkan kolon,(3) mide, (4) duodenum, (5) çekum ve (6) inen kolon (6), * mesane (23)

2.5. İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları

İBH, ince ve kalın bağırsağın çeşitli katmanlarını tutan bir hastalık grubudur. Bazı yazarlar yalnızca CH ile ÜK'yi İBH olarak tanımlarken, bir kısmı da bakteriyel, viral, fungal ve parazitik infeksiyonlar ve ilaç ile yatrogenik oluşturulan veya radyasyon ile gelişen inflamasyonları da bu grup hastalık içerisinde tanımlamaktadırlar. CH ve ÜK, süresi ve şiddeti değişken alevlenmeler ve remisyonlar ile karakterizedirler. Genel olarak klinik seyirlerini tahmin edebilmek oldukça güçtür. CH birincil olarak ince bağırsağı, özellikle de ileumu tutarken, ÜK ise sadece kolon hastalığı olarak ortaya çıkar. Her iki hastalık da gerek belirti ve bulguları, gerekse seyirleri açısından genel olarak birbirlerine benzerler. Her ikisi de, bağırsak dışı birçok organda oluşturabildikleri komplikasyonlar ve malignite potansiyelleri nedeniyle, kolon ve rektum hastalıkları arasında önemli yer tutmaktadırlar.²⁴

ÜK kolon ve rektum mukozasını tutan, tekrarlayan inflamasyon ve ülserlerle karakterize, remisyon ve relapslarla seyreden kronik bir hastalıktır. Kadın/erkek oranı hemen hemen bütün yaş gruplarında bire yakındır ve en çok 15-40 yaş grubunda görülmektedir. Olguların % 5'inde ailevi bir predispozisyon bulunur. Hastalığın prevalansı tüm popülasyonda 20-130/100000 iken insidansı 1,3-15,1/100000/yıl'dır. Hastalık, akut ve ağır hastalık durumları dışında yalnızca mukoza ile sınırlıdır. Hastalıklı dokuların histopatolojik incelemelerinde akut ve kronik inflamatuvar hücrelerin mukozayı infiltre ettikleri, goblet hücrelerinin azaldığı ve çok sayıda kript abselerinin bulunduğu görülmektedir. Ancak ağır durumlarda ülserle transmural olabilmekte ve CH'de görülen lezyonlardan ayrılabilimleri güçleşmektedirler. Klinik olarak kanlı mukuslu diyare, rektal kanama, kramp tarzı karın ağrısı, ateş, iştahsızlık, kilo kaybı gibi semptomlar ve lokal ya da sistemik komplikasyonlarla seyreder. Olguların %54'ünde hastalık rektosigmoid yerleşimli iken % 27'si sol kolon tipi ve % 19'u pankolit şeklindedir (Şekil 5).^{25,26}

CH ağızdan anüse kadar gastrointestinal kanalın herhangi bir yerini tutabilen, kronik seyirli, progresif, granülamatöz inflamasyonla karakterize bir hastalıktır. CH her yaşta ortaya çıkabilmesine rağmen sıklıkla 2.-3. dekatta başlar. Hafif bir kadın hakimiyeti vardır. Beyazlar ve Yahudilerde daha sık görülür. Hastalığın prevalansı tüm popülasyonda 10-70/100000 iken insidansı 0,5-6,3/100000/yıl'dır. En sık ileum ve kolonun birlikte tutulumu görülür. İnflamasyon, bağırsak duvarının tamamını ve

çevredeki mezenter ve lenf bezlerinin de içine alabilmektedir. Hastalığın bir özelliği de, lezyonların transmural olarak bağırsağı tutması ve lezyonlar arasında sağlam segmentler bulunmasıdır (Şekil 6). Uzun dönemde bu lezyonlar bağırsakta kısalmalara ve striktür oluşumuna yol açabilmektedirler. İlk kez 1932 yılında, Crohn, Ginzburg ve Oppenheimer terminal ileumda segmenter mukozal ülserasyonlar, çok sayıda fistüller, bağırsak duvarında aşırı bağ dokusu reaksiyonu ve buna bağlı stenoz ile seyreden bir olguyu terminal ileit olarak tanımlamıştır. Klinik olarak kramp benzeri karın ağrıları, kilo kaybı, diyare ve ateş ön plandadır. Rektal kanama, ülseratif kolitte olduğu kadar sıklıkta görülmez. Mesane, üreter, diğer bağırsak segmentleri gibi organlara fistüller oluşması ve perianal bölge hastalıklarının sıklıkla görülmesi hastalığın özellikleri arasındadır. Mikroskopik olarak granülomların görülmesi, akut ve kronik inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu ile birlikte transmural lezyonların olması tanı koymaya yardımcı olmaktadır. Birincil olarak sindirim sisteminin bir hastalığı olmasına karşın iritis, ankilozan spondilit, sklerozan kolanjit, nefrolitiazis, üriner sistem patolojileri gibi ekstraintestinal komplikasyonlar sıklıkla bulunur. Hastaların yarısında ileokolik bölge tutulur. Geri kalanların % 19'unda hastalık kolonda ve % 2'sinde anorektal bölgede lokalizedir. Özofagus, mide, duodenum tutulumu % 3-5, sadece ince bağırsak tutulumu ise % 29'dur.^{26,27}

İBH'de mukozal hücre hasarına neden olabilecek etkenler

- azalmış splankik kan akımı
- sitokinler ve SOR'ların neden olduğu hasar
- antioksidan besinlerin alımında azalma (GLN, çinko, selenyum vit A,C,E)
- enteral beslenmede yetersizlik ve/veya ekzojen bağırsak trofik besinlerin yetersiz alınımı (GLN, kısa zincirli yağ asitleri)
- bağırsak hücrelerinin, trofik besinleri öğütme yeteneğinde yetersizlik
- hormonal büyüme faktörleri etkilerine hücrel direnç
- diğer bilinmeyen nedenler olarak sıralanabilir.

İBH'de akut atakta ve akut atak sonrası remisyonunda olmak üzere iki şekilde tedavi uygulanır. Akut ataklar sırasında, hasta kaybı en fazladır. Akut atak sırasında, hastaların bir kısmında acil cerrahi girişim gerekirken, bir kısmında da steroide bağımlı

hale gelebilirler. Remisyon, cerrahi girişim gerektirecek hasta sayısını azaltmada önemlidir. Hafif ve orta dereceli ataklarda sülfosalazin, topikal ve oral steroidler kullanılır. Şiddetli atak geçiren hastalar, hastaneye yatırılarak sıvı - elektrolit replasmanı yapılmalı ve parenteral glukokortikoidler başlanmalıdır. Tedaviye cevap, 5-7 gün içinde olur ise oral tedaviye geçilir. Bu tedaviye yanıt alınamaması acil cerrahi girişim gerektirebilir.^{28,34}

Suppozituar veya lavman şeklinde lokal steroid tedavisi, hastalığı rektumda sınırlı hastalara uygulanabilir. Steroidlerin sistemik yan etkilerden sakınmak için yeni topikal steroidler geliştirilmiştir. ÜK remisyonuna girdikten sonra idame tedavisinde aminosalisilatlar kullanılırlar. Bu amaçla 5 - Amino Salisilik Asit (5 - ASA) ve sülfapiridin birleşmesinden oluşmuş olan sülfosalazin kullanılır . CH'de ise bu ilaçların idame tedavisindeki yeri açık değildir.^{33,35,36}

Son zamanlarda, tedaviye dirençli aktif dönemdeki İBH'de ve CH'de remisyonadaki hastaların idame tedavisinde, fistüllerde, perianal hastalıkta immunosupresif ilaçlar denenmiş ve başarılı bulunmuştur. Yapılan çalışmalar bu ajanların, steroid dozlarını azaltmada etkili olduklarını göstermişlerdir. Azothioprine, 6-merkaptopürin, siklosporin ve MTX bu amaçla kullanılan immunsupresif ajanlardır. Yine tedavide kullanılan immunomodülatör ilaçlar da etkilerini lenfositlerin aktivasyonunu ve proliferasyonunu azaltarak gösterirler. Genellikle medikal tedaviye yanıt vermeyen, fulminan gidişli olgularda bu tedavi yüksek doz uygulanarak hastayı cerrahi girişimden korumak amaçlanır.^{33,37,38}

ÜK tedavisinde antibiyotiklerin ise, sepsis dışında fazla kullanım alanı yoktur. Fulminan kolit ve toksik megakolon durumunda intravenöz antibiyotikler uygulanır. Bu amaçla metranidazol ve siprofloksasin kullanılabilir.³³

ÜK'de medikal tedaviye yanıtızsız ağır ataklarda ve bu ataklar sırasında gelişen komplikasyonlarda, (perforasyon, akut dilatasyon, obstrüksiyon gibi), cerrahi tedavi endikasyonu vardır. CH'de ise cerrahi tedavi sadece komplikasyonlara yönelik olmalıdır çünkü hastalığın nüks olasılığı yüksektir.³³

ÜK'in cerrahi tedavisi aynı zamanda hastalık için kür de sağlar. Bu amaçla total kolektomi, ileostomi, total kolektomi-poşlu ileoanal anastomoz gibi cerrahi yöntemler tercih edilir.³³

Toksik megakolonda tedavi baslangıçta etkili medikal ve destekleyici tedavi olmalıdır. Tüp drenajla kolonik dekompresyon uygulanmalıdır. Medikal tedaviye % 50 oranında yanıt alınır. Hastada perforasyon ve komplikasyon belirtileri gözlenirse morbidite ve mortalite riski arttığından dolayı acil cerrahi girişim yapılmalıdır. Cerrahi olarak acil total kolektomi, perforasyon mevcutsa loop ileostomi yapılır.^{33,41,42}

CH'nin cerrahi tedavisi hastalıklı bölümün rezeksiyonunu içerir. Rezeksiyon sınırı makroskopik olarak belirlenen hastaliksız bağırsak segmentidir. Hastalıklı segmentin rezeksiyon anastomozu yapılabileceği gibi, batın içi yaygın enfeksiyonda rezeksiyon - ostomi veya hastalıklı segment çıkarılamıyorsa proksimal stoma uygulanabilir. CH'da daha sık görülen perianal fistüllerde ise sifinkteri koruyucu sınırlı cerrahi yapılmalıdır.³³

İBH'de kronik hastalık sürecinde oluşan displazi ve kanser gelişimi, önemli bir cerrahi endikasyondur (Şekil 7). ÜK'de bu endikasyonla yapılan total kolektomi aynı zamanda kür de sağlar.³³

Yeni klinik kullanıma girmiş olan ajanlar: infliksimab, nikotin ve eritropoetin'dir. Birçok ajan da, deneme aşamasındadır.

2.5.1.Etyoloji ve Patogenezi

İBH'nin hastalık mekanizmasını tetikleyen etkenler halen bilinmezliğini korurken, hastalığın ilerlemesinde yer alan olası mekanizmalar ve medyatörler konusunda giderek daha fazla teoriler geliştirilmektedir. Altta yatan neden ne olursa olsun, ortaya çıkan kolonik hasarda organın yanıtı hemen hemen aynı şekilde olmaktadır. Sigara içimi, oral kontraseptifler, alkol, rafine şekerler, infeksiyöz hastalıklar (ÜK için Herpes Simplex Virüsü ve Escherichia coli suşları, CH için Kızamık virüsü ve Mycobacterium paratüberkulozis) suçlanmaktadır. Ancak hem hastalığın başlangıç aşamasında hem de ilerlemesinde gastrointestinal kanalın immün regülasyonundaki bozuklukların etkili olduğu görüşü günümüzde daha çok kabul görmektedir. Hem ÜK hem de CH'nin patofizyolojisinde bağırsak ilişkili lenfoid dokunun rolü olduğu bildirilmektedir. CH'deki granülomlar (T-hücre ilişkili bağışıklık), ÜK'deki lenfoid infiltrasyona bağlı Arthus reaksiyonu, diğer immün sistem hastalıklarında İBH'nin ekstraintestinal bulgularının ortaya çıkışı, İBH hastalarında hipergamaglobülinemi ve otoantikörlerin varlığı bu görüş ile açıklanmaktadır.⁴³

ÜK ve CH benzer genetik yatkınlık ve inflamatuvar sürece sahip olmalarına rağmen antijenik uyarıyı başlatan sebeplerin farklı olduğu düşünülmektedir. Hayvan modelleri bize başlangıç hasarını oluşturan ve immünregülatör mekanizmayı bozan faktörlerin çeşitlilik gösterdiğini, ancak benzer bağırsak hasarı oluşturduklarını bildirmektedir. İnsan çalışmaları ise genetik heterojenitenin etkilerini ortaya koymaktadır. Yine bu çalışmalar göstermiştir ki süreci başlatan sebep ne olursa olsun bağırsak iyileşme yeteneğine sahiptir. Bu hastalıkları kronik hale getiren sebep lümen içindeki toksik madde ile temasın sürekli olması (sıklıkla bakteriyel sebepler) ve kişinin genetik yatkınlığıdır.⁴⁴

Nonspesifik intestinal inflamasyon besin antijenleri, bakteriyel toksinler ve mikroorganizmalar ile tetiklenebilir. Epitelyal hücrelerdeki ve immün sistemdeki anormal aktivasyon sonucu gelişen lenfosit proliferasyonu ve İL-1 β , İL-6, İL-8, İL-10, İFN- γ , TGF- β , prostagladinler, TX, LTB₄, TNF, PAF gibi sitokinler ve nötrofillerden salgılanan aşırı NO ile intestinal bariyer zayıflar. 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 olmayanlar bu hasarı immün cevabın down-regülasyonu ile sınırlandırarak geride herhangi bir skar dokusu kalmaksızın iyileşmeyi sağlarlar. Genetik olarak eğilimli kişilerde inflamatuvar cevap baskılanamaz ve doku yıkımını takiben kronik inflamasyon ve fibrozis gelişir.^{43,45-47}

CH'deki inflamatuvar süreci başlatan uyarı sıklıkla lüminal bir anaerobik bakteriyel ajan iken ÜK'deki inflamasyon fonksiyonel olarak anormal aerobik bakteriler ya da epitelyal hücrelerdeki primer defekte bağlıdır.⁴³



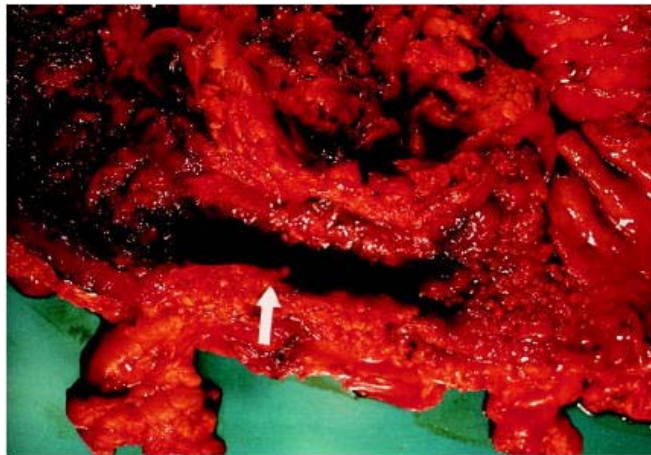
Şekil 5. Ülseratif Kolitte Pankolit Durumu

(Townsend CM, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL(eds): Sabiston Textbook of Surgery The Biological Basis of Modern Surgical Practice 17th Ed., 2004. p.1427)



Şekil 6. Crohn Kolitinde, Mukozada Lineer Ülserasyonlar ve Kaldırım Taşı Manzarası

(Townsend CM, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL(eds): Sabiston Textbook of Surgery The Biological Basis of Modern Surgical Practice 17th Ed., 2004. p.1437)



Şekil 7. Ülseratif Kolit, İnvaziv Kanserin Neden Olduğu Daralma

(Townsend CM, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL(eds): Sabiston Textbook of Surgery The Biological Basis of Modern Surgical Practice 17th Ed., 2004. p.1430)

2.6. Deneysel Kolit Modelleri ve Literatürün Gözden Geçirilmesi

İnsan İBH için birçok deneysel kolit modeli geliştirilmiştir. Kimyasal indüksiyon, immün hücre transferi veya genetik müdahale ile oluşturulurlar. Ek olarak, yeni dünya maymunu, resus makakı ve C3H/He1 tip farelerde kendiliğinden kolit gelişebilir. Bu son üçü çok çekici modellerdir. Çünkü herhangi bir ekzojen manüplasyona gerek yoktur. Bununla beraber, bu hayvanlara ulaşım zor olduğu için kullanım alanı sınırlıdır. Genişçe kullanılan modeller kimyasal ajanlarla indüklenen modellerdir. Bu modellerde deneysel kolit, iritanlar ya lüminal olarak (TNBS, asetik asit, oksazonon, dinitroklorobenzen, iodoasetamid), ya içme suyuyla (dekstan sodyum sülfat), ya gastrik lavajla (siklosporin A) veya çoklu intramural injeksiyonla (peptidoglikan, polisakkarid) uygulanarak oluşturulur. TNBS ve oksazonon modellerinde, iritan madde etanol gibi mukozal bariyer kırıcı içinde verilir, bu sayede haptentlerin dokulara girişi gerçekleşir. Dinitroklorobenzen de haptent ajandır, ancak TNBS ve oksazonona zıt olarak hayvanlarda kolit oluşturmak için lümene verilmeden önce hayvanlar sensitize edilmelidir. Dekstran sodyum sülfat ve karegenanın içme suyuyla sürekli verilmesi yaklaşık bir haftada kolonik inflamasyonlara sebep olur. Kimyasal olarak oluşturulan modellerin çoğu akut kolit modeli oluşturulur. Bununla beraber bazıları kronik özellik gösterirler.⁴⁸⁻⁵⁶

2.6.1. TNBS-E kombinasyonu ile ratlarda oluşturulan deneysel kolit modeli:

Morris ve arkadaşları tarafından ortaya konulan bu modelde sensitize edici allerjen bir madde olan TNBS'nin etanol içinde hazırlanmış solüsyonunu (TNBS-E) ratlara lavman şeklinde uygulanması sonucu kolit geliştirilmiştir. Bu modelde insanlarda oluşan CH'nin birçok histopatolojik ve klinik özellikleri gözlenmekte ve oluşan kronik inflamatuvar yanıtın süresi 8 haftaya kadar uzamaktadır. Etanol, mukoza bariyerini ortadan kaldırmak ve bu yolla TNBS'nin bağırsak duvarına penetre olmasına yardımcı olmak amacıyla verilmektedir. Lavman şeklinde uygulanan TNBS, kovalen reaktif bir bileşik (haptent) olduğu için bağırsakta oksidatif hasara ve buna bağlı olarak genellikle transmural akut nekroza yol açmaktadır. Ratlarda TNBS-E'nin oluşturduğu kolitin patogenezi tam olarak açıklık kazanmamasına rağmen immunolojik mekanizmaları içerdiği düşünülmektedir. Etanol yardımı ile bağırsak duvarına penetre olan TNBS, dokunun kendi yüksek moleküler ağırlıklı protein molekülleri ile kovalen

bağlarla birleşerek “haptin modifiye antijenler” oluşturmakta ve T hücreleri aracılığı ile bu moleküllere immün yanıt oluşmaktadır. Burada oluşan hasar sonucunda makroskopik olarak kolon duvarında belirgin kalınlaşma, derin soliter veya çoklu ülserler ve mikroskopik olarak polimorfonüveli lökosit infiltrasyonu ve granülomlarla seyreden transmural inflamasyon gözlenmektedir. TNBS-E'nin lavman ile verilmesini takip eden ilk birkaç günde fokal bazal kriptlerinde yer aldığı akut nekroz ve inflamasyon alanları göze çarpmaktadır. Bu safhayı takip eden kronik süreçte ise mononükleer hücre infiltrasyonu ön plana çıkmakta ve daha çok submukozaya sınırlı kronik inflamasyon görüntüsü saptanmaktadır.^{48,56}

2.7. Deneysel Kolit Modeli Üzerine Tedavi Amacıyla Kullanılan Ajanlar

2.7.1 N Asetil Sistein

NAC, bir tiol molekülü olup L-sistein ve indirgenmiş glutatyonun prekürsörüdür. Hücrelerde sülfidril gruplarının kaynağı olup, OH- gibi serbest oksijen radikalleriyle etkileşerek serbest radikalleri temizler. NAC apoptozisi önleyebilmekte ve çeşitli proteinlerin aktivitelerini düzenleyerek hücre sağ kalımını uzatmaktadır. NAC, endotelial disfonksiyonunu azaltmakta, inflamasyon, fibroz, invazyon, kartilaj erozyonu, asetaminofen detoksifikasyonu ve transplantasyon ihtiyacının geciktirilmesini sağlamaktadır.⁴⁵ Antitoksisitesindeki olası mekanizmalar GSH artışına neden olması ve serbest radikallerini temizlemesi sayılabilir.⁴⁶ Hidroksil radikalleri yüksek derecede reaktiftir ve lipid peroksidlerinin oluşumuna neden olabilir. Özellikle indirgenmiş GSH gibi sülfidril içeren bileşikler hücrelerin hidrojen peroksit zararından korunmasında çok önemlidir. GSH aynı zamanda oksidatifler tarafından salınan serbest radikalleri de temizler. Bu yüzden GSH'nin sitoprotektif ve antioksidan ajan olarak kullanılabileceğini öneren pek çok çalışma vardır.¹² GSH'nin kendisi hücreler tarafından hızlıca alınmaz, bu yüzden GSH'nin metil ve etil esterleri tanımlanmış ve bunların hücre zarını kolay geçtiği bildirilmiştir. Her ne kadar GSH esterlerinin toksitesi hakkında birkaç yayın olsa da; bu muhtemelen bileşiklerin hazırlanması esnasındaki kontaminasyona bağlıdır. Ayrıca, NAC, muhtemelen konağın hücrelerine girip, sistine hidrolize olup GSH sentezini stimüle ederek antioksidan etki gösterir.^{57,60}

Deneysel modellerde sepsisten önce veya sonra oksijen radikal süpürücülerinin verilmesinin sağ kalım artırdığı gösterilmiştir. NAC sülfidril donörü olan bir

antioksidandır ve EDRF ve GLN rejenerasyonunu destekler. Pek çok çalışma NAC'nin mikrosirküler kan akımında ve doku oksijenasyonunda önemli olduğunu göstermektedir.⁶¹

NAC serbest radikallerin biyokimyasını çalışırken *invivo* ve *invitro* bir ajan olarak kullanılmıştır. Hidroksil radikali ile hızlıca reaksiyona girerken hidrojen peroksit ile yavaş girer ve süperoksit radikalleri ile hiç girmez. Koyun ve domuz modeli kullanılarak endotoksin ile indüklenen ARDS oluşturulduğunda pek çok değişik hematolojik ve patofizyolojik anormalliğin ciddiyetini azalttığı ve sağ kalımı desteklediği gösterilmiştir.⁶⁰

2.7.2. Glutamin

GLN, esas olarak esansiyel olmayan amino asit grubundadır. Ancak, deneysel çalışmalar, katabolik durumlarda esansiyel hale geçtiğini göstermişlerdir. Vücutta en çok bulunan amino asittir. İskelet kası serbest amino asit havuzunun % 60'ını, plazmadaki serbest amino asit havuzunun ise % 20'ini oluşturur. Diğer amino asitlerin aksine sadece glutamin'in iki nitrojen atomu vardır ve nitrojen mekiği olarak bilinir. Vücudun en çok hangi bölgesinde gereksinim varsa o bölgeye nitrojen taşır. GLN; vücutta hızlı çoğalan hücrelerin önemli bir metabolik substratıdır. GLN, sistemik dolaşıma büyük oranda iskelet kasından sentez edilip salınır. İntrasellüler glutamat organlar arası nitrojen ve karbon taşıyıcısı olarak rol alır. Önemli bir enerji kaynağıdır ve protein sentezi ve hücre koruyucu sistemler için gereklidir. Major antioksidan GSH sentezi için prekürsördür. GLN, enterositler, kolonositler ve immün sistem hücreleri tarafından ana yakıt ve substrat kaynağı olarak kullanılmaktadır Sepsis, travma, cerrahi girişimler ve benzeri katabolik stres faktörlerinin etkisi ile iskelet kaslarından fazla miktarda GLN salınmakta, bunun sonucu olarak kas kitlesi ve kan GLN düzeyinde düşme ortaya çıkmaktadır. Deneysel bağırsak hasarı, atrofi ve katabolik stress modellerinde GLN ile zenginleştirilmiş parenteral ve enteral immün sistem hücrelerinin sayılarını ve/veya fonksiyonlarını arttırmakta, Gastrointestinal sistemde (GİS) mukozal büyüme ve onarımı hızlandırmakta, GİS kaynaklı sepsisi azaltmakta ve nitrojen dengesini düzenlemektedir.⁶² GLN, intestinal mukoza üzerinde trofik etkisi ve permeabilityi azaltıcı etkisiyle, bağırsak metabolizması ve fonksiyonunun devamı için

vazgeçilmezdir. Oral GLN veya glutamik asit desteğinin bağırsak bazal membranını koruyacağı ve cerrahi sonrası komplikasyonları azaltacağı savunulmuştur.^{63,66}

Glutaminin Metabolizmadaki Fonksiyonları

GLN'nin yara iyileşmesinde dolaylı bir rolü vardır. Fibroblastlar, epitelyal hücreler, enterositler, lenfositler ve makrofajlar gibi hızla çoğalan hücrelerin enerji kaynağıdır. Katabolik durumlar ve elektif cerrahi gibi durumlarda; eksikliğinin kaçınılmaz oluşu ve yerine koyma ile nitrojen dengesinin ve immunosupresyonun iyileştirilmesi mümkündür.⁶⁷

GİS'den emilen aminoasitlerin bir kısmı karaciğere giderken bir kısmı hücre içi aminoasit havuzunda toplanıp protein ve diğer nitrojenli maddelerin sentezinde kullanılır. GLN ise enterositlerde metabolize olur ve bunlar için gerekli enerjinin büyük kısmını sağlar. Protein sentezini regüle eder ve tüm hücrelerin nükleik asit biyosentezinin en önemli öncü maddesidir. İskelet kasları GLN'nin en önemli sentez ve depolama yeridir. Buradaki konsantrasyonu dolaşan kandakinin 30 katıdır.⁶⁸

Gastrointestinal trakt vücutta GLN'nin en büyük kullanıcısıdır. Enterositlerin başlıca enerji kaynağı olan glutamin enterositlerde trofik etkiye sahiptir. GLN ince bağırsak hücrelerinin mitokondrilerinde glutaminaz aktivitesi sayesinde önce glutamata daha sonra alfa ketoglutarata dönüşür. Trikarboksilik asit (krebs) döngüsüne katılarak ATP üretimi sağlanır.^{69,71}

Kolonositler enerji kaynağı olarak kısa zincirli yağ asitleri ve GLN'yi kullanırlar. Bağırsak ve bağışıklık sisteminde birçok hücre hızla prolifer olmaktadır. GLN, bu durumu hem enerji hem de biyosentetik prekürsör kaynağı işlevi görerek kolaylaştırır.^{62,72,73,74}

GLN, bağırsak duvarının bütünlüğünün korunmasına yardımcı olarak, septisemi ve multipl organ yetmezliğine yol açabilecek bakteriyel translokasyonu önler. GLN, dokuları serbest radikal hasarına karşı koruyan majör bir antioksidan olan GSH sentezinin öncülüğünü de yapabildiğinden, şok sonrası mukozal hasardan korunmada ve post-iskemik reperfüzyonda rol oynayabilir.⁷⁵

GLN ile zenginleştirilmiş total parenteral beslenmede jejunal mukozanın ağırlığı, DNA ve nitrojen içeriği artar ve anlamlı olarak villus atrofi azalır. GLN ilave edilmiş enteral diyet ile beslenenlerde MTX'e bağlı enterokolit daha hafif seyreder ve 5-

florourasil kullanımı ile oluşan mukoza hasarı daha çabuk iyileşir.^{63,64} Abdominal radyasyondan önce GLN kullanımı intestinal mukozaya koruyucu etki yapar, bağırsak GLN metabolizması artar ve tüm batın ışınlanmasından sonra morbidite ve mortalite azalır; GLN bu etkisini radyasyondan sonra verilince de gösterir.^{65,66} Total parenteral beslenmeye ilave edilen GLN karaciğer yağlanmasını ve pankreas atrofisini azaltır. Hücre kültürlerinde mitojenlere karşı normal lenfosit fonksiyonu, fagositoz sırasında protein sekresyonu, mRNA yapımı ve hücre membranının desteklenmesi için fosfolipid sentezinde önemli rol alır.^{35,54} Etkin bir bariyer olarak ve muhtemelen antioksidan koruma özelliğini artırarak gerçekleştirdiği savunma iyileşmesi aracılığıyla bağırsağın korunmasına yardımcı olmasından başka, GLN optimal immün savunmayı başka yollardan da kolaylaştırır. Lenfosit proliferasyonu ile nötrofil ve makrofajların fonksiyonlarını optimal olarak yerine getirmeleri açısından da esansiyel özellikte bir maddedir.^{68,69,76-79}

Plazma GLN düzeylerinin düşük olduğu durumlarda; T-Lenfositleri baskılanır, nötrofillerin bakterisidal fonksiyonları bozulur, makrofajların fagositik aktiviteleri ve interlökin (IL-1) yapımı azalır. GLN, ayrıca, böbrekler tarafından asit-baz dengesinin düzenlenmesinde kullanılmaktadır.⁸⁰⁻⁸²

2.7.3. Metotreksat

MTX, bir folik asit analogudur. Diyetle alınan folik asit, dihidrofolat redüktaz enzimi ile dihidrofolat ve tetrahidrofolata indirgenir. Bu indirgenmiş folatlar, homosisteinin metionine dönüşümünü, histidin metabolizması, pürin sentezi ve DNA sentezi için gerekli olan timidilat sentezinde rol alırlar. Bir antimetabolit olan MTX, dihidrofolat redüktaza geriye dönüşümlü bağlanarak onu inaktive eder. Netice olarak, timidilat ve inosinik asit sentezinin inhibisyonu yanısıra, glisinin serine, homosisteinin de metionine dönüşümü engellenir ve böylece protein sentezi bozulur. Bütün bu farmakolojik mekanizmaların sonucu olarak inflamatuvar hücrelerin fonksiyonlarında inhibisyon sağlanmış olur.⁸

MTX, folatların hücre içine aktif transportu ile rekabete girerek hücre içine folatın yerine kendi girer. Karaciğerde diğer folatlarda olduğu gibi poliglutamasyona uğrar. Poliglutamasyon sonrası MTX intrasellüler olarak uzun süre kalabilir. Hidrolitik

enzimlerle bu halinden tekrar eski haline yeniden dönebildiğinden haftalık tek doz şeklinde kullanım önerilmektedir.⁸

MTX'in gastrointestinal sistemden emilimi doza bağımlı olup gıdaların emilim üzerine etkileri hakkındaki bilgiler çelişkilidir. Serum pik seviyesine emilimden 1-2 saat sonra ulaşır. Genel kullanım dozu 7,5-25 mg/hafta olup bu dozun haftada bir gün tek seferde alınması önerilmektedir. Ancak bu dozun 2-3 eşit miktara bölünerek alınması klinik etkinlik açısından fark oluşturmadığı için hasta toleransına göre tercih edilmelidir. Beş-25 mg arasındaki dozları iyi emilir ve % 60 oranında biyoyararlanım gösterir. Doz artırıldığında intestinal flora tarafından metabolize edilerek atılımının sağlanması nedeniyle emilimi azalır. Yaklaşık % 50'si serum proteinlerine bağlanır ve diğer albümine bağlanan maddelerle rekabete girer. Başlıca atılımı % 80 oranında glomerüler filtrasyon ve tübüler sekresyonla böbreklerden ve az bir kısmı da safra yolları ile olur. Plazma yarılanma süresi 6-8 saat kadardır. Birçok ilaç MTX ile etkileşime girebilmekte ve emilimi, yapısı ve atılımı etkilenebilmektedir. Diğer antifolat ajanlardan olan trimetoprim-sulfametoksazol ile birlikte alımı aşırı folat yetersizliğine, salisilatlarla alımı kan serumundaki serbest ilaç oranını artıracığından toksik etkilerde artışa neden olabilmektedir. Ayrıca non-steroid antiinflamatuvar ilaçlarla alındığında böbreklerle atılımının etkilendiği yönünde çelişkili yayınlar vardır, ancak renal fonksiyonları iyi olanlarda rahatlıkla kombine edilebilmektedir. Yaşlı ve renal fonksiyonları iyi olmayan hastalarda dikkatli olmak gerekir.⁸³

2.8. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

Dış orbitallerinde çiftlenmemiş elektron içeren atom veya moleküllere radikal adı verilir ve "R" ile gösterilir. Atomun üzerindeki nokta paylaşılmamış elektronu gösterir. Kararsız bir yapı gösteren bu tanecikler bir an önce kararlı hale ulaşmak isterler. Bu bileşikler organizmada normal metabolik yolların işleyişi sırasında veya çeşitli dış etkenlerin etkisiyle oluşabilir. Çok kısa yaşam süreli, ancak yapılarındaki dengesizlik nedeniyle çok aktif yapıda olup tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliği göstermektedir.⁸⁴⁻⁸⁶

Orbitalinde bir ya da daha fazla çiftlenmemiş elektron taşıyan halojen atomlar (Cl ve Br), hidrojen atomu, Na, K gibi alkali metal atomları ve oksijenin redüksiyon ara

ürünleri süperoksit (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil (OH^\bullet), gibi bağımsız, kısa ömürlü, reaktif atomlar serbest radikal olarak tanımlanmaktadır.^{87,90}

Diğer taraftan bazı atom kombinasyonları ise bir orbitalinde tek elektron bulunduran dağılımları nedeniyle radikaldir. Örneğin önemli bir hava kirliliği etkeni olan nitrit dioksit (NO_2) endotel kaynaklı relaksan faktor olan nitrik oksit (NO) bu tip radikallerdir.⁹¹

Demir, bakır, mangan, molibden gibi geçiş metalleri dış yörüngelerinde birer elektron taşımalarına rağmen radikal karakter göstermezler.³⁰ Serbest radikal kabul edilen atom ve moleküller elektron konfigürasyonlarının yanısıra, termodinamik yapıları ve lokal kinetik reaktiviteleri ile değerlendirilirler.^{88,89}

Oksijen canlıların yaşamlarını sürdürebilmeleri için mutlak gerekli bir elementtir. Oksijen hücre içinde dört elektron gerektiren bir dizi reaksiyon sonunda indirgenir, bu sırada hücre kendisi için gerekli enerjiyi sağlar. Bu süreçte oksijenin az bir kısmı (% 1-3) tam olarak suya dönüşemez ve bu reaksiyonlarda ara ürün olarak serbest radikaller olan süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali (OH^\bullet) oluşur.^{92,93}

Serbest radikaller hücre ve dokularda birçok zarara yol açmaktadır

Bu zararlar şöyle sıralanabilir.

1. DNA'nın tahrip olması,
2. Nükleotid yapılı koenzimlerin yıkımı,
3. Tiollere bağımlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulması, hücre ortamının tiol/disülfid oranının değişmesi,
4. Protein ve lipidlerle kovalen bağlantılar yapması,
5. Enzim aktivitelerinde ve lipid metabolizmasındaki değişiklikler,
6. Mukopolisakkaritlerin yıkımı,
7. Proteinlerin tahrip olması ve proteinlerin "turn over"inin artması,
8. Lipid peroksidasyonu, zar yapısının bozulması,
9. Zar proteinlerinin tahribi, taşıma sistemlerinin bozulması,
10. Steroid ve yaş pigmenti denilen bazı maddelerin birikimi,
11. Kollajen ve elastin gibi uzun ömürlü proteinlerdeki oksido-redüksiyon olaylarının bozularak kapillerlerde aterofibrotik değişikliklerin oluşması.^{85,86,94}

Biyolojik ortamların, basamakları en iyi bilinen ve en çok çalışılan radikal reaksiyon zinciri lipid peroksidasyonudur. Radikaller organik ortamlardaki biyomoleküllerin tümünü etkileşeler de hedefleri başta membran lipidleri olmak üzere diğer lipidler, proteinler ve DNA'dır.^{88,95}

Serbest radikaller, zar yapısındaki çok doymamış yağ asidi zincirinin alfa metilen gruplarından bir hidrojen atomunu uzaklaştırarak lipid peroksidasyonunu başlatmaktadırlar. Biyolojik sistemlerde bu serbest radikalın süperoksit anyonu ve hidroksil radikali olduğu kabul edilmektedir. Bununla birlikte, lipid peroksidasyonunun uyarılmasında asıl etkili radikalın hidroksil radikali (OH[•]) olduğu benimsenmektedir. Bu radikal süperoksit radikalinden veya H₂O₂'den demirin katalitik etkisi altında oluşmaktadır. Bu dönüşümler Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları olarak bilinmektedir. Süperoksit, PH: 7,2'de daha stabil bir metabolit olan H₂O₂'ye dönüşür.^{85,92,96,97}

Süperoksit, Cu gibi geçiş metalleri ve radikal türleriyle kolay reaksiyona girer ve H₂O₂ ile "Haber-Weiss" tepkimesini vererek oldukça toksik hidroksil radikalini oluşturur. Metaller demir iyonları katalizörlüğünde "Fenton tepkimesi" gerçekleşir ve reaksiyon ortalama 4000 kez hızlanır.^{88,98,99}

Serbest radikal etkisi ile yağ asidi zincirinden hidrojen atomunun uzaklaşması, bu yağ asidi zincirinin radikal niteliği kazanmasına neden olmaktadır. Oluşan lipid radikali (L[•]) dayanıksız bir bileşik olup, bir dizi değişikliğe uğramaktadır. Öncelikle, molekül içi çift bağ aktarılması (rezonans) ile dien konjugatları oluşmaktadır. Daha sonra, lipid radikalının moleküler oksijen ile reaksiyona girmesi ile lipid peroksit radikali (LOO[•]) meydana gelmektedir. Bu lipid peroksit radikalleri de zar yapısındaki çok doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşmasını sağlamakta, kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipidhidroperoksitlere (LOOH) dönüşmektedir.^{85,92}

Otooksidasyon ürünlerinden lipid-hidroperoksitler süperoksit iyonu atakları veya lipoksijenaz aktivitesi ile 37 derecede birkaç mekanizma ile parçalanarak yeni radikaller üretmeye başlar. İkincil oksidasyon ürünleri olarak tanımlanan bu yapıların şekillenmesi geçiş metalleri iyonlarının katalizi ile olmaktadır. Bu nedenle demir, bakır gibi metaller tüm organik ortamlar için oldukça güçlü radikal hazırlayıcılarıdır.^{88,89,100}

Lipid peroksidasyonu, lipid-hidroperoksitlerin aldehit ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesi ile sonlanır.¹⁰¹

MDA, non-enzimatik oksidatif lipid peroksitlerinin parçalanması sonucu oluşan toksik etkili son ürünlerden birisidir. İki den fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin otooksidasyonunda veya eikozanoid sentezinde serbestleşen siklik endoperoksitler MDA'nın asıl kaynağını oluşturmaktadır. MDA miktarının ölçümü, lipid peroksit düzeylerinin saptanmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Bunun yanısıra, peroksidasyon sırasında oluşan dien konjugatlarının ölçümü de in vivo lipid peroksitlerinin düzeyini yansıtmaktadır.^{94,101-103}

Lipid peroksidasyonunun; hücre zarının lipid yapısındaki değişiklikler nedeni ile hücre zarı işlevinin bozulması, oluşan serbest radikallerin enzimler ve diğer hücre bileşenleri üzerine etkisi, son ürünler olan aldehitlerin sitotoksik etkileri gibi farklı yollarla hücre hasarına neden olduğu düşünülmektedir. Her üç olayın da eşit derecede etkili olduğu veya birlikte ya da birbirlerinin ardınca etkili oldukları ileri sürülmektedir. Bununla birlikte, aldehit yapıları bileşiklerin uzun yaşam süreli ve zarları geçebilme özelliğinde olması, lipid peroksidasyonunun hedef organlardaki etkilerinden bu bileşiklerin sorumlu olduğunu düşündürmektedir.^{104,105}

Hücre ve dokular, radikal ürünleri ve reaksiyonlarını inhibe eden güçlü bir savunma sistemine sahiptir. Radikallerle oldukça hızlı reaksiyonlara girerek otooksidasyon/peroksidasyonun ilerlemesini önleyen maddeler antioksidan olarak tanımlanır. Bir şekilde oluşturulan herhangi bir ilk radikal ürünün reaktif karakterine bağlı olarak biyomoleküler ve hücre yapılara saldırmasının önlenmesi antioksidan savunma sisteminin işidir.⁸⁹

Serbest radikallerin oluşum hızı ile etkisizleştirme hızı dengede olduğu sürece, organizma bu bileşiklerden etkilenmemektedir. Buna karşılık savunma azalır veya bu zararlı bileşiklerin oluşum hızı sistemin savunma gücünü aşarsa, bu denge bozulmakta ve serbest radikallere bağlı zararlı etkiler ortaya çıkabilmektedir.^{106,107}

Kronik enflamasyon gibi durumlarda organizmada prooksidan-antioksidan dengesi oksidanlar lehine bozulmaktadır.^{92,108}

Antioksidan savunma; radikal metabolit üretiminin önlenmesi, üretilmiş radikallerin temizlenmesi, oluşan hücre haraplanmasının onarılması, sekonder radikal üreten zincir reaksiyonlarının durdurulması ve endojen antioksidan kapasitenin

arttırılması olarak ayrımlanan beş değişik blokta yürür. Bazı otörler antioksidan savunmayı; komponentlerinin enzimsel olup olmamasına bakarak, katalaz, SOD ve GSH-Px'in rol aldığı antioksidan aktiviteleri "enzimatik antioksidan savunma"; tokoferol, askorbat, glutasyon, ürik asit, glukoz gibi maddelerle gerçekleştirilen deoksidasyon işlemlerini "nonenzimatik savunma" olarak tanımlar. Diğer yandan antioksidanlara daha spesifik rollerin yüklendiği çalışmalarda antioksidan savunmanın; selüler, membransal ve ekstraselüler olarak sınıflandırıldığı görülmektedir.^{89,100,109}

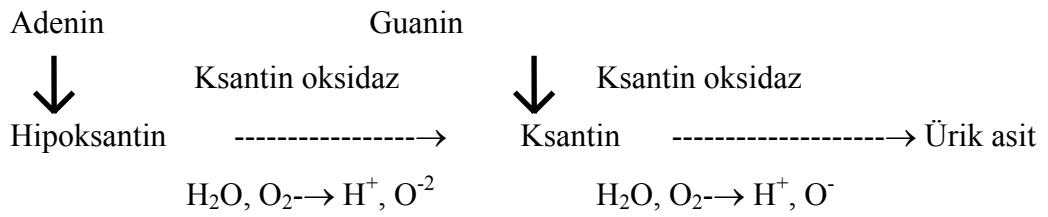
Reaktif oksijen metabolitleri, SOD, GSH-Px, katalaz ve sitokrom oksidaz gibi selüler antioksidan enzimlerce indirgenir. Normal mitokondriyal elektron taşıma zincirinde oluşan süperoksit anyonu, mitokondride bulunan sitokrom C oksidaz ve SOD tarafından temizlenir. SOD'nin enzimatik aktivitesi ile oluşan hidrojen peroksit, katalaz ve GSH-Px tarafından suya dönüştürülür. Okside olmuş glutasyon (GSSG) ise glutasyon redüktaz enzimi tarafından redükte glutatyona (GSH) çevrilir.^{94,107}

Membranların hidrofobik lipid yüzünde intraselüler ortamdan farklı olarak lipidlerde çözünen ve hücre sel enzimlerle yok edilemeyen radikaller üretilir. Başta alfa-tokoferol (Vitamin E) olmak üzere, B-karoten, ubiquinal bileşikleri ve koenzim Q temel membran antioksidanlarıdır.

Vücut sıvıları ve organik ürünler antioksidan enzimlerin hiçbirisini içermez. Bu nedenle glikozillenmiş serum proteinleri olarak tanımlanan SOD ve GSH-Px'in ekstraselüler ortam ve organik materyellerde antioksidan olarak bir önemi yoktur. Transferrin, laktoferrin haptoglobulinler, albumin, seruloplazmin, bilirübin, ürik asit, glukoz gibi proteinler temel ekstraselüler antioksidanlardır.^{110,111}

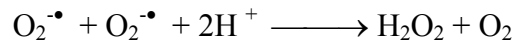
Hücreler arası ortamda üretilen serbest radikal metabolitlerin; demir ve bakır gibi katalizör metal iyonları ile karşılaşmalarının engellenmesi, ekstraselüler antioksidan savunmanın temel yoludur. Örneğin demir taşıyıcı protein transferrin bire üç demir bağlayarak plazma serbest demir ve bakır iyonlarının serbest radikal reaksiyonlarını katalizlemesini önler, böylece tepkime sayısı azaltılmış olur. Laktoferrin, hemoglobin, myoglobin, hemopeksin ve albumin hemen hemen aynı işlevselliktedir. Laktoferrinin nötrofillerde radikal oluşumunu önleyen bir ajan olduğu gösterilmiştir. Seruloplazmin bakırı bağlarken; glukoz, urat ve bilirübin ortamdaki radikalleri temizleme uğraşındadır. Bu proteinlerden bilirübinin antioksidan kapasitesi B-karotene benzer şekilde oksijen konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir.^{89,100,112,113}

Süperoksit radikallerinin canlılarda üretildiği uzun yıllardır bilinmesine rağmen bu radikallerin temizlenmesi ile herhangi bir enzimatik etkinlik 1968 yılına kadar bilinmiyordu. 1968 yılında Fridowich ve arkadaşları daha önce alyuvarlardan saflaştırılan fakat herhangi bir enzimatik aktivitesi bulunduğu saptanamayan, bakır içeren mavi bir proteinin (erythrocyuprein) ksantin oksidaz deney sistemine eklendiğinde sitokrom c'nin indirgenmesini inhibe ettiğini buldular. Ksantin oksidaz tepkimesinde süperoksit radikali oluştuğu ve bu radikalın sitokrom c'yi indirgediği daha öncede biliniyordu.



Böylece daha önce başta alyuvarlar olmak üzere çeşitli dokularda saflaştırılan, fonksiyonu bilinmeyen ve elde edildiği dokuya göre hemocuprein, cerbrocuprein, hemacuprein diye adlandırılan proteinlerin birer enzim oldukları ve süperoksit radikallerinin dismutasyonunu katalizledikleri gösterildi ve bu enzim süperoksit dismutaz olarak adlandırıldı.

SOD, oksijeni metabolize eden bütün hücrelerde bulunan ve süperoksitin hidrojen perokside dismutasyonunu katalizleyen bir metaloenzimdir.



Süperoksit radikalleri kendiliğinden dismutasyona uğrayabilir. Kendiliğinden dismutasyonun hız sabiti $2 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ sn}^{-1}$ dir. Buna göre süperoksit radikalleri sulu ortamda fazla birikmezler ve bu nedenle SOD ile katalizlenen dismutasyon önemsiz gibi görülebilir. Oysa iki faktör enzimatik katalizin önemini belirgin şekilde ortaya koyar.

1. SOD ile enzimatik dismutasyonun hız sabiti pH 7,4'de $2 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ sn}^{-1}$ dir. Bu da kendiliğinden dismutasyondan 10^4 kez daha hızlı bir dismutasyon avantajı sağlar.

2. Hücrelerde SOD konsantrasyonu, süperoksit radikallerinin sabit durum konsantrasyonundan yaklaşık 10^5 kat daha fazladır.

1970-1980 yılları arasındaki en yoğun araştırma konularından biri SOD, oksijen radikalleri ve radikallerin toksik etkileridir. Bugün aerobik canlıların her hücre ve organellerinin sürekli olarak süperoksit radikalleri ürettiği ve bu radikaller ile meydana gelen toksik etkilere karşı tek koruyucu enzimatik mekanizmanın SOD olduğu bilinmektedir.

Bütün canlılardaki SOD enzimi, kofaktör olarak içerdiği metal iyonuna göre üç grupta toplanabilir.

1. Bakır ve Çinko İçeren Dismutazlar: Ökaryotik hücrelerin sitoplazmasında bulunur, 32 kDa ağırlığındadır. Tek sülfid bağı ile birbirine bağlı iki ayrı alt birimden oluşur ve alt birim başına birer atom çinko ile bakır içerir. Enzimin etkinliği için bakır mutlaka gerekli iken çinko; kobalt, civa veya kadmiyum ile yer değiştirebilir. Dismutasyon bakır ile süperoksit radikali arasında gerçekleşir. Enzimde çinko ve bakır aynı histidin amino asitine bağlı olup ortamda siyanid varsa bu da çinkoya bağlanarak enzimi tersinir olarak inhibe eder (Siyanide duyarlı SOD). Bu enzim mitokondri matriksi dışında ökaryotik hücrelerin her organelinde bulunan dismutazdır.

2. Mangan İçeren Dismutazlar: Prokaryotik hücrelerde bulunur, ağırlığı 40kDa'dır, birbirinin aynı iki altbirimden oluşan ve enzimin alt birimi başına birer atom mangan içerir. Mitokondri dismutazı da diğer prokaryotik hücrelerdeki dismutaza benzer, ancak 80kDa ağırlığında tetramer yapıdadır. Mitokondri ve diğer prokaryotların dismutazlarının pek çok özelliği birbirine çok benzer. Mitokondri dismutazının bu özelliği, mitokondrinin prokaryotik orjinli olup, ökaryotik hücre içine girerek simbiyotik bir yaşam oluşturduğuna kanıt olarak kabul edilir. Aynı tepkimeyi katalizlemeleri dışında Mn- SOD ile Cu, Zn- SOD arasında hiçbir ortak yapısal özellik yoktur.

3. Demir İçeren Dismutazlar: Demir içeren dismutaz kofaktörü dışında Mn-SOD'ye benzer. Oksijen derişiminin artması ile Mn - SOD indüklenir. Bazı mikroorganizmalarda matriks enziminin (Mn-SOD) endojen süperoksit radikallerine karşı, demir içeren dismutazın ise çevreden gelen radikallere karşı koruyucu fonksiyon gördüğü kanıtlanmıştır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Deneysel Araştırma Merkezi laboratuvarında ağırlıkları 220 - 320 gr arasında değişen, ortalama yaşları 4 ay olan 71 adet erkek Wistar albino rat kullanılarak yapıldı (Tablo 1). Deney süresince ışık düzeni 12 saat gündüz, 12 saat gece olacak şekilde ayarlandı, ratlar tek tek kafeslere yerleştirildiler ve yaklaşık 21°C oda sıcaklığında barındırıldılar. Araştırma süresince dinlendirilmiş musluk suyu ve standart pelet yem, glutamin alan gruplar ise dinlendirilmiş musluk suyuna karıştırılmış glutamin 1g/kg olacak şekilde ve standart pelet yem ile beslendiler. Deneyden 24 saat öncesinden aç bırakılan ratlarda ancak suya serbest erişim sağlandı. Ratlarda anestezi, intramusküler Ketamine hidroklorid (Ketalar, Parke Davis ve Eczacıbaşı, İstanbul) 50 mg/kg dozunda + Xylazine hidroklorid (Rompun, Bayer HealthCare) 5 mg/kg enjekte edilerek sağlandı.

Deneysel kolit oluşturmak için 30 mg (80 mg/kg) TNBS (92823, picrylsulfonic acid solution 10 ml, purum, Switzerland) + % 30 etanol karışımı kullanıldı. Bu yöntemle göre, ratlara 8 French poliüretan kanül rektal yoldan 8 cm içeri itildi. Bu kanülden 80 mg/kg TNBS + 0,3 ml % 30 etanol yavaşça içeri verilerek kolit oluşturuldu. Kanülden kalan TNBS-E, 1 cc hava ile rektuma verildi. Daha sonra ratlar, verilen maddenin geri kaçmasını engellemek için 30 saniye süre ile kuyruktan kaldırılarak baş aşağı tutuldu sonrasında trandelenburg pozisyonunda anesteziden çıkana kadar bekletildi (yaklaşık 30 dakika) (Şekil 9).¹

3.1. Gruplar (Tablo 1)

Çalışma grupları şöyle oluşturuldu:

Grup I (Kontrol Grubu)(n=10): Normal ratlar, birinci ve ikinci günler serum fizyolojik ile lavman uygulandı. Birinci ve dördüncü günler arası intraperitoneal SF yapıldı.

Grup II (Etanol Grubu)(n=5): Etanolün, bağırsak mukozasına olası etkisini gözlemlemek amacıyla, 0,3 ml % 50 etanol supin pozisyonunda anal kanaldan, yaklaşık 8 cm proksimale ince beslenme kateteri aracılığıyla verildi. Ertesi gün 1 ml SF ile aynı

şekilde lavman yapıldı. Birinci ve dördüncü günler arası intraperitoneal SF yapıldı. Etanol verilmesinden 14 gün sonra sakrifiye edildi.

Grup III (Kolit Grubu)(n=15): 80 mg/kg TNBS ile 1 ml/kg % 30 etanol karıştırılarak, ince beslenme kateteri aracılığıyla anal kanaldan, yaklaşık 8 cm proksimale verildi. Ertesi gün 1 ml SF lavman ve işlem sonrası birinci ve dördüncü günler arası intraperitoneal SF yapıldı.

Grup IV (N-asetil Sistein)(NAC) (n=10): Kolit oluşturulmuş gruba, ertesı gün 1ml serum fizyolojik lavman ve 4 gün boyunca 300 mg/kg intraperitoneal NAC enjeksiyonu yapıldı.

Grup V (Metotreksat)(MTX) (n=10): Kolit oluşturulmuş gruba, ertesı gün 5 mg/kg MTX, serum fizyolojik ile karıştırılarak intrarektal verildi. Dört gün boyunca intraperitoneal serum fizyolojik enjeksiyonu yapıldı.

Grup VI (Glutamin–N-Asetil Sistein)(GLN-NAC)(n=10): Kolit oluşturulmadan iki hafta önce içme sularına 1 g/kg GLN karıştırıldı. Kolit oluşturulduktan sonra ertesı gün 1ml serum fizyolojik lavman ve 4 gün boyunca 300 mg/kg intraperitoneal NAC enjeksiyonu yapıldı. Sakrifikasyona kadar içme sularıyla beraber GLN almaya devam ettiler.

Grup VII (Glutamin-Metotreksat)(GLN-MTX)(n=10): Kolit oluşturulmadan iki hafta önce içme sularına 1 g/kg GLN karıştırıldı. Kolit oluşturulduktan sonra ertesı gün 5 mg/kg MTX, serum fizyolojik ile karıştırılarak intrarektal verildi. Dört gün boyunca intraperitoneal serum fizyolojik enjeksiyonu yapıldı. Sakrifikasyona kadar içme sularıyla beraber GLN almaya devam ettiler.

Tablo 1. Gruplar

	KOLİT	ETANOL	SF LAVMAN	MTX LAVMAN	İP NAC	İP SF	GLUTAMİN
KONTROL (n=10)	-	-	+	-	-	+	-
ETANOL (n=6)	-	+	-	-	-	+	-
KOLİT (n=15)	+	-	+	-	-	+	-
NAC (n=10)	+	-	+	-	+	-	-
MTX(n=10)	+	-	-	+	-	+	-
GLN-NAC (n=10)	+	-	+	-	+	-	+
GLN-MTX (n=10)	+	-	-	+	-	+	+

Deneysel kolit oluşturulmadan önce ratlar tartıldı, ağırlıkları kaydedildi. 80 mg/kg TNBS ile 1 ml/kg % 30'luk etanol karıştırılarak, ince bir beslenme kateteri aracılığıyla anal kanaldan 8 cm proksimale uygulandı. Geri kaçmayı önlemek amacıyla ratlar yaklaşık 30 saniye trendelenburg pozisyonunda tutuldular. Ertesi gün 1 ml SF ile lavman yapıldıktan sonra belirlenmiş günlerde 1cc SF intraperitoneal olarak uygulandı. TNBS-E uygulandıktan 14 gün sonra, yüksek doz anestezi verildikten sonra ratlar sakrifiye edildi. Median laparotomiyle sol kolon ve proksimal rektum çıkartıldı. Laparotomi bulguları kaydedildi. Bağırsak içeriği, nazikçe çıkartıldıktan sonra antimezenterik taraftan kolotomi yapıldı. Makroskopik olarak, çalışmanın içeriğinde haberi olmayan iki patolog tarafından değerlendirildi. SOD ve MDA seviyelerini ölçmek için hasarlanmış kolondan doku alınarak, Serum fizyolojik ile beraber ependorf tüplerine konuldu ve Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Ana Bilim Dalı Laboratuvarı'na götürülerek eksi 20°C'de saklandı. Kalan materyal, formol ile tespit edilerek, mikroskopik inceleme için Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı'na gönderildi.



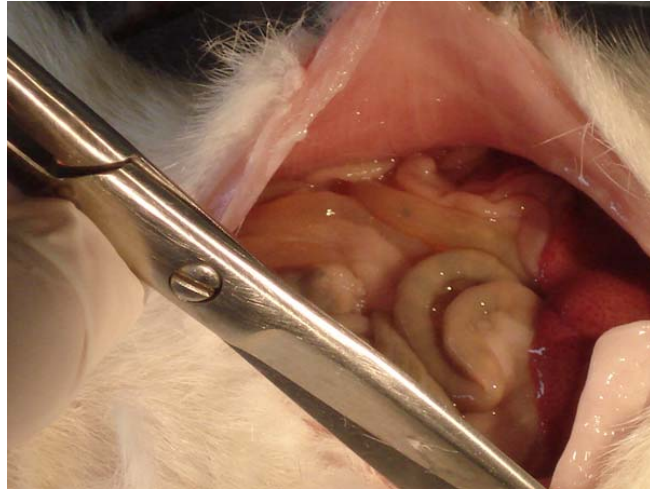
Şekil 8. Ağırlıkların Kaydedilmesi



Şekil 9. Rektal Yoldan TNBS-E Uygulanması



Şekil 10. İntraperitoneal NAC Enjeksiyonu



Şekil 11. Median Laparotomi

Histopatolojik inceleme Çukurova Üniversitesi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı' nda yapıldı. % 10 Formaldehid solusyonunda fikse edilen kolona ait

doku örnekleri 0,5 cm'lik parçalara bölünerek histopatolojik inceleme için standart laboratuvar takiplerinden sonra parafine gömülerek 5 mikron kalınlığında kesitler hazırlandı ve hemotoksilen-eozin ile boyandı. Olympus CX41 ışık mikroskobu ile değerlendirildi. Dokuların histopatolojik incelemesi, örneklerin hangi gruba ait olduğunu bilmeyen iki patolog tarafından yapıldı.

3.2. Kolonun Makroskopik Değerlendirmesi

Kolon alındıktan sonra longitudinal açıldı ve serum fizyolojik ile temizlendi. Kolon makroskopik skorlamasında Wallace' nin skorlama sistemi kullanıldı.

Tablo 2. Makroskopik Hasar Skalası¹

Skor	Kriter
0	Hasar yok
1	Fokal hiperemi var, ülser yok
2	Hiperemi veya kolon duvarında kalınlaşma olmaksızın lineer ülserasyon
3	Bir bölgede inflamasyon ile birlikte lineer ülserasyon
4	İki ya da daha fazla bölgede ülserasyon ve inflamasyon bölgesi
5	İki ya da daha fazla majör ülserasyon ve inflamasyon, bir ya da daha fazla yerdeki hasarın 1 cm'den daha uzun kolon segmentini tutması
6 - 10	Ülser ve inflamasyon bölgesinin 2 cm'den daha uzun kolon segmentini tutması (her 1 cm'lik hasar için skor 1 birim arttırıldı)

3.3. Kolonun Histopatolojik Değerlendirilmesi

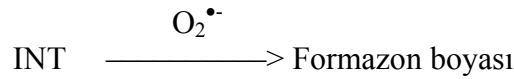
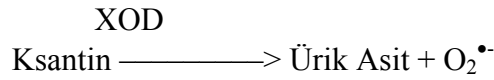
Kolon dokuları rutin teknikle hazırlandıktan sonra histopatolojik olarak değerlendirildi. Kesitler çok sayıda alınarak doku hasarının uzanımı, kolit varlığı ve kolit aktivitesinin değerlendirilmesi sağlandı.

Tablo 3. Histopatolojik Hasar Skalası¹

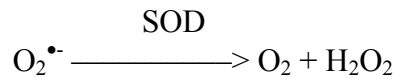
Skor/Kriter	0	1	2
AKUT İNFLAMATUAR HÜCRELERİN İNFİLTRASYONU	YOK	HAFİF	CİDDİ
KRONİK İNFLAMATUAR HÜCRELERİN İNFİLTRASYONU	YOK	HAFİF	CİDDİ
FİBRİN DEPOZİSYONU	NEGATİF	POZİTİF	
SUBMUKOZAL ÖDEM	YOK	FOKAL	DİFFÜZ
EPİTEL NEKROZU	YOK	FOKAL	DİFFÜZ
MUKOZAL ÜLSER	NEGATİF	POZİTİF	

3.4. Süperoksit Dismutaz (SOD) Ölçüm Yöntemi¹¹⁴⁻¹¹⁶

Prensip: Süperoksit dismutaz enzimi, oksidatif enerji üretimi sırasında oluşan endojen veya eksojen kaynaklı toksik süperoksit radikallerinin ($O_2^{\bullet-}$), su (H_2O) ve moleküler oksijene (O_2) dismutasyonunu hızlandırmaktadır. Ksantin ve ksantin oksidaz (XOD) kullanılarak oluşturulan süperoksit radikalleri 2-[4-iyodofenil] - 3 -[4-nitrofenol] - 5 - feniltetrazolium klorid (INT) ile kırmızı renkli bir kompleks oluşturur. Eğer ortamda SOD enzimi varsa süperoksit radikallerini ortamdaki uzaklaştırdığı için formazon oluşumu inhibe olur. SOD enzim aktivitesinin ölçümü 505 nm de formazon oluşumunun % inhibisyonu ile ölçülür.



veya,



Ayır lar:

1. CAPS (3 - (sikloheksilamino) - 1 - propan sülfonik asit) tamponu
CAPS 1.10 g
EDTA 0.027 g
Saf su ile 100 ml'ye tamamlanır
CAPS tamponu 2 - 8 C'de saklanmalıdır. pH, NaOH ile 10,2' ye ayarlanır.
2. Stok substrat karışımı
Ksantin 0.0015 g
INT 0.0025 g
CAPS tamponu 10 ml
Bu  zelti 2 - 8 C'da 10 gün dayanıklıdır.
3. Günlük substrat karışımı
Stok substrat karışımından CAPS tamponuyla 1: 20 oranında dil e edilir.
4. Ksantin Oksidaz (80  /L)
5. 0.01 M Fosfat Tamponu (pH: 7.0)
Na₂PO₄ 0.0549 g
NaH₂PO₄ 0.0956 g
Saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.
6. Standart (S6): 3.77  /ml SOD

Standart Eğrinin  izimi

Liyofilize olarak hazırlanmış SOD standardı (S6), 10 ml bidistile su ile sulandırılıp 2-8 C'de saklanır. Standart eğri çiziminde kullanılacak olan diğer SOD derişimleri fosfat tamponuyla aşağıdaki çizelgede verildiği şekilde hazırlanır.

Tablo 4. SOD İçin Standart Eğrinin Çizimi

No	Kullanılacak standart	0.01 Mfosfat Tamponu	SOD Konsantrasyonu (Ü/ml)
S6(Stok)	250µl	----	3.77
S 5	S6 250µl	250µl	1.885
S 4	S5 250µl	250 µl	0.943
S 3	S4 250µl	250µl	0.471
S 2	S3 150 µl	300µl	0.141
S 1(Kör)	----	500µl	----

Örnek Çalışması:

Yöntem:

a) Homojenat Hazırlanması: Doku örnekleri üzerine 0,01mM 1ml pH 7,0 fosfat tamponu eklenir. Örnekler buz dolu bir kap içerisine konup homojenizatörde homojenize edilir. +4°C’ de 1000 rpm’de 5dk santrifüj edildikten sonra üst fazda SOD aktivitesi, MDA ve protein düzeyi ölçülür.

Ayıracılar, tüplere aşağıdaki çizelgede gösterildiği gibi konulur.

Tablo 5. SOD İçin Homojenatın Hazırlanması

Çözeltiler	Kör	Standart	Örnek
Örnek (µl)	---	----	25
Standart (µl)	---	25	---
Fosfat tamponu (µl)	25	---	---
Substrat Karışımı (µl)	850	850	850
İyice karıştırılır			
Ksantin Oksidaz (µl)	125	125	125

Tekrar karıştırıldıktan 30 saniye sonra 37°C’de, 505 nm dalga boyunda havaya karşı başlangıç absorbans (A_1) okunur. 3 dakika sonra absorbans (A_2) tekrar okunur.

Hesaplama:

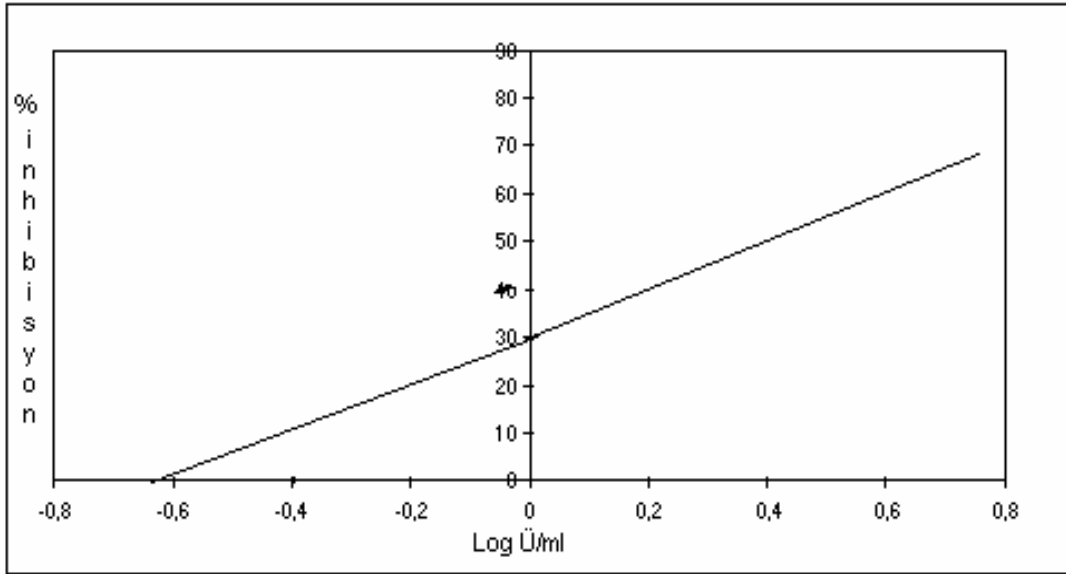
Çalışma körü SOD içermediği için inhibisyona uğramamış reaksiyon olarak kabul edilir ve değeri %100 olarak alınır. Tüm standartlar için % inhibisyon değeri bunlara ait değerlerin çalışma körüyle oranlanarak 100’den çıkarılması sonucu hesaplanır.

$$\Delta A/\text{dak}_{\text{standart}} = \frac{A_2 - A_1}{3 \text{ dak}}$$

$$\% \text{ İnhibisyon}_{\text{Standart}} = 100 - \frac{\Delta A/\text{dak}_{\text{standart}} \times 100}{\Delta A/\text{dak}_{\text{çalışma körü}}}$$

$$\text{SOD aktivitesi (Ü/g Hb)} = \frac{\text{SOD aktivitesi (Ü/ml)}}{\text{Hemolizat Hb (g/ml)}}$$

Hesaplama yapıldıktan sonra X eksenine SOD derişimlerinin (Ü/ml) logaritmik dönüşüm değerleri, Y eksenine standartlara ait % inhibisyon değerleri yazılarak standart eğri çizilir (Şekil 12).



Şekil 12. Süperoksit Dismutaz Standart Eğrisi.

Lowry Yöntemi İle Protein Tayini

Prensip: Proteinlerin içerdiği tirozin ve triptofan rezidülerinin fosfotungstik-fosfomolibdik asit ile verdiği reaksiyon esasına dayanır. Oluşan renk spektrofotometrede 750nm'de okunur.

Ayıracılar:

A) % 2 Na₂CO₃

2g Na₂CO₃ 0,1N 100 ml NaOH içinde çözülür.

B) % 0,5CuSO₄.5H₂O

CuSO₄.5H₂O 0.781g

% 1'lik sodyum sitrat içinde çözülür. 100ml'ye tamamlanır.

C) 50ml A+ 1ml B karıştırılır.

D) Folin Ciocalteu

1: 1 oranında sulandırılır.

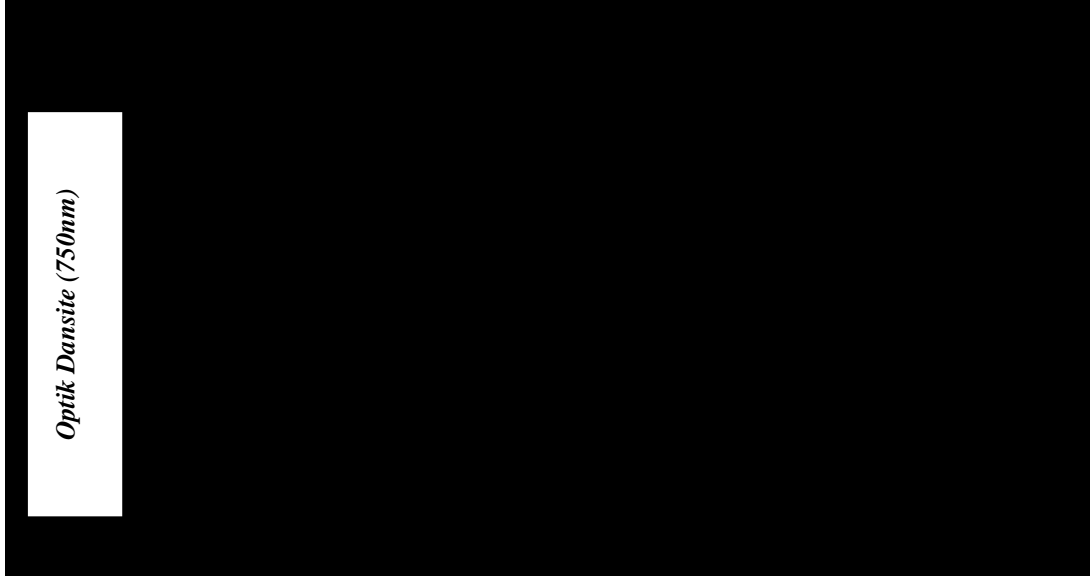
Standart Eğri Çizimi

10 g/ dl bovine serum albuminden 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6ml konup saf su ile 10ml'ye tamamlanır. Aşağıdaki pipetleme yapılır.

Tablo 6. SOD İçin Protein Standart Eğrisinin Çizimi

Tüp No	1	2	3	4	5	6	7
Konsantrasyon(µg/ml)	0	100	200	300	400	500	600
Serum fizyolojik(µl)	200	---	---	---	---	---	--
Protein çözültüsü(µl)	---	200	200	200	200	200	200
C ayıracı(µl)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000

Oda ısısında 10dk bekletilerek her tüpe 100µl Folin Ciocalteu eklenir. 30dk oda ısısında bekletildikten sonra 750nm'de okunur (Şekil 13).



Şekil 13. Protein Standart Eğrisi

Yöntem:

Aşağıdaki şekilde pipetleme yapılır.

Tablo 7. SOD İçin Pipetleme İşlemi

	Kör	Örnek
Serum fizyolojik (µl)	200	---
Homojenat (µl)	---	200
C ayıracı (µl)	1000	1000

Oda ısısında 10dk bekletilerek her bir tüpe 100µl Folin Ciocalteu eklenir. 30dk oda ısısında bekletildikten sonra 750nm'deki absorbans okunur.¹¹⁴⁻¹¹⁶

3.5. Oksidatif Hasarın Ölçümü

Malondialdehit (MDA) Ölçümü¹¹⁷

Malondialdehit lipit peroksidasyonunun sekonder bir ürünü olup, lipitlere ait peroksidasyonun belirlenmesinde kullanılan önemli bir parametredir. MDA, aerobik şartlarda, pH 3,4'te tiyobarbitürik asit (TBA) ile 95°C'de inkübasyonu sonucu pembe renkli bir kompleks oluşturur, bu kompleks spektrofotometrede 532nm'de ölçülür.

Ayıracılar

1. % 8,1'lik Sodyum Dodesül Sülfat (SDS)

2. % 20'lik Asetik Asit (CH₃COOH)

Doymuş NaOH ile pH: 3,5'e ayarlanır.

3. % 0,8'lik Tiyobarbitürik asit (TBA)

Doymuş NaOH ile pH: 3,5' e ayarlanır

4. n-Butanol/Piridin (nBu/Pri) Ayıracı (15/1)

n-Butanol 14 mL

Piridin 1 mL

Günlük olarak hazırlanır.

5. Stok Standart

1,1, 3,3 tetramethoksiopropan (yoğunluk = 0,99 g/mL).

Standart Eğri Çizimi

Stok standarttan 6.6 µL alınıp 100 mL'ye saf su ile tamamlanarak günlük standart hazırlanır. 10, 20, 40, 60, 80 ve 100 nmol/mL konsantrasyonunda çalışma standartları hazırlanır (Tablo 8).

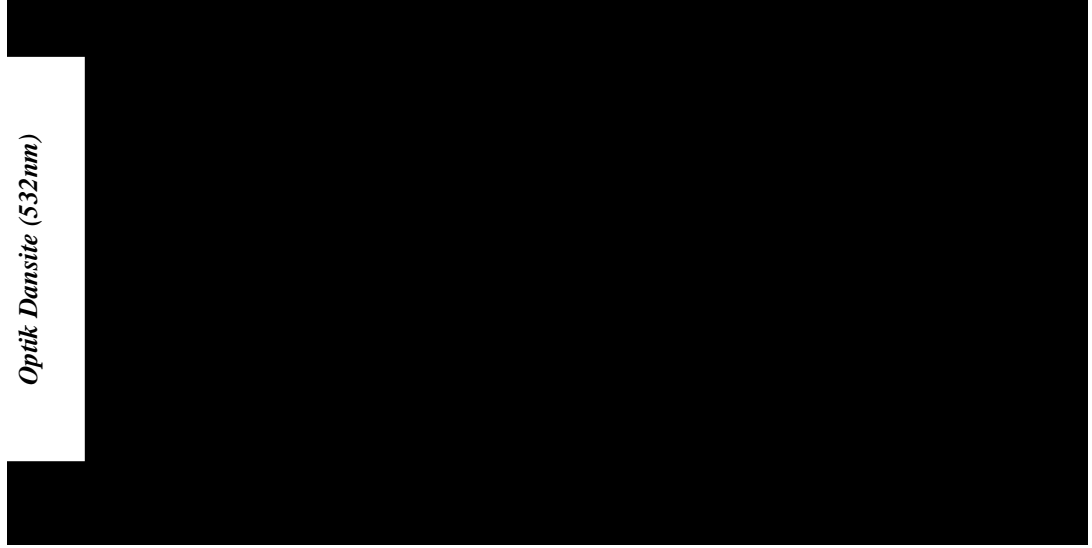
Tablo 8. MDA Standart Eğrisi

Ayıracılar	0	1	2	3	4	5	6
Konsantrasyon (nmol/ mL)	0	10	20	40	60	80	100
Standart (mL)	-	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
%8.1 SDS (mL)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
%20 HAc (mL)	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
%0.8 TBA (mL)	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Saf Su (mL)	0,8	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7

95°C'de 30 dakika inkübe edildikten sonra soğutularak üzerine n-butanol/ piridin ilave edilip vortekslenir.

Saf su (mL)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
nBu/Pri (mL)	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0

4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir üstteki organik kısım alınıp 532 nm'de absorbans okunur. Standart eğri grafiği çizilir (Şekil 14.).



Şekil 14. Malondialdehit Standart Eğrisi

Yöntem

Örnek çalışması için ayıraçlar aşağıdaki tabloda belirtildiği şekilde hazırlanır (Tablo 9).

Tablo 9. MDA Ölçümü

Ayıraçlar	Kör (mL)	Standart (mL)	Örnek (mL)
Std (10 nmol/ μ L)	-	0,1	-
Plazma (mL)	-	-	0,1
%8.1 SDS (mL)	0,2	0,2	0,2
%20 Asetik asit (mL)	1,5	1,5	1,5
%0.8 TBA (mL)	1,5	1,5	1,5
Saf su (mL)	0,8	0,7	0,7

95°C'de 30 dakika inkübe edilip, soğutulur.

Saf su (mL)	1,0	1,0	1,0
nBu/Pri (mL)	5,0	5,0	5,0

Ayır a lar vortekslenir. Daha sonra 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilip üstteki organik kısımlar alınarak 532 nm'de absorpsiyon okunur.

Hesaplama

Optik dansite standart eğriden karşılaştırılarak MDA düzeyi nmol/mL olarak hesaplanır.

3.6. İstatistiksel Analiz

Verilerin normal dağılıma uygunluğu test edilmiş, normal dağılım gösteren sürekli değişkenlerin analizinde bağımsız gruplarda t testi ve tek yönlü varyans analizi, normal dağılım göstermeyen sürekli değişkenlerin analizinde ise Mann whitney U veya Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma (min - max) olarak ifade edilmiştir. Çoklu olmayan karşılaştırmalarda post hoc Tamhane testi uygulanmıştır ve $p < 0,05$ olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Çoklu karşılaştırmalarda Benforini testi uygulanmıştır ve $p < 0,017$ olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

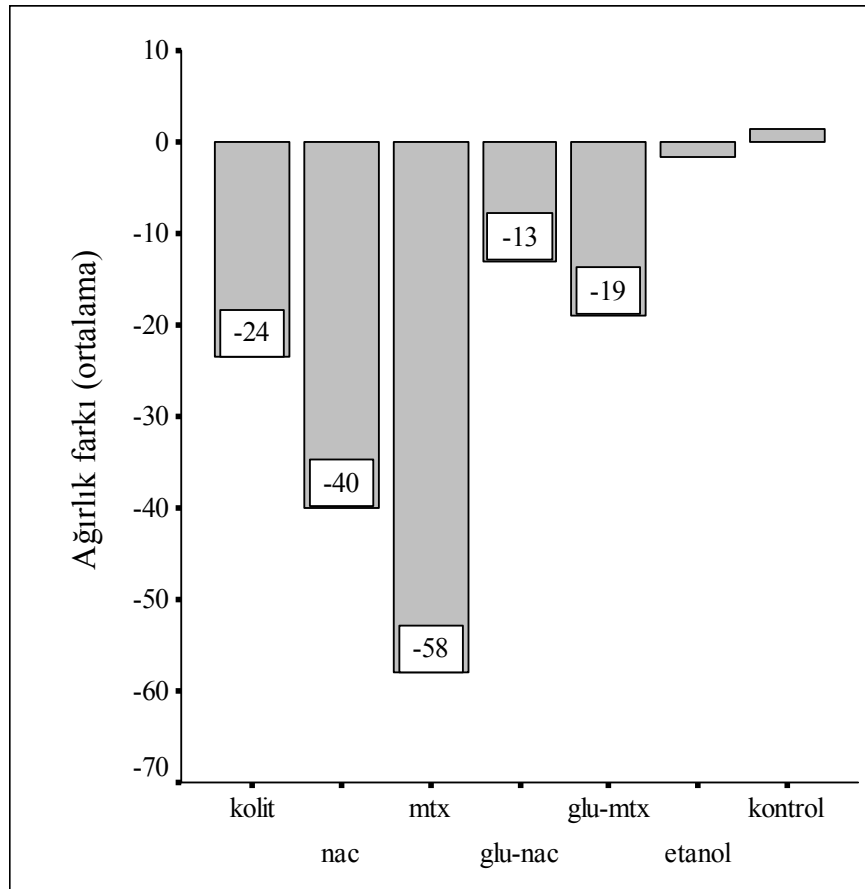
4. BULGULAR

4.1. Ağırlıkların Değerlendirilmesi

Kolit oluşumun değerlendirmede, kilo kaybı bir kriter olarak kullanıldı. Deneklerde, TNBS-E uygulamasını takiben, sulu diyare gözlemlendi. İşlem öncesi ve sakrifikasyon öncesi ağırlıkları tartıldığında, kontrol ve etanol grubunda ağırlık değişiklikleri gözlemlenmezken, TNBS-E uygulanan ratlarda kilo kaybı gözlemlendi

Ağırlıklar değerlendirildiğinde, kontrol grubu ile etanol grubunda benzer şekilde kilo değişiklikleri saptanırken, TNBS-E verilen tüm gruplarda kontrol grubuna göre daha fazla kilo kaybı gözlemlendi. En fazla kilo kaybı MTX grubunda gözlemlendi. ($p < 0,0001$) İçme suları ile glutamin verilen GLN-NAC ve GLN- MTX gruplarında, ağırlık kaybı NAC ve MTX gruplarına kıyasla daha az olmakla beraber, kontrol grubu arasında fark saptanmadı ($p = 0,043$, $p = 0,105$) (Şekil 4, Tablo 10).

Şekil 15. Ağırlıkların Değişiminin Gruplara göre Dağılımı



Tablo 10. Fark dağılımında grupların birbirleri ile karşılaştırılması (p<0,05)

GRUP	Kolit	NAC	MTX	GLN-NAC	GLN-MTX	Etanol
NAC	0,068					
MTX	0,001	0,027				
GLN-NAC	0,145	0,011	0,001			
GLN-MTX	0,314	0,074	0,025	0,796		
Etanol	0,007	0,001	<0,0001	0,263	0,313	
Kontrol	0,001	<0,0001	<0,0001	0,043	0,105	0,368

4.2. Kolonun Makroskopik ve Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları

Kolon; mukozasındaki hiperemi, ülserasyon, inflamasyon değerlendirilerek, kolon makroskopik olarak skorlanarak değerlendirildi¹. Kontrol grubu ile etanol grubu kıyaslandığında aralarında fark yoktu.(p=0,635) TNBS - E verilen diğer gruplarda makroskopik hasar indeksi kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak yüksekti. NAC verilen grupta, makroskopik olarak daha düşük hasar skoru ölçmemize karşın, bu fark kolit grubu ile karşılaştırdığında istatistiksel olarak anlamlı değildi.(p=0,234) Aynı şekilde, MTX verilen grupta da, kolit grubuna kıyasla makroskopik olarak anlamlı fark saptanmadı.(p=0,163).glutamin eklenen tedavi gruplarına bakıldığında; GLN-NAC ve GLN-MTX gruplarının makroskopik hasar skorları, kolit grubuna kıyasla istatistiksel olarak daha düşük hesaplandı. (p<0,05 ve p<0,05) (Tablo 10 ve 11).

Kolonun histopatolojik incelemesinde; akut ve kronik inflamatuvar hücre infiltrasyonu, fibrin depozisyonu, submukozal ödem, epitelyum nekrozu, mukozal ülserin varlığına göre değerlendirildi¹. Mikroskopik incelemede de, makroskopik değerlendirmeye benzer şekilde değişiklikler saptandı. Kontrol ve etanol grupları arasında fark yokken (p=0,635), TNBS - E verilen gruplarda, histopatolojik olarak hasar saptandı. Kolit grubu ile NAC ve MTX grupları kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (p=0,004 ve p=0,002), GLN-NAC ve GLN-MTX grupları, kolit grubu ile kıyaslandığında, daha düşük histopatolojik hasar skorları ölçüldü.(p<0,05 ve p<0,05) Tedavi verilen gruplar birbirleriyle kıyaslandığında ise, GLN verilen gruplarda daha iyi histopatolojik ve makroskopik skorlar ölçüldü (Tablo 11 ve 13).

Tablo 11. Makroskopik ve Histopatolojik Hasar Skorlarının Değerlendirilmesi

GRUP	MAKROSKOPİK Medyan (min-max)	MİKROSKOPİK Medyan (min-max)
Kontrol	0 (0-0)	0 0-0
Etanol	0 0-1	0 0-1
Kolit	5 2-9	6 0-8
NAC	3,5 1-6	2 1-7
MTX	4,5 2-7	4 1-5
GLN-NAC	1 0-3	1 0-1
GLN-MTX	1 1-4	0 0-4
P değeri	0,0001	0,0001

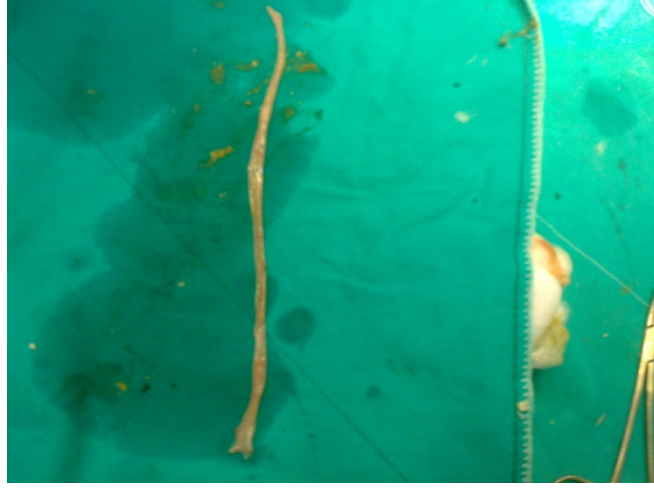
Tablo 12. Grupların Makroskopik Hasar Skorlarının Birbirleri İle Karşılaştırılması (Mann Whitney U P Değeri) (p<0,05)

GRUP	Kontrol	Etanol	Kolit	NAC	MTX	GLN-NAC
Etanol	0,635					
Kolit	0,001	0,001				
NAC	0,001	0,001	0,023			
MTX	0,001	0,001	0,163	0,234		
GLN-NAC	0,001	0,005	0,001	0,001	0,001	
GLN-MTX	0,001	0,777	0,001	0,004	0,001	0,304

Tablo 13. Grupların histopatolojik hasar skorlarının birbirleri ile karşılaştırılması (Mann Whitney U p değeri) (p<0,05)

GRUP	Kontrol	Etanol	Kolit	NAC	MTX	GLN-NAC
Etanol	0,635					
Kolit	0,001	0,001				
NAC	0,001	0,001	0,004			
MTX	0,001	0,001	0,002	0,311		
GLN-NAC	0,001	0,046	0,001	0,001	0,001	
GLN-MTX	0,001	0,002	0,001	0,001	0,001	0,02

Sakrifikasyon Sonrası, Grupların Makroskopik Görünümleri



Şekil 16. Kontrol Grubu Makroskopik Görünüm



Şekil 17. Etanol Grubu Makroskopik Görünüm



Şekil 18. Kolit Grubu Makroskopik Görünüm



Şekil 19. Kolit Grubunda Adezyon



Şekil 20. Kolit Grubunda Antimezenterik Kenar Açıldıktan Sonra Makroskopik Görünüm



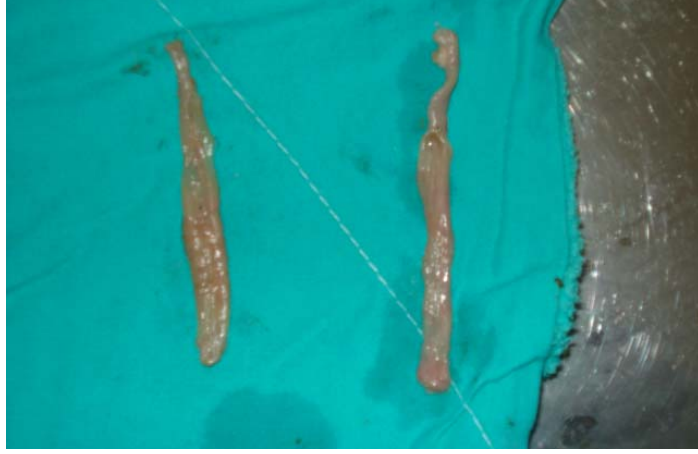
Şekil 21. Kolit Grubu Makroskopik Görünüm: Ülserasyon



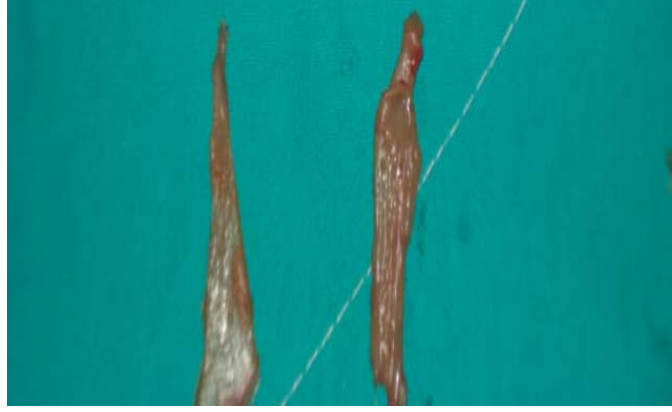
Şekil 22. Kolit Grubu Makroskopik Görünüm: Nekroz



Şekil 23. NAC Grubu Makroskopik Görünüm

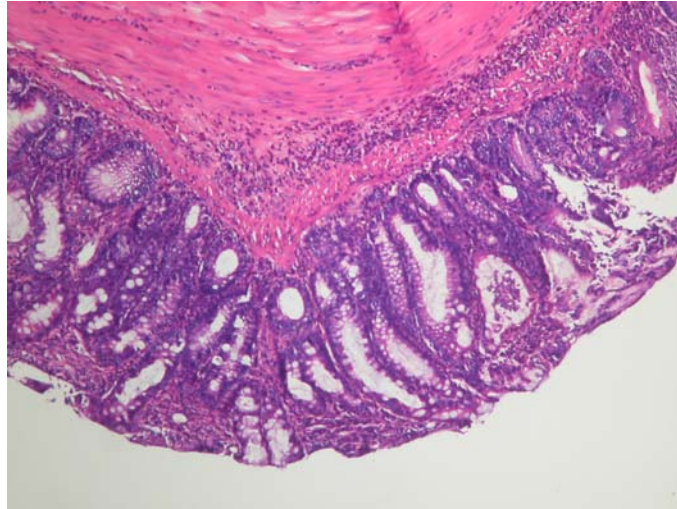


Şekil 24. GLN - NAC Grubu Makroskopik Görünüm

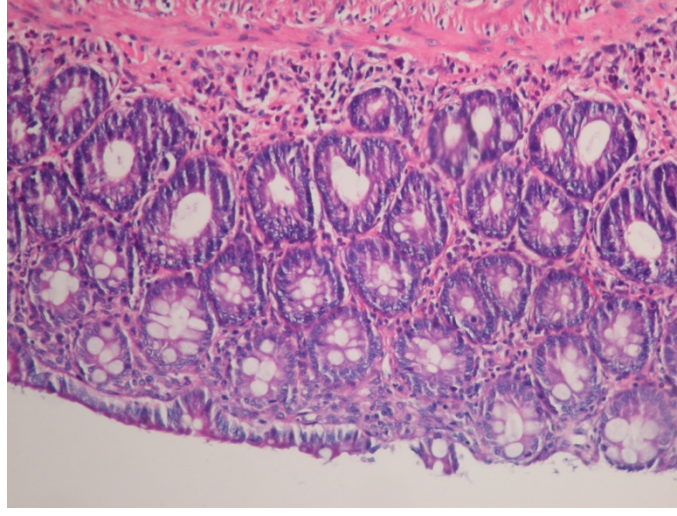


Şekil 25. GLN - MTX Grubu Makroskopik Görünüm

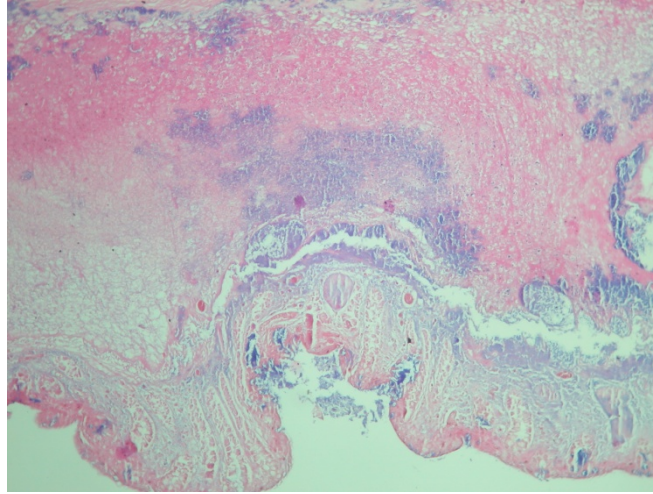
Grupların, Mikroskopik Olarak Histopatolojik Görünümleri



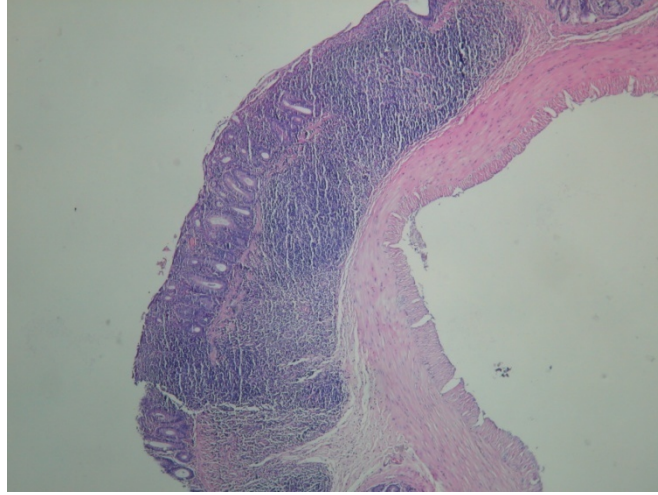
Şekil 26. Kontrol Grubunda Histopatolojik Görünüm. Mikroskopik incelemede, normal kolon mukozası, (HEx100)



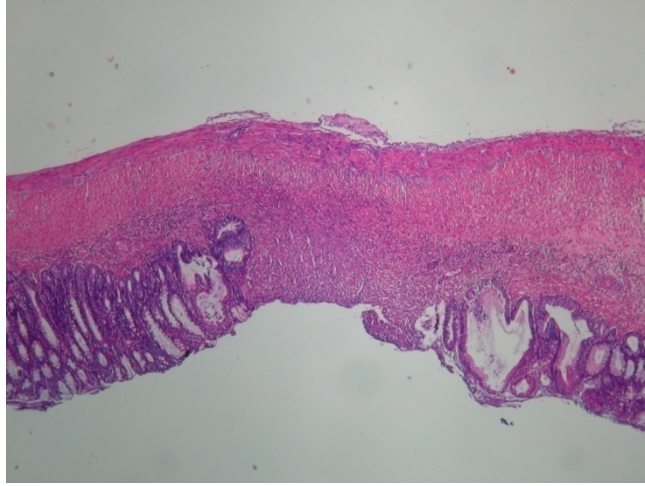
Şekil 27. Etanol Grubunda Histopatolojik Görünüm . Etanol grubunun mikroskopik incelemesinde normal kolon mukozası, (HEx100)



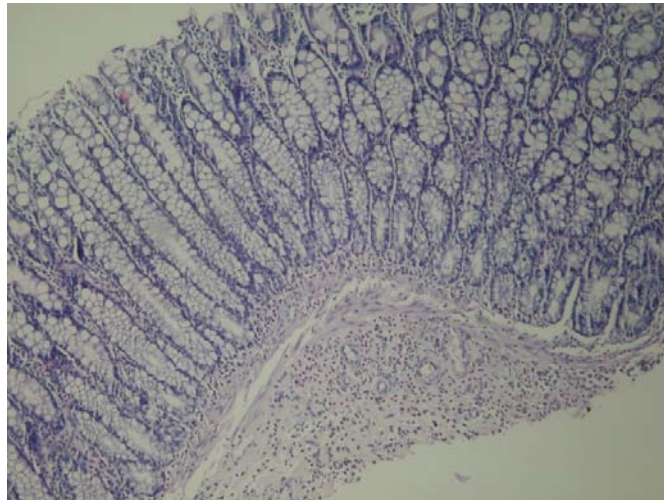
Şekil 28. Kolit grubu histopatolojik incelemesi. Kolonun tüm katlarında nekroz görülmektedir, (HEx40)



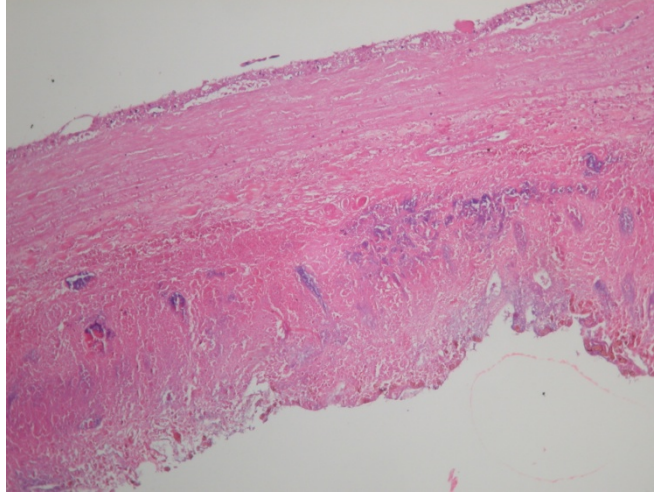
Şekil 29. Kolit grubu histopatolojik incelemesi. Kolonda kronik iltihap hücreleri görülmektedir, (HEx40)



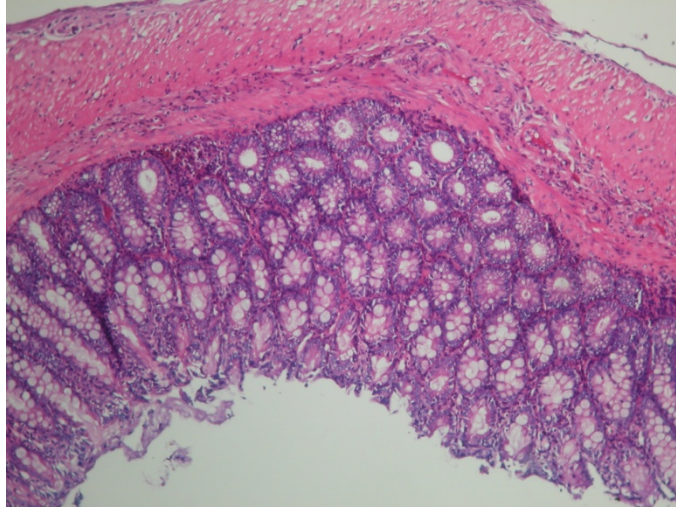
Şekil 30. Kolit grubu histopatolojik incelemesi. Kolonda bir bölgede ülserasyon görülmektedir, (HEx40)



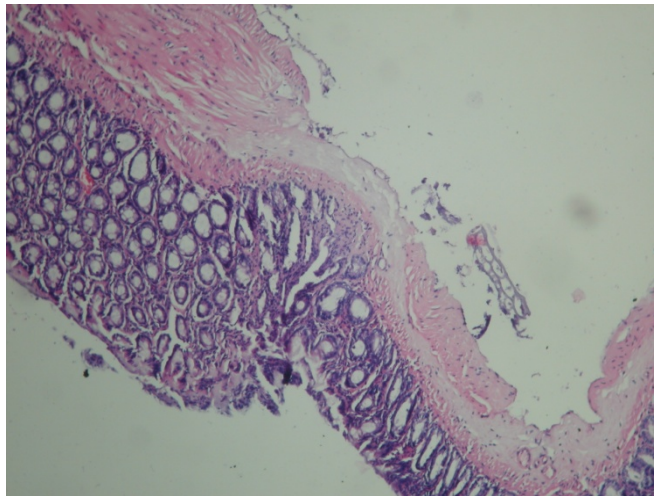
Şekil 31. NAC Grubu Histopatolojik Görünümü. NAC grubunda, tedavi sonrası, hafif derecede kronik inflamasyon görüntüsü, bu preperatta nekroz, ülser görülmemektedir. (HEx40)



Şekil 32. MTX Grubu Histopatolojik Görünüm. Bu preperatta nekroz halinin devam ettiği görülmektedir. (HE x 40)



Şekil 33. GLN-NAC Grubunda Histopatolojik Görünüm. Hafif derecede kronik inflamasyon ve ödem hali. (HE x100)



Şekil 34. GLN-MTX Grubunda Histopatolojik Görünüm. Minimal iskemik değişiklikler ve kronik inflamasyon hali devam etmektedir. (HEx40).

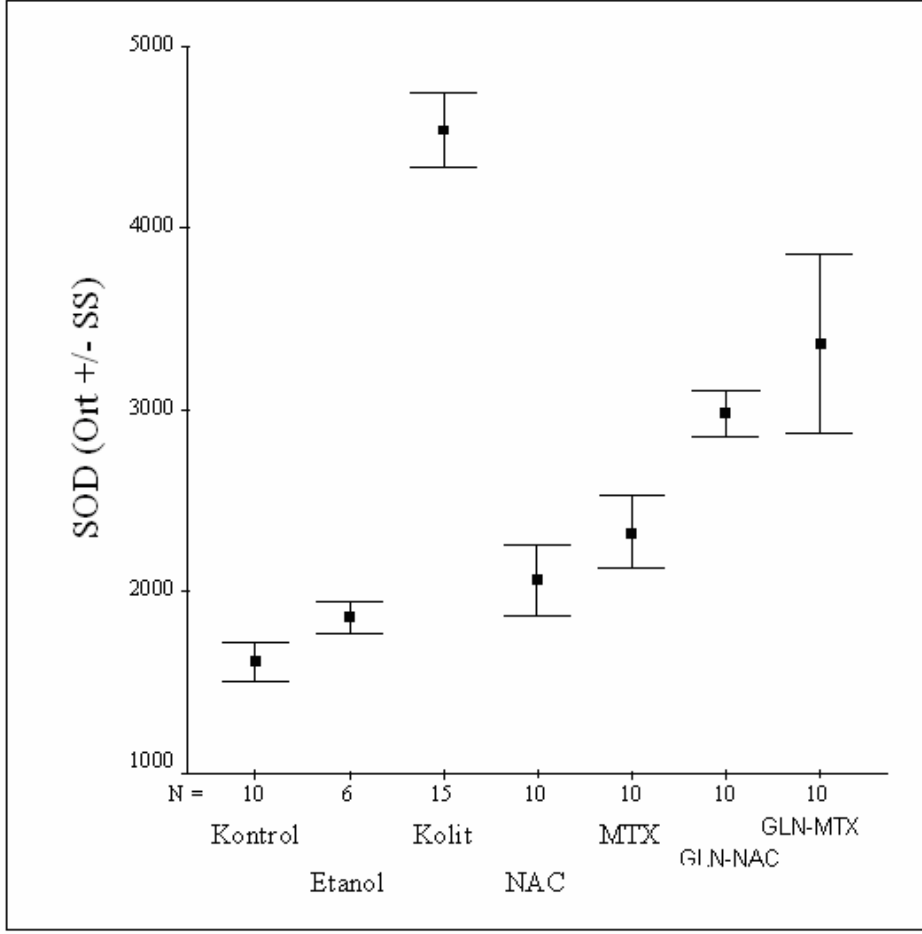
4.3. Biyokimyasal Ölçümlerin Değerlendirilmesi

4.3.1. SOD Ölçümlerinin Değerlendirilmesi

SOD ölçümleri değerlendirildiğinde; kontrol grubu ile etanol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı.($p=0,007$) TNBS - E verilen gruplar ile kontrol grubu kıyaslandığında kontrol grubunda istatistiksel olarak daha düşük SOD düzeyleri ölçüldü. Etanol grubu ile TNBS-E verilen gruplardan sadece NAC verilen grup ile arasında istatistiksel fark yoktu, diğer gruplarda daha yüksek SOD seviyeleri bulundu. Tedavi verilen tüm gruplarda, kolit grubuna kıyasla daha düşük SOD seviyeleri ölçüldü. NAC grubu ile MTX grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yokken, NAC ve MTX gruplarında, morfolojik bulgulara zıt olarak, GLN-NAC ve GLN-MTX gruplarına kıyasla daha düşük SOD seviyeleri ölçüldü. GLN verilen gruplar, arasında ise anlamlı fark saptanmadı (Tablo 14 ve 15, Şekil 35).

Tablo 14. SOD Ölçüm Sonuçları ($p<0,017$)

GRUP	Mean	Std. Sapma	Minimum	Maximum
Kontrol	1610,5	108,3	1398,0	1723,0
Etanol	1857,0	89,6	1733,0	1992,0
Kolit	4535,9	204,1	4245,0	4947,0
NAC	2061,5	195,0	1887,0	2383,0
MTX	2323,7	198,0	2016,0	2638,0
GLN-NAC	2980,4	130,2	2817,0	3148,0
GLN-MTX	3361,7	491,8	2512,0	4125,0
P value	0,0001			



Şekil 35. Gruplara Göre SOD Değerlerinin Dağılımı

Tablo 15. SOD Dağılımında Grupların Birbirleri İle Karşılaştırılması (p<0,017)

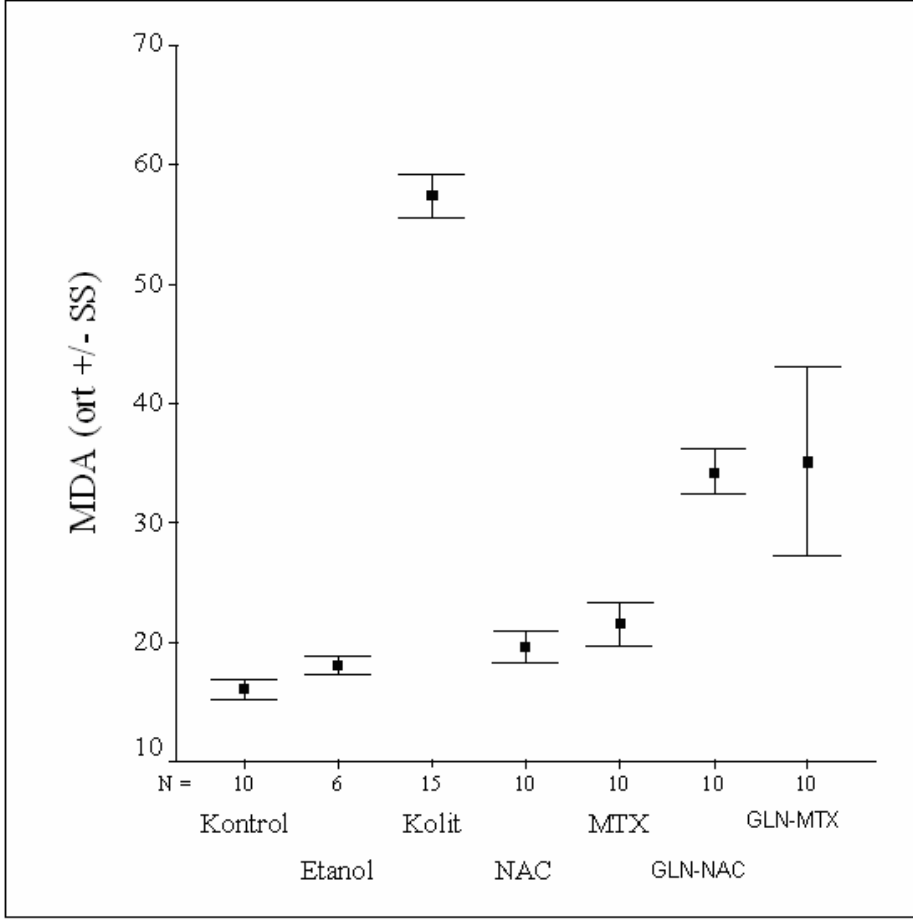
GRUP	Kontrol	Etanol	Kolit	NAC	MTX	GLN-NAC
Etanol	0,007	-				
Kolit	0,001	0,001	-			
NAC	0,001	0,244	0,001	-		
MTX	0,001	0,001	0,001	0,155	-	
GLN-NAC	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	-
GLN-MTX	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,563

4.3.2. MDA Ölçümlerinin Değerlendirilmesi

MDA ölçümleri değerlendirildiğinde; kontrol grubu ile etanol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı. Ancak bu fark, kolit oluşturulan gruplardada farklıydı. Kontrol grubu ile TNBS-E verilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Etanol grubu ile kolit grubu arasında fark saptanırken, NAC ve MTX grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı, ayrıca etanol grubu ile GLN verilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Kolit grubu ile tedavi verilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. NAC grubu ile MTX ve GLN-MTX grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yokken, GLN-NAC verilen grup arasında anlamlı fark saptandı (Tablo 16, 17, Şekil 36).

Tablo 16. MDA Ölçüm Sonuçları

GRUP	Mean	Std. Sapma	Minimum	Maximum
Kontrol	16,1	0,8	14,4	17,0
Etanol	18,1	0,8	17,0	19,1
Kolit	57,4	1,8	54,6	60,3
NAC	19,7	1,4	18,5	22,7
MTX	21,6	1,8	19,1	24,1
GLN-NAC	34,3	1,9	31,8	36,8
GLN-MTX	35,2	7,8	23,2	43,2
P değeri	0,0001			



Şekil 36. Gruplara Göre MDA Değerlerinin Dağılımı

Tablo 17. MDA Dağılımında Grupların Birbirleri İle Karşılaştırılması(p<0,017)

GRUP	Kontrol	Etanol	Kolit	NAC	MTX	GLN-NAC
Etanol	0,01	-				
Kolit	0,001	0,001	-			
NAC	0,001	0,201	0,001	-		
MTX	0,001	0,003	0,001	0,307	-	
GLN-NAC	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	-
GLN-MTX	0,001	0,001	0,001	0,003	0,007	1,000

5. TARTIŞMA

İBH, günümüzde görülme sıklığı artarken, cerrahi girişim dışında kalan tedaviler halen palyatif olarak devam etmektedir. Hafif vakalarda, diyetin düzenlenmesi, sulfosalazin, 5 aminosalisilik asit deriveleri, steroid kullanılmaktadır. Bu tedaviye yanıt vermeyen vakalarda azotiopurin, siklosporin gibi önemli yan etkilere sahip immün supresif ajanlar kullanılmaktadır. Literatür incelendiğinde, İBH'nin tedavisine yönelik birçok çalışma yapılmıştır ve yapılmaktadır. Günümüzde çalışmalar, serbest oksijen radikalleri üzerine yoğunlaşmıştır.^{33,118,119} Literatürde yapılan bu çalışmalar değerlendirildiğinde, NAC ve GLN birlikte denenmemiştir, MTX ise intrarektal lavman şeklinde uygulanmamıştır.

Bu çalışmada kullanılan kolit modeli (TNBS) deneysel kolit oluşturmada sıkça kullanılmaktadır. TNBS ile oluşturulan kolit modelinde, diğer modellere göre daha ciddi makroskopik ve histopatolojik hasar oluşmaktadır. TNBS ile oluşturulan kolit modeli hapten ile indüklenmiş gecikmiş tip hipersensitivite sonrası oluşan kronik bir inflamasyon ve ülserasyon modelidir. TNBS ile oluşturulan kolitte klinik ve histopatolojik değişimler 48 saat sonra başlayıp 8 hafta süresince devam eder. Diğer kolit modellerindeki mukozal ve submukozal tutulumla eşlik edebilen transmural kolitin aksine TNBS ile oluşturulmuş modelde hemen daima transmural akut kolit oluşur.¹²⁰ Etanol ile mukozal bariyer kırılarak doza bağımlı olarak ülserasyon ve inflamasyon gelişir. Ülserasyon ve bağırsak duvarında kalınlaşma yaklaşık 8 hafta kadar devam ettiğinden bu model kronik kolit oluşması istendiğinde tercih edilmektedir. Histolojik olarak mukoza ve submukozada polimorfonüveli lökosit, makrofaj, lenfosit, bağ dokusu mast hücreleri ve fibroblastlardan oluşmuş inflamatuvar cevap mevcuttur.¹ Segmental ülserasyon ve inflamasyon sıklığı. İnflamasyon ve ülserasyonun uzun süre devam etmesi nedeniyle kolonik İBH'nin patofizyolojisinin ve yeni tedavi yöntemlerinin araştırılmasında uygun bir modeldir.¹²¹ Yapılmış bir çalışmada etanolde 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.¹²²

Bizim çalışmamızda kronik inflamasyon oluşması, çalışma sonuna kadar spontan remisyon gelişmemesi, patogenezin benzer olması, histopatolojik ve klinik bulguların benzerlik göstermesi nedeni ile TNBS ile oluşturulmuş kolit modeli tercih edildi.

Çalışmada, kilo kaybı, kolit oluşumunun klinik göstergelerinden biri olarak kullanıldı. TNBS-E uygulanan gruplarda sulu diyare ve günlük ölçümlerde kilo kaybı gözlemlendi. Tedavi verilen gruplarda ise kilo kaybının daha az olacağını öngörmemize rağmen çalışma sonunda gruplar arasında kilo kayıplarının birbirlerine yakın olduğu saptandı (Tablo 9). İki haftalık bir süre, kilo değişimini değerlendirmek için yeterli bir süre olmayabilir, tedavinin verilmesinden sakrifikasyona kadar olan süre arttırılırsa kilo kayıplarının değerlendirilmesi için daha uygun olabilir düşüncesindeyiz.

Günümüzde, İBH'nin cerrahi dışında kesin tedavisi yoktur. Birçok klinik ve deneysel çalışma, yeni tedavi protokollerinin oluşturulması için yapılmaktadır. Oksidatif stres, İBH'nin mukozal hasarının patogenezinde anahtar bir rol oynadığına inanılır. Bu çalışmaların bir kısmında da, antioksidan özelliği olan maddeler araştırılmaktadır. Çalışmamızda, NAC'nin İBH'de oksidatif stres ve morfolojik değişiklikleri üzerine olan etkisi, ayrıca tedaviye, önemli bir antioksidan olan glutatyonun NAC'nin bileşiminde bulunan sistein gibi prekürsörlerinden olan GLN'yi de ekleyerek, sinerjik etkileşim olup olmayacağı araştırıldı.

Kolondaki inflamatuvar hasarın değerlendirilmesinde altın standart, makroskopik ve histopatolojik incelemedir. Histolojik değerlendirmede 6 bağımsız parametre (erozyon, ülserasyon, nekroz, hemoraji, ödem ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu) ciddiyetine göre 0 ila 3 skorlanarak derecelendirme yapılır (Tablo 2 ve3).¹²³

Sidduqui ve arkadaşları, TNBS-E ile oluşturulan kolit modelinde NAC, mesalamin ve NAC + mesalamin'in mukozal iyileşme üzerine etkisini incelemişler. NAC ile birlikte verilen mesalamin'in, bu maddelerin tek başına verilmesine kıyasla, kolonik inflamasyonu ve ülserasyonu azaltarak mukoza üzerine iyileştirici etkileri olduğunu göstermişlerdir.¹²⁵

Yapmış olduğumuz çalışmada, kontrol grubunda ve etanol verilen grupta morfolojik olarak değişiklik saptanmadı. Böylece, etanolün mukozaya olası morfolojik olarak olumsuz etkisinin olmadığı düşüncesine varıldı. TNBS-E verilen grupların hepsinde, oluşturulması beklenen kolitle uyumlu bulgular saptandı ve hepsinin hasar skoru kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak yüksek hesaplandı. Diğer çalışmalarda

belirtildiği üzere, NAC verilmesiyle hasarlı kolon mukozasında, iyileşme beklenirken, NAC verdiğimiz grupta sayısal olarak daha iyi sonuçlar elde etmemize karşın, istatistiksel olarak kolit grubuna kıyasla anlamlı iyileşme tespit edilemedi. Benzer şekilde, metotreksat verilen grupta da, kolit grubuna kıyasla, doku örneklerinde anlamlı olarak daha düşük SOD ve MDA seviyeleri saptamamıza rağmen, morfolojik olarak anlamlı iyileşme saptanamadı. NAC ve MTX tedavilerine glutaminin eklenmesiyle ise morfolojik olarak istatistiksel olarak anlamlı ve olumlu sonuçlar elde edildi. Çalışmamızda, deneysel kolit oluşturmak için tek uygulamada indükleyici madde verildi. İndükleyici maddeye karşı gelişen reaksiyon sonrası, kolit benzeri bulgular elde edildi. Eğer, kolite neden olan stimülasyon, sürekli olmuş olsaydı, bu tedavi yöntemlerin morfolojik olarak da daha iyi sonuçlar elde edebileceğini düşünmekteyiz (Tablo 10-12).

Serbest oksijen radikalleri, lipit peroksidasyonuna neden olarak lipit peroksit radikalleri oluşturur. Oluşan lipit peroksit radikalleri inflamatuvar süreçte oluşumunda önemli rol oynarlar.¹²⁵ Antioksidanlar SOR'nin zararlı etkilerinden koruyucu bileşiklerdir. En önemli enzimatik antioksidanlardan biri SOD' dir. Bu enzimler doğal savunma sisteminin birer parçasıdır. İnflamatuvar süreçte SOR'nin oluşturduğu hasara karşı direncin artmasında rol oynarlar. Yapılan bir deneysel kolit modelinde mukozadaki antioksidan aktivitede azalma görülmüştür.¹²⁶ İBH'de salınan SOR, kolonik inflamasyon sırasında endojen antioksidan sistemi bozarak oksidatif hasarlanmaya yol açar. Azalmış antioksidan seviyeleri ÜK'li hastalarda rapor edilmiştir.¹²⁷ Yapılan çalışmalar inflamasyonun olduğu ÜK'de kolonun mukozal tabakasında yapışkan yüzeyler oluşturarak lipozomların kullanımını tetiklemiştir. Pozitif yüklü lipozomların mukozaya tutunduğu bunun da SOD' nin salınımına neden olduğu bildirilmiştir.¹²⁸ SOD gibi antioksidan enzimler SOR kaynaklı hasarlanmaya karşı doğal hücre savunma sisteminin bir parçasıdır. Ratlardaki deneysel kolitde mukozadaki antioksidanların aktivitesinde azalmanın eşlik ettiği gösterilmiştir. CH'nin inflame kolonunda ve kolitli ratların kolonik epitelinde bakır, çinko, SOD konsantrasyon ve aktivitesi azalmıştır. Lipozomal SOD hücre membranına daha iyi bağlandığından oksidatif stresde etkisi artar.¹²⁸

Williams ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada kontrol grubuna kıyasla İBH'li hastalarda, nötrofil ve monositlerin yüksek oranlarda SOR'leri ürettiği

gösterilmiştir. Ayrıca, İBH'li hastalarda fagositik hücrelerinde ve çok sayıda deneysel çalışmada aşırı artmış SOR'ler saptanmıştır.¹²⁹

İki sitoplazmik enzim, SOD ve myeloperoksidaz, süperoksit anyonlarını ve hidrojen peroksidi parçalayarak, hücreyi oksidize edici ajanlardan korurlar. SOD, oksidatif stresi ve inflamatuvar cevabın medyatörlerini azaltır.¹³⁰

SOD, süperoksit anyon radikallerinin, hasar verici etkisini önleyecek, önemli bir koruyucu görevini görür. Kuralay ve arkadaşları, deneysel kolit modelinde oksidatif strese cevap olarak SOD seviyelerinin arttığını ve bu artışın antioksidan ajanlarla azaltıldığını göstermişlerdir.¹³¹

Kruidenier ve arkadaşları da, İBH'li hastaların kolon mukoza Cu/Zn SOD ve MnSOD seviyelerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduklarını göstermişlerdir.¹³²

Yaptığımız çalışmada, TNBS-E uygulanmasıyla, ratlarda oksidatif stres sonucu cevap olarak oluşan SOD seviyelerinde yükselme gözlenmiştir. Ratlara TNBS-E verilmesiyle oluşan hasarda, etanolün etkisini incelemek amacıyla oluşturulan etanol grubundaki SOD seviyeleri ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Ancak, bu fark, etanolün, kolit oluşturulan diğer gruplarla olan fark ile kıyaslandığında oluşan antioksidan hasarın daha az olduğu gözlemlendi. Bu sonuçta bize, oluşan hasarın TNBS ile olduğu, etanolün bu hasara çok katkısı olmadığını düşündürdü. Kolit oluşturulduktan sonra antioksidan tedavi amacıyla verilen NAC ile SOD seviyeleri kolit grubuna kıyasla daha düşük seviyelere gerilemiş olarak bulundu. Diğer yapılan çalışmalara benzer bir şekilde verilen antioksidan tedavinin oluşturulan kolit modeli üzerine tedavi anlamında olumlu etkisi olduğu sonucuna varıldı. Tedaviye GLN eklenen NAC grubunda da SOD seviyesinde kolit grubuna kıyasla daha fazla düşme saptandı. Ancak, GLN'nin NAC tedavisine eklenmesiyle, daha olumlu sonuçlar alacağımızı düşünürken, bu sonuca ulaşamadı. Bunun sebeplerinden biri, içme suyuna karıştırılan GLN'nin yeterli doku konsantrasyonuna ulaşamaması olabilir. (Tablo 13,14, Şekil 15)

MDA artışı dokularda lipit peroksidasyon seviyesini yansıtmaktadır ve hasarlı dokunun bir belirteci olarak göz önüne alınmaktadır. Aktive nötrofillerin dolaşımdan ayrılarak akut inflamasyonda bağırsağın mukoza ve submukozasına girer, bağırsağın hasarlanmasına katkıda bulunabilen lipit mediatörleri, laktoferrin proteazlar, reaktif oksijen ve nitrojen türevlerinin aşırı üretimine neden olur.¹³³

Çoğu oksidatif stres SOR üretir ve kontrolsüz lipid peroksidasyonuna neden olur. Poliansatüre yağ asitlerinin oksidasyonu, MDA gibi aldehidleri de içeren kompleks karışımların oluşmasıyla ilişkilidir. MDA, sıklıkla lipid peroksid seviyesinin ölçümünde kullanılır. İBH’de MDA seviyesi yükselir.¹³⁴

Kurutaş ve arkadaşlarının çalışmalarında ise asetik asit ile oluşturulmuş kolit modelinde NAC’nin uygulanmasının organizmayı lipid peroksidasyonunu zararlı etkilerinden koruduklarını saptamışlardır.¹³⁵

Yapmış olduğumuz çalışmada, MDA seviyelerine bakıldığında, kontrol ve etanol grupları arasında SOD ölçümlerine benzer özellikler göstermekteydi. TNBS-E verilen tüm gruplarda, MDA seviyeleri, kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olarak daha yüksek saptandı. NAC verilen grupta, MDA seviyesi, kolit grubuna göre, SOD sonucunu destekler şekilde, istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu. Yine GLN ile birlikte verilen NAC’inde lipid peroksidasyon üzerine olumlu etkisi olduğunu düşündürecek şekilde anlamlı sonuçlarını gözlemlendi. SOD seviyelerine benzer şekilde, GLN ile birlikte verilen NAC grubunda (GLN-NAC), kolit grubuna göre daha iyi sonuçlar almamıza rağmen, sadece NAC verilen gruba göre daha iyi sonuçlar almayı beklerken, bu sonuçlara ulaşamadı. (Tablo 15,16, Şekil 16)

GLN, esas olarak ince bağırsak mukozal hücrelerinin ana yakıtı olmasına rağmen kolon mukoza hücrelerince de kullanılmaktadır. Proksimal kolon mukozası, enerji kaynağı olarak glukoz ve GLN kullanırlar. Deneysel kolit modelinde, kolon mukozasında GLN’nin oksidasyonu artar. Ayrıca gine domuzlarında oluşturulan deneysel kolit modelinde, GLN’den zengin diyetin, portal endotoksin seviyelerinde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir.¹³⁶ Kaya ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise, lavman şeklinde verilen GLN’nin, kolitin yaptığı morfolojik hasarın ciddiyetini azalttığı, kolon mukozasında lipid peroksidasyonunu düzelttiği ve mukozal absorpsiyon kapasitesinine hasar vermediği saptanmıştır.¹³⁷

Yeni yapılan araştırmalarda, GLN, enterositlerin ana solunumsal yakıtı olduğu ve stres durumunda daha önemli hale geldiği bildirilmiştir.^{138,139} Hayvan deneylerinde, GLN içeren enteral diyetlerin daha az ciddi intestinal hasara, daha az kilo kaybına, daha iyi azot dengesine ve azalmış bakteriyel translokasyona neden olduğu gösterilmiştir.^{140,141}

Ameho ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada, kolit oluşturulan üç grubun ikisine % 2 ve % 4 oranlarında GLN desteği verilmiş. GLN verilen gruplarda ilk

önceleri kilo kaybı kontrol grubuna göre daha az olmakla birlikte gözlenirken, ilerleyen günlerde kontrol grubunda kilo alımı yokken, GLN verilen gruplarda kilo alımı gözlenmiştir. Ayrıca, makroskopik ve histopatolojik hasar skorları, GLN verilen gruplarda daha az saptanmıştır. Yapmış olduğumuz çalışmada, kolit oluşturulan gruplarda, kontrol grubuna göre kilo kaybı saptanmıştır. Ancak tedavi verilen gruplarda, kolit grubuna göre kilo alımı saptanmamıştır.¹⁴²

Fujita ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada, % 2'lik GLN desteğinin, endotoksemiye azalttığını, ancak ornitin dekarboksilaz seviyeleri incelenerek, mukozal rejenerasyon üzerine bir katkısı olmadığı gösterilmiştir.¹⁴¹

Fox ve arkadaşları, GLN'li enteral diyetin, yapılan letal kolit modelinde, beslenme durumunu anlamlı olarak düzelttiğini, intestinal hasarı azalttığını, bakteriyel translokasyonu azalttığını ve survi üzerine olumlu etkisi olduğunu göstermişlerdir.¹⁴²

Aptecker ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada, lavman şeklinde GLN uygulanmasının makroskopik ve mikroskopik hasar skorunu ve ayrıca myeloperoksidaz aktivasyonunu azalttığı gösterilmiştir.¹⁴³

Klimbey ve arkadaşları, proflaktik GLN uygulanmasının intestinal mukozayı radyasyon hasarından koruduğunu göstermişlerdir.¹⁴⁴

Yukarıda da belirtildiği gibi, diyetle glutamin eklenmesiyle kolonik mukozada kolit grubuna, NAC ve MTX gruplarına kıyasla daha az hasar skoru hesaplandı. Bu da bize, GLN'nin kolonik mukozal iyileşme üzerine olumlu etkisi olabileceği düşündürdü. Doku örneklerinde çalışılan SOD ve MDA değerleri de, kolit grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük saptandı. Bu sonuçlarda bize, GLN'nin ayrıca, kolon mukozasında antioksidan etkiyi güçlendirdiğini fikrini oluşturdu. Ancak, biyokimyasal olarak elde edilen sonuçlardan, tek başına NAC veya MTX verilen gruplardan daha iyi sonuçlar elde etmeyi beklerken, bu sonuçlara ulaşılamadı. (Tablo 10,11,12)

İBH'de, medikal tedaviye yanıtızsızlık veya direnç gelişmesi durumunda, yan etkileri fazla olan immünomodülatör ilaçlar kullanılmaktadır. Azotiropürin, siklosporin gibi ilaçlarda bir kısım hastada intolerans veya tedaviye yanıtızsızlık nedeniyle kullanılamamaktadır. Özellikle CH'de, bu durumlarda, MTX kullanılmaktadır. Bu ilacında ciddi yan etkileri bulunmaktadır.

İmmünmodölatör tedavi İBH'li hastaların tedavisindeki etkisi etraflıca araştırılmıştır. Bununla beraber bazı hastalarda, bu ilaçlara karşı intolerans veya direnç geliştiğinde bu hastaların tedavi yönetimi oldukça güç olmaktadır. MTX'in yapılan birkaç çalışmada CH'nin remisyonunu sürdürülmesinde etkili olduğu iddia edilmiştir.¹⁴⁵

MTX'in antiinflamatuvar ve immünmodölatör etki mekanizması karmaşıktır. Yüksek doz MTX, dihidrofolat redüktazı inhibe ederek, DNA, RNA ve protein sentezi inhibisyonuna neden olur. Düşük doz MTX ise mekanizması kesin olarak bilinmemekle beraber inflamasyonu modüle eder. Hayvan çalışmalarında, MTX infüzyonu, antiinflamatuvar özellikleri olan, adenozin birikimine neden olur.¹⁴⁵ Bununla beraber, yapılan bir çalışmada ise, MTX infüzyonu sonrası İBH'li hastaların plazma ve rektal adenozin seviyesinde değişiklik yapmadığı saptanmıştır.¹⁴⁶ Düşük doz MTX uygulanmasının, immün hücre proliferasyonuna ve sitokin sentezine neden olan pürin ve pirimidin metabolizmasını düzenlediği gösterilmiştir.¹⁴⁷

MTX'in CH VE ÜK üzerine etkili olduğu rapor edildiği 1989'dan sonra bazı çalışmalar yapılmıştır. Feagen ve arkadaşları Kuzey Amerika'da yapılan MTX'in plaseboyla karşılaştırıldığı iki büyük çalışmayı yönetmişlerdir. 141 hastalık ilk çalışmada üç aylık prednisolon tedavisine rağmen halen kronik aktif CD hastalarına haftada bir 25 mg İM MTX veya plasebo verilmiş. Bu hastalara oral prednisolon verilmeye devam edilmiş. 16. haftanın sonunda MTX grubunda % 39, plasebo grubunda ise % 19 remisyona giriş saptanmış. İkinci çalışmada ise İM MTX ile remisyona giren hastaların bir kısmına haftada bir 15 mg İM MTX, geri kalan hastalara ise plasebo verilmiş. 40. haftanın sonunda, MTX verilen grubun % 65'i remisyonda iken, plasebo grubunun % 39'u remisyona girmiş.^{148,151}

Yapılan diğer küçük çaplı bir araştırmada ise, 15-22,5 mg/hafta oral MTX'in bir yıl boyunca verilmesinin 13 hastanın % 54'ünde remisyonun devamını sağlarken, plasebo grubunda sadece % 2'sini remisyonda tutabilmiş¹⁵⁰ İsrail'den bildirilen bir çalışmada da, 12,5 mg oral MTX'in plaseboya kıyasla remisyona girişte veya remisyonun devamında etkinliği gösterilememiştir.¹⁵²

Yapılan başka bir çalışmada ise MTX'in steroid bağımlı İBH'da iyi tolere edilen ve efektif bir ilaç olarak gösterilmiştir.¹⁵³

Yapmış olduğumuz bu çalışmada, kolit oluşturulan ratlara MTX verilmesiyle SOD ve MDA değerlerinde, kolit grubuna kıyasla, anlamlı düşüş saptanmasında

rağmen, morfolojik olarak iyileşme gözlenmedi. MTX ile birlikte verilen GLN verilen grupta ise, hem SOD ve MDA değerlerinde düşme hem de morfolojik olarak iyileşme gözlenmiştir. Benzer olarak sadece NAC verilen grupta da SOD ve MDA değerleri anlamlı olarak düşerken, morfolojik olarak iyileşme saptanmadı. Yalnız, MTX grubundan farklı olarak, morfolojik skorlar NAC grubunda daha düşük olmakla beraber, iki denekte ölçülen yüksek skorun istatistiksel olarak anlamlı farkı engellemiş olabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca, bizim bilgilerimize göre literatürde, deneysel kolit modeli üzerine MTX'in lavman şeklinde uygulanılmasına rastlanılmamıştır. Bu nedenle, hasarlanmış mukozaya direkt olarak serum fizyolojikle karıştırılarak ve literatürde belirtilenden daha düşük dozlarda verilmiştir. Başvurabileceğimiz herhangi bir kaynak olmadığından, bu tedavi şeklinde eksiklikler olabilir. Örneğin, hasarlanmış kolon mukozasına MTX'in penetrasyonunun geciktirecek bir bileşikle verilmesi, olası yan etkileri azaltmada yardımcı olabilir. Bu çalışmada, MTX'in sadece morfolojik ve oksidatif stres parametreleri değerlendirilmiştir. Makroskopik ve histopatolojik olarak hasar skorları, kolit grubuna yakın değerlerdeydi. Hasarlanmış kolon mukozasına, penetrasyonu daha kolay olabileceğini düşünerek daha düşük miktarlarda verilen MTX'in doku iyileşmesine istenilen katkıyı yapamamış olacağını düşünmekteyiz. Buna rağmen bu dozlar, oksidatif stres parametrelerini kolit grubuna kıyasla düzelterek, deneysel kolit üzerine olumlu etkisi de olduğunu düşünmekteyiz (Tablo 11,12,14,16,Şekil 16 ve 17).

SONUÇ

Ana bulgularımız aşağıdaki gibidir:

- TNBS-E ile kolay uygulanabilir deneysel kolit modeli oluşturuldu.
- NAC ve MTX uygulamasıyla SOD ve MDA değerlerinde anlamlı düşüş saptandı, morfolojik olarak anlamlı değişiklik saptanmadı.
- NAC ve MTX'e GLN eklenmesiyle, hem morfolojik hem de biyokimyasal ölçümlerde düzelme gözlemlendi.

Sonuç olarak, deneysel kolit modelinde, oluşan serbest oksijen radikallerinin etkisini önlemek amacıyla verilen GLN'nin ve NAC'nin olumlu etkileri olduğunu, bu iki maddenin beraber verilmesiyle morfolojik olarak iyileşmeye daha fazla katkı sağladığını gözlemlendi. Yan etkilerini azaltmak amacıyla lavman şeklinde verilen MTX'in morfolojik olarak düzelmeye katkısı olmamasına rağmen biyokimyasal olarak düzelme sağladığını gözlemlendi. Ayrıca MTX verilen ratlarda diğer tüm gruplara göre daha fazla kilo kaybı saptanmıştır. Bu sonuçta bize, MTX'in lavman şeklinde verilmesi her ne kadar inflamatuvar parametreler üzerinde olumlu etkisi olduğu görülse de, deneysel kolitin semptomları üzerine olumsuz etkisi olabileceğini düşündürmektedir. Ancak daha önceden MTX'in lavman şeklinde verilmesiyle ilgili bir çalışma olmadığı için verilişi ile ilgili düzenlemeler yapılırsa daha farklı ve olumlu sonuçlar alınabilir.

KAYNAKLAR

1. **Morris GP, Beck PL, Herridge MS, Depew WT, Szewczuk MR, Wallace RL.** Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology* **1989**; 96(3):795-803.
2. **Nieto N, Torres MI, Fernandez MI, Giron MD, Rios A, Suarez MD, Gil A.** Experimental ulcerative colitis impairs antioxidant defense system in rat intestine. *Digestive diseases and sciences* **2000**; 45, 1820-1827.
3. **Shackelford RT, Zuidema GD.** *Surgery of the Alimentary Tract.* 2nd ed, W B Saunders Co. **1983**.
4. **Mallory A, Kren F.** Drug Induced Pancreatitis: a critical review. *Am. J. Gastroenterology* **1990**; 78: 813-820.
5. **Diestel CF, Marques RG, Lopes-Paulo F, Paiva D, Horst NL, Caetano CER.** Role of L-glutamine and glycine supplementation on irradiated colonic wall. *Int J Colorectal Dis* **2007**; 22:1523–1529.
6. **Rubio IT, Cao Y, Hutchins LF, Westbrook KC, Klimberg VS.** Effect of Glutamine on Methotrexate Efficacy and Toxicity. *Annals of Surgery* **1998**; 227: 5 : 772-780.
7. **Sandborn W, Sutherland L, Pearson D, May G, Modigliani R, Prantera C.** Azathioprine or 6-mercaptopurine for inducing remission of Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev* **2000**; 2:CD000545.
8. **Pearson DC, May GR, Fick G, Sutherland LR.** Azathioprine for maintaining remission of Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev* **2000**;2:CD000067.
9. **Soon SY, Ansari A, Yaneza M, Raof S, Hirst J, Sanderson JD.** Experience with the use of low-dose methotrexate for inflammatory bowel disease. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology* **2004**;16: 921–926.
10. **Kozarek RA, Patterson DJ, Gelfand MD, Botoman VA, Ball TJ, Wilske KR.** Methotrexate induces clinical and histologic remission in patients with refractory inflammatory bowel disease. *Ann Intern Med* **1989**; 110:353–356.
11. **Feagan BG, Rochon J, Fedorak RN, Irvine EJ, Wild G, Sutherland L.** Methotrexate for the treatment of Crohn's disease. The North American Crohn's Study Group Investigators. *N Engl J Med* **1995**; 332:292–297.
12. **Fraser AG, Morton D, McGovern D, Travis S, Jewell DP.** The efficacy of methotrexate for maintaining remission in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* **2002**; 16: 693–697.

13. **Adnan Mesut Dede.** Deneysel kolit modelinde Drotrecogin Alfa (Activated Xigris)'nın bakteriyel translokasyonu önlemede etkinliğinin değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi. Tez Danışmanı Yrd. Doç. Dr. Celal Çerçi. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı ,Isparta **2007**.
14. **Fry RD, Kodner IJ.** Anorectal disorders. Ciba Clinical Symposia 37; 6; **1985**.
15. **Kodner IJ, Fleshman JW, Fry RD.** Anal and rectal cancer: Principles of management. In Schwartz SI, et. Al (eds.): Maingot's Abdominal Operations, 9th Edition. Norwalk, CT: Appleton & Lange Co. pp. 1107-1117. **1989**.
16. **Guyton AC.** Textbook of medical physiology (Tıbbi fizyoloji). Çeviren Çavuşoğlu HA. Cilt 2, 8 Baskı, Nobel Yayınevi, İstanbul 981-1108; **1998**.
17. **Gaurner F, Mabgelada JR.** Gut flora in health and disease Lancet **2003**;361: 512-9.
18. **Volland EJ, Clasene HA.** Colonization resistance. Antimicrob Agents Chemother **1994**; 38: 409-14.
19. **Schultz M, Scholmerich J, Roth HC.** Rationale for probiotic and antibiotic treatment strategies in inflammatory bowel diseases . Dig Dis **2003**; 21: 105-28.
20. **Dickinson RJ, Vortan SA, Axon AT.** Increased incidence of faecal coliforms with in vitro adhesive and invasive progenies in patients with ulcerative colitis. Gut **1980**; 21: 787-972.
21. **Matsuda H, Fujiyama Y, Andoh A.** Characterization of antibody responses, against rectal mucosa-associated bacterial flora in patients with ulcerative colitis. J. Gastroenterol Hepatol **2000**; 15: 61-8.
22. **Ebru Menekşe.** Deneysel kolit modeli üzerine 3-amino benzamid'in kolon patlama basıncı üzerine etkisi. Uzmanlık Tezi. Tez Danışmanı Op. Dr. Abdullah Eroğlu. Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2. Genel Cerrahi Kliniği, Ankara **2007**.
23. **Kotze1 SH, Van der Merwel, O'Riain MJ.** The Topography and Gross Anatomy of the Gastrointestinal Tract of the Cape DuneMole-rat (Bathyergus suillus) Anat. Histol. Embryol. 35, 259-264, **2006**.
24. **Kodner IJ, Fry RD, Fleshman JW, Birnbaum EH.** Colon, rectum, and anus. Chap. 26 in Schwartz SI (ed.): Principles of Surgery, 6th Edition. New York: McGraw-Hill Co., , pp 1191-1306 **1993**.
25. **Andres PG, Friedman LS.** Epidemiology and the national course of inflammatory bowel disease. Gastroenterology Clinics of North America **1999**; 28(2): 255-81.
26. **Irvine EJ.** A critical review of epidemiologic studies in inflammatory bowel disease. Scand J Gastroenterol. **2001**, 36:2-15.

27. **Mortensen H.** Inflammatory disease of the colon. In: Oxford Textbook of Surgery (Morris PJ and Malt RA, Ed.) Oxford University Press, New York, , pp 1036-1059 **1994**.
28. **Barkin JS, Green JA.** Inflammatory bowel disease: medical management. In Berk JE, Haubrich WS, Kalser MH, Roth JLA, Shaffner F. (eds). Bockus gastroenterology. Vol 2. 5th ed. Philadelphia: J. B. Lippincott; p1374-81, **1994**.
29. **Farmer RG, Easley KA, Farmer JM.** Assessing quality of life for patients with inflammatory bowel disease. Cleve Clin J Med **1992**; 58:7-15.
30. **Kirsner JB.** Overview of etiology, pathogenesis, and epidemiology of inflammatory bowel disease. In Berk JE, Haubrich WS, Kalser MH, JLA, Schaffner F. (eds). Bockus gastroenterology. Vol 2.5th ed. Philadelphia: J.B. Lippincott; p1293-318, **1994**.
31. **Sutherland RL, May GR, Shaffer EA.** Sulfasalazine revisited. A meta-analysis of 5-aminosalicylic acid in the treatment of ulcerative colitis. Ann Int Med **1993**; 118: 640-9.
32. **Koutroubakis IE, Petinaki E.** Increased serum levels of YKL-40 in patients with inflammatory bowel disease. Int J Colorectal Dis **2003**; 18: 254-259
33. **Evers BM, Townsend M, Thompson JC, Fry RD, Fleshman JW, Birnbaum EH, Read TE.** Çeviri; Demirkan A, Kuzu MA, Yıldırım S, Baykan A. İnce Barsak, Kolon, Rektum ve Anus. Schwartz S., Shires T, Spencer F, Doly C, Fischer JE, Fischer JM, Gallaway AC (eds) Geçim İE, Demirkan A (Çeviri ed.). Principles of Surgery 7th ed. Antip As., p1249-1257, 1329-1346.**1999**.
34. **Jones HW, Grogono J, Hoare AM.** Acute colitis in a district general hospital. Br Med J (Clin Res Ed) **1987**; 294:683-4.
35. **Linn FV, Peppercorn MA.** Drug therapy for inflammatory bowel disease. Part I Am J Surg **1992**; 164: 85-9.
36. **Akobeng AK.** Review article: the evidence base for interventions used to maintain remission in Crohn's disease. Alimentary Pharmacology and Therapeutics **2008**; 27(1):11-18.
37. **Mulder CJ, Fockens P, Meijer JW.,** Beclomethasine dipropionate (3 mg) versus 5-aminosalicylic acid (2 g) versus the combination of Itoth (3 mg/2 g) as retention enemas in active ulcerative proctitis. Eur J Gastroenterol hepatol **1996**; 8 (6):549.
38. **Geier DL, Miner PB.** New therapeutic agents in the treatment of inflammatory Haubrich WS, Kalser MH, Roth JLA, Schaffner F. (eds). Bockus gastroenterology. Vol 2.5th ed. Lippincott; 1357-63., **1994**.
39. **Farmer RG.** Inflammatory bowel disease and complications. In Berk JE, Haubrich WS, Kalser MH, Roth JLA, Schaffner F. (eds). Bockus gastroenterology. Vol 2.5th ed. Lippincott; 1357-63, **1994**.

40. **Farmer RG, Easley KA, Rankin GB.** Clinical patterns in ulcerative colitis: Disease location, progression and prognosis. *Dig Dis Sci* **1993**; 38: 1137-46.
41. **Greenstein AJ, Aufses AH Jr.** Differences in pathogenesis. Incidence and outcome of perforation in inflammatory bowel disease. *Surg Gynecol Obstet.* **1985**; 160 (1): 63.
42. **Gan SI, Beck PL.** A new look a toxic megacolon: an update and review of incidence, etiology, pathogenesis and management. *Am. J.Gastroenterol* **2003**; 98 (11):2363-71.
43. **Sartor R.** Current concepts of the etiology and pathogenesis of ulcerative colitis and Crohn's disease. *Gastroent CI North America* **1995**, 24: 475-507.
44. **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.
45. **Gonzalez R, Medina FS, 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.
46. **Jung HC, Eckmann L, Yang SK, Panja A, Fierer J, Morzycka-Wroblewska E, Kagnoff MF.** A distinct array of proinflammatory cytokines is expressed in human colon epithelial cells in response to bacterial invasion. *J Clin Invest* **1995**, 95: 55-65.
47. **Adams RB, Planchon SM, Roche JK.** IFN-gamma modulation of epithelial barrier function. Time course, reversibility, and site of cytokine binding. *J Immun* **1993**, 150:2356-2363.
48. **Fiocchi C.** Inflammatory bowel disease: etiology and pathogenesis. *Gastroenterology* **1998**;115:182-205.
49. **Friend DR.** Review article: issues in oral administration of locally acting glucocorticosteroids for treatment of inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* **1998**; 12: 591-603.
50. **Hendrickson BA, Gokhale R, Cho JH.** Clinical aspects and pathophysiology of inflammatory bowel disease. *Clin Microbiol Rev* **2002**; 15: 79-94.
51. **Hanauer SB, Dassapoulos T.** Evolving treatment strategies for inflammatory bowel disease. *Annu Rev Med* **2001**; 52: 299-318.
52. **Boismenu R, Chen Y.** Insights from mouse models of colitis. *J Leukoc Biol* **2000**; 67: 267-78.
53. **Elson CO, Sartor RB, Tennyson BS, Riddell RH.** Experimental models of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* **1995**;109:1344-67.

54. **Kim HS, Berstad A.** Experimental colitis in animal models. *Scand J Gastroenterol* **1992**; 27: 529-37.
55. **Pizarro TT, Arseneau KO, Cominelli F.** Lessons from genetically engineered animal models XI. Novel mouse models to study pathogenic mechanisms of Crohn's disease. *Am J Physiol* **2000**; 278: G665-9.
56. **Ishimaru N, Yamada A, Kohashi M, Arakaki R, Takahashi T, Izumi K, Hayashi Y.** Development of Inflammatory Bowel Disease in Long-Evans Cinnamon Rats Based on CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ Regulatory T Cell Dysfunction. *The Journal of Immunology* **2008**; 180: 6997-7008.
57. **Loguercio C, D'Argenio G, Delle Cave M, Cosenza V, Della Valle N, Mazzacca G, Del Vecchio Blanco C.** Glutathione supplementation improves oxidative damage in experimental colitis. *Dig Liver Dis* **2003**; 35: 635-641.
58. **Sadegh Soltan-Sharifi M, Mojtahedzadeh M, Najafi A, Khajavi MR, Rouini MR, Moradi M.** Improvement by N-acetylcysteine of acute respiratory distress syndrome through increasing intracellular glutathione, and extracellular thiol molecules and anti-oxidant power: evidence for underlying toxicological mechanisms, *Hum. Exp. Toxicol* **2007**, 26, 697-703.
59. **Buffinton GD, Doe WF.** Depleted mucosal antioxidant defences in inflammatory bowel disease. *Free Radic Biol Med* **1995**; 19: 911-918.
60. **Sido B, Hack V, Hochlehnert A, Lipps H, Herfarth C, Droge W.** Impairment of intestinal glutathione synthesis in patients with inflammatory bowel disease. *Gut* **1998**; 42: 485-492.
61. **Menor C, Fernandez-Moreno MD, Fueyo JA, Escribano O, Olleros T, Arriaza E, Cara C, Lorusso M, Di Paola M, Roman ID, Guijarro LG.** Azathioprine acts upon rat hepatocyte mitochondria and stress-activated protein kinases leading to necrosis: protective role of N-acetyl-L-cysteine. *J Pharmacol Exp Ther* **2004**; 311: 668-676.
62. **Miller AL.** Therapeutic Considerations of L-Glutamine : A Review of the Literature. *Altren Med Rev* **1999**; 4: 239-248.
63. **Şahin M.** Cerrahi metabolizma ve beslenme, Akgül H. ed. Çağdaş Cerrahi Tanı ve Tedavi, Türkiye Klinikleri 158-94, **1995**.
64. **Tannuri U, Carrazza FR, Iriya K.** The effects of glutamine-supplemented diet on the intestinal mucosa of the malnourished growing rat. *Rev Hosp Clin Fac Med sao Paulo* **2000** May- Jun ; 55(3): 87-92.
65. **Bertolo RF, Burrin DG.** Comparative Aspects of Tissue Glutamine and Proline Metabolism. *J. Nutr* **2008**; 138: 2032-9.
66. **Prabhu R, Thomas S, Balasubramanian KA.** Oral glutamine attenuates surgical manipulation-induced alterations in the intestinal brush border membrane; *J Surg Res* **2003** Nov; 115(1): 148-56.

67. **Wilmore DW.** The effect of glutamine supplementantation in patients following elective surgery and accidental injury, *J Nutr* **2001**; 131: 2543-9.
68. **Dudrick PS, Souba WW.** Aminoacids in surgical nutrition. Principles and practice. *Surg clin North Am* **1991**; 71(3):459-477.
69. **Souba WW, Smith R, Wilmore D.** Glutamine metabolizm by the intestinal tract. *JPEN* **1985**; 9: 608-619.
70. **Souba WW.** Glutamine and Cancer. *Ann Surg* **1993**; 218:715-729.
71. **Souba WW, Herskowitz K, Klimberg VS.** The effects of sepsis and endotoxemia on gut glutamine metabolizm. *Ann Surg* **1990**; 211:543-551.
72. **Hong RW, Helton WS, Rounds JD, Wilmore DW.** Glutamine-supplemented TPN preserves hepatic glutathione and improves survival following chemotherapy. *Surg Forum* **1990**;41: 9-11.
73. **Chow A, Zhang R.** Glutamine Reduces Heat Shock-Induced Cell Death in Rat Intestinal Epithelial Cells *J. Nutr* 1998; 128: 1296-1301.
74. **Lacey JM, Wilmore DW.** Is glutamine conditionally essential aminoacid? *Nutr Rew* **1990**;297-309.
75. **Hong RW, Rounds DJ, Helton WS, Robinson MK, Wilmore DW.** Glutamine preserves liver glutathione after lethal hepatic injury. *Ann Surg* **1992**; 21: 114-19.
76. **Fox AD, Kripke SA, De Paula JA, Berman JM.** Effect of Glutamine supplemented diet on methotrexate induced enterocolitis. *JPEN* **1988**; 325: 12.
77. **Seven R, Erbil Y, Bozbora A, Bilgiç L, Gürler N, Özalp M, Özarmağan S.** İntraperitoneal kemoterapide bakteriyel translokasyon . *İst Tıp Fak Mec* **1995**; 58: 2-6.
78. **Klimberg VS, Souba WW, Dolson DT.** Prophylactic glutamine protects the intestinal mucosa from radiation injury. *Cancer* **1990**; 66: 62-68.
79. **Erbil Y, Seven R, Bozbora A, Bilgiç L, Gürler N, Öz M, Dinççağ A.** Radyasyon Enteritinde bakteriyel translokasyon . *İst Tıp Fak Mec* **1996**; 59: 1.
80. **O’Riordian MG, Fearon KCH, Ross JA.** Glutamine-supplemented total parenteral nutrition enhances T-lymphocyte response in surgical patients undergoing colorectal resection. *Ann Surg* **1994**; 220: 212-21.
81. **Ogle CK , Oglu JD, Mao JX.** Effect of glutamine on phagocytosis and bacterial killing by normal and pediatric burn patient neutrophils. *JPEN* **1994**; 18: 128-33.

82. **Wallace C, Keast D.** Glutamine and macrophage function. *Metabolism* **1992**; 41: 1016-20.
83. **Ersoy Y.** Metotreksat ve Diğer Sitotoksik İlaçlar. Göksoy T, (ed). Romatizmal Hastalıkların Tanı ve Tedavisi, I. Baskı. İstanbul: Yüce yayım 907-926, **2002**.
84. **Del Maestro RF.** An approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiol* **1980**; 492:153-168.
85. **Kehre JP, Smith JV.** Free radicals in biology: Sources, reactivities and roles in etiology of human diseases; In Frei B(ed): *Natural Antioxidants In Human Health and Disease*. San Diego: Academic Press **1994**: 25-62.
86. **Uysal M.** Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada prooksidanantioksidan dengeyi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim* **1998**; 11: 336-341.
87. **Dündar Y, Aslan R.** Hekimlikte Oksidatif Stres ve Antioksidanlar. 1.Baskı Ankara: Uyum Ajans 4-11, **2000**.
88. **Aslan R, Şekeroğlu MR, Bayiroğlu F.** Serbest Radikal Türlerinin Membran Lipid Peroksidasyonuna Etkileri ve Hücrel Antioksidan Savunma. *Sağlık. Bil. Derg* **1995**; 2: 137-142.
89. **Byung PY.** Cellular Defenses Against Damage From Reactive Oxygen Species. *Physiological Reviews* **1994**; 74 (1):139-172.
90. **Haris ED.** Regulation of Antioxidant Enzymes. *Faseb Jour* **1992**; 6: 2675-2683.
91. **Aslan R, Dündar Y.** Nitric Oxide As Biophysiological Component and A Radical Metabolite. *Konya Hayvancılık Araş. Derg* **1998**; 8: 34-8.
92. **Southorn PA.** Free radicals in medicine. 1. Chemical nature and biological reactions. *Mayo Clin. Proc* **1988**; 53: 381-9.
93. **Southorn PA.** Free radicals in medicine. 2. Involvement in human disease. *Mayo Clin. Proc* **1988**; 63: 390-408.
94. **Halliwell B, Gutteridge JMC.** *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford: Oxford University Press, **1999**.
95. **Thomas MJ.** The Role of Free Radicals and Antioxidants: How Do We Know That They Are Working? *Critical Rev. Food. Sci. and Nutrit* **1995**; 35 (1-2):21-39.
96. **Fridowich I.** Superoxide Dismutase. *Annu. Rev. Biochem* **1975**; 44:147-159.

97. **Gregory EM, Yost JR, Fridowich I.** Superoxide Dismutase of E.Coli: Intracellular Localization and Functions. *J. Bacteriol* **1973**; 115:987-991.
98. **Haber F, Weiss JJ.** The Catalytic Decomposition of Hydrogen Peroxide By Iron Salts. *Proc. R. Soc. Lond. Ser* **1934**; 147:332-351.
99. **Aslan R, Şekeroğlu MR, Bayiroğlu F.** Serbest Radikal Türlerinin Lipid Peroksidasyonuna Etkileri ve Antioksidan Savunma. *Y.Y.Ü. Sağlık Bil. Derg* **1995**; 2 (1):137-142.
100. **Gutteridge JM.** Lipid Peroxidation and Antioxidants As Biomarkers of Tissue Dmage. *Clin. Chem* **1995**; 41 (12):1819-1828.
101. **Halliwel B, Chirico S.** Lipid peroxidation: Its mechanizm, measurement and significance. *Am J Clin. Nutr* **1993**; 57:715-725.
102. **Yagi K.** Lipid Peroxides and Human Diseases. *Chem. and Phy of Lipids* **1987**;45:337-351.
103. **Slater TF.** Overview of Methods Used for Detecting Lipid Peroxidation Methods in Enzymology **1984**; 105:283-293.
104. **Heller J, Sogni P, Barriere E, Tazi KA, Chauvelot-Moachon L, Guimont MC, Bories PN, Poirel O, Moreau R, Lebrech D.** Effect of lipopolysaccaride on TNF-alpha production, hepatic NOS-2 activity, and hepatic toxicity in rats with cirrhosis. *J Hepatol* **2000**; 33:376-381.
105. **Yu BP.** Cellular defences against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev* **1994**; 74:139-162.
106. **Halliwel B.** Oxidative stres, nutrition and health: Experimental strategies for optimisation of nutritional antioxidant intake in humans. *Free Radical Res* **1996**; 25:57-74.
107. **Nakazawa H, Genka J, Fujishima M.** Pathological aspects of active oxygens/free radicals. *Japan J Physiol* **1996**; 46:15-32.
108. **Martinez CM.** Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie* **1995**; 77: 147-161.
109. **Mccord JM. and Fridowich I.** Superoxide Dismutase, An Enzymic Function of Erythrocuprein. *J. Bipl. Chem* **1969**; 244:6049-55.
110. **Marklund S.L, Holme E, Heilner L.** Superoxid Dismutase İn Extrasellüler Fluids. *Clin. Chem. Acta* **1982**; 125:41-51.
111. **Maddipati KR, Marnet LJ.** Characterization of The Major Hydroperoxide Hydroperoxide Reducing Activity of Human Plasma: Purification and Properties of A Selenium-Dependent Glutathione Peroxidase. *J. Bol. Chem* **1987**; 262: 17398-403.

112. **Gutteridge JMC, Peterson SK, Segal AW, Halliwell B.** Inhibition of Lipid Peroxidation by the Iron Binding Protein Lactoferrin. *Biochem. J* **1981**;199: 259-61.
113. **Stocks J, Gutteridge JMC, Sharp RJ, Dormandly TL.** The Inhibition of Lipid Autoxidation by Human Serum and Its Relationship to Serum Proteins and Alpha-Tocopherol. *Clin. Sci. Mol. Med* **1974**; 47:223-33.
114. **Fridovich I.** Superoxide Radicals and Superoxide Dismutases. *Annu Rev Biochem*, **1995**;64 :97-112.
115. **Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ.** Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *J Biol Chem*, **1961**; 193:265-275.
116. **Şule Yıldız Menziletoğlu.** Akut ve Kronik Lösemili Olguların Eritrosit İle Lökosit Süperoksit Dismutaz Enzim Düzeylerinin Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya AD, Adana **1998**.
117. **Ohkawa H, Ohishi N, Tagi K.** Assay for lipid peroxides in animal tissues by Thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, **1979**; 95: 351-358.
118. **Zingarelli B, Szabo C, and Salzman AL.** Blockade of poly (ADP-ribose) synthetase inhibits neutrophil recruitment, oxidant generation and mucosal injury in murine colitis. *Gastroenterology* **1999**;116:335-345.
119. **Zingarelli B, O'Connor M, Hake PW.** Inhibitors of poly (ADP-ribose) polymerase modulate signal transduction pathways in colitis. *European Journal of Pharmacology*. **2003**; 469:183-194.
120. **Elson CO, Sartor RB, Tennyson GS, Riddell RH.** Experimental models of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* **1995**; 109: 1344-67.
121. **Wallace JL, Le T, Carter L, Appleyard CB, Beck PL.** Hapten-induced chronic colitis in the rat: alternatives to trinitrobenzene sulfonic acid. *Pharmacol Toxicol Methods* **1995**, 33: 237-239.
122. **Shibata Y, Taruishi M, Ashida T.** Experimental ileitis in dogs and colitis in rats with trinitrobenzene sulfonic acid - colonoscopic and histopathologic studies. *Gastroent Japan*. **1993**, 28:518-527.
123. **González R, Rodríguez S, Romay C, Ancheta O, González A, Armesto J, Ramirez D, Merino N.** Anti-inflammatory activity of phycocyanin extract in acetic acid-induced colitis in rats. *Pharmacol Res* **1999**; 39: 55-9.
124. **Siddiqui A, Ancha H, Tedesco D, Lightfoot S, Stewart CA, Harty RF.** Antioxidant Therapy with N-Acetylcysteine Plus Mesalamine Accelerates Mucosal Healing in a Rodent Model of Colitis *Digestive Diseases and Sciences* 2006; Vol. 51, No. 4 pp. 698–705.

125. **Freeman BA, Crago JD.** Biology of the disease free radicals and tissue injury. *Lab. Invest* 47; 412-26; **1982**.
126. **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.
127. **Hagar H, Medany A, Etor A, Arafa M.** Ameliorative effect of pyrroldinedithiocarbomose on acetic acid induced colitis in rats. *European Journal of Pharmacology* **2007**; 554: 69-77.
128. **Juteh T, Nalar M, Baranholz Y, Rubinstein A.** Local treatment of experimental colitis in the rat by negatively charged liposomes of catalase TMN and SOD. *Journal of Drug Targeting* **2006**; 14 (3): 155-163.
129. **Williams JG, Hughes LE, Hallett MB.** Toxic oxygen metabolite production by circulating phagocytic cells in inflammatory bowel disease. *Gut* **1990**;31(2):187–193.
130. **Grisham MB, Volkmer C, Tso P, Yamada T.** Metabolism of trinitrobenzene sulfonic acid by the rat colon produces reactive oxygen species. *Gastroenterology* **1991**;101(2):540–547.
131. **Kuralay F, Yildiz C, Ozutemiz O.** Effects of trimetazidine on acetic acid-induced colitis in female Swiss rats. *J Toxicol Environ Health A* **2003**;66 (2):169–179.
132. **Kruidenier L, Kuiper I, van Duijn W.** Differential mucosal expression of three superoxide dismutase isoforms in inflammatory bowel disease. *J Pathol* **2003**; 201(1):7–16.
133. **Drapper H., Hadley M.,** Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods, Enzymol* **1990**;186; 421.
134. **Millar AD, Rampton DS, Chander CL.** Evaluating the antioxidant potential of new treatments for inflammatory bowel disease using a rat model of colitis. *Gut* **1996**; 39(3):407–415.
135. **Çetinkaya A, Bülbüloğlu E, Kurutaş EB, Çıralık H, Kantarçeken B, Büyükeşe MA.** Beneficial effects of N-acetylcysteine on acetic acid-induced colitis in rats. *Tohoku J Exp Med* **2005**;206(2):131–139.
136. **Breuer RI, Soergel KH, Lashner BA.** Short chain fatty acid rectal irrigation for left-sided ulcerative colitis: a randomized placebo controlled trial. *Gut* **1997**; 40: 485-91.
137. **Kaya E, Ceylan A, Kara N, Güven H, Yıldız L.** The effect of L-glutamine on mucosal healing in experimental colitis is superior to short-chain fatty acids *Turk J Gastroenterol* **2007**; 18 (2): 89-94.
138. **Windmueller HG, Spaeth AE.** Uptake and metabolism of plasma glutamine by the small intestine. *J Biol Chem* **1980**; 249: 5070–9.

139. **Souba WW, Klimberg VS, Plumley DA, Salloum RM, Flynn TC, Bland KI, Copeland III EM.** The role of glutamine in maintaining the gut and supporting the metabolic response to injury and infection. *J Surg Res* **1990**; 48: 383–91.
140. **Fox AD, Kripke SA, De Paula J, Berman JM, Settle RG, Rombeau JL.** Effect of glutamine-supplemented enteral diet on methotrexate-induced enterocolitis. *JPEN* **1988**; 12: 325–31.
141. **Fujita T, Sakurai K.,** Efficacy of glutamine-enriched enteral nutrition in an experimental model of ulcerative colitis. *Br J Surg* **1995**; 82: 749–51.
142. **Ameho CK, Adjei AA, Harrison EK, Takeshita K, Morioka T, Arakaki Y, Ito E, Suzuki I, D Kulkarni A, Kawajiri A, Yamamoto S.** Prophylactic effect of dietary glutamine supplementation on interleukin 8 and tumour necrosis factor production in trinitrobenzene sulphonic acid induced colitis. *Gut* **1997**;41:487-493.
143. **Apteker L, Goldin E, Wengrower D, Okon E.** Beneficial effects of glutamine in TNB-induced experimental colitis [abstract]. *Gastroenterology* **1996**; 110: A852.
144. **Castell LM, Bevan SJ, Calder P, Newsholme EA.** The role of glutamine in the immune system and in intestinal function in catabolic states. *Amino Acids* **1994**; 7(3): 231-243.
145. **Cronstein BN, Naime D, Ostad E.** The antiinflammatory mechanism of methotrexate. Increased adenosine release at inflamed sites diminishes leukocyte accumulation in an in vivo model of inflammation. *J Clin Invest* **1993**; 92: 2675–2682.
146. **Egan LJ, Sandborn WJ, Mays DC, Tremaine WJ, Lipsky JJ.** Plasma and rectal adenosine in inflammatory bowel disease: effect of methotrexate. *Inflamm Bowel Dis* **1999**; 5:167–173.
147. **Smolenska Z, Kaznowska Z, Zarowny D, Simmonds HA, Smolenski RT.** Effect of methotrexate on blood purine and pyrimidine levels in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* **1999**; 38: 997–1002.
148. **Feagan BG, Rochon J, Fedorak RN, Irvine EJ, Wild G, Sutherland L.** Methotrexate for the treatment of Crohn's disease. The North American Crohn's Study Group Investigators. *N Engl J Med* **1995**; 332:292–297.
149. **Fraser AG, Morton D, McGovern D, Travis S, Jewell DP.** The efficacy of methotrexate for maintaining remission in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* **2002**; 16:693–697.
150. **Arora S, Katkov W, Cooley J, Kemp JA, Johnston DE, Schapiro RH.** Methotrexate in Crohn's disease: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Hepatogastroenterology* **1999**; 46: 1724-1729.
151. **Feagan BG, Fedorak RN, Irvine EJ, Wild G, Sutherland L, Steinhart AH.** A comparison of methotrexate with placebo for the maintenance of remission in Crohn's disease. North American Crohn's Study Group Investigators. *N Engl J Med* **2000**; 342:1627–1632.

152. **Oren R, Moshkowitz M, Odes S, Becker S, Keter D, Pomeranz I.** Methotrexate in chronic active Crohn's disease: a double-blind, randomized, Israeli multicenter trial. *Am J Gastroenterol* **1997**; 92:2203-2209

153. **Cummings JRF., Herrlinger KR, Travis SPL, Gorard DA, Mcintyre AS, Jewell DP.** Oral methotrexate in ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* **2005**; 21: 385–389.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : İsmail Cem ERAY
Doğum Tarihi ve Yeri : 06.08.1975-AMASYA
Medeni Durumu : Evli –Bir çocuk babası
Adres : Mahvesiğmaz Mah. 79088 Sk.
Çağrı Apt. 3/5
Çukurova-ADANA
Telefon : 0 505 3928450
E-Mail : cem_eray@yahoo.com
Mezun Olduğu Tıp Fakültesi : Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çalıştığı Yerler : Oluktaş Sağlık Ocağı
Şarkışla-SİVAS (2000-2001)
Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi
Kalp-Damar Cerrahisi Bilim Dalı
Edirne (2001-2002)
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Genel Cerrahi Anabilim Dalı (Adana)
Dernek Üyelikleri : Türk Ostomi Derneği
Ulusal Travma ve Acil Cerrahi Derneği
Yabancı Dil : İngilizce