



**T.C.  
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**ASETİK ASİT İLE OLUŞTURULAN DENEYSEL  
KOLİT MODELİNDE İNFLİKSİMAB VE  
TEUCRİUM POLİUM' UN ETKİLERİNİN  
KARŞILAŞTIRILMASI**

**YAN DAL UZMANLIK TEZİ**

**Uzm. Dr. Muhammed Sait DAĞ  
İÇ HASTALIKLARI A.B.D./GASTROENTEROLOJİ B.D.**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof.Dr. Abdurrahman KADAYIFÇI**

**HAZİRAN-2012**

**T.C.  
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**ASETİK ASİT İLE OLUŞTURULAN DENEYSEL  
KOLİT MODELİNDE İNFLİKSİMAB VE  
TEUCRİUM POLİUM' UN ETKİLERİNİN  
KARŞILAŞTIRILMASI**

**YAN DAL UZMANLIK TEZİ**

**Uzm. Dr. Muhammed Sait DAĞ  
İÇ HASTALIKLARI A.B.D./GASTROENTEROLOJİ B.D.**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof.Dr. Abdurrahman KADAYIFÇI**

Bu tez, Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından TF.11.28 proje numarası ile desteklenmiştir

## I. ÖNSÖZ

Eğitimim ve tez çalışmam süresince desteğini esirgemeyen tez danışmanım Prof. Dr. Abdurrahman KADAYIFÇI hocama saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

İhtisas sürem boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım tüm hocalarıma, birlikte çalıştığım uzman arkadaşlarıma ve yardımcı sağlık personeli ekibine ve ayrıca tezimin hazırlanmasında bana yardımcı olan Prof.Dr. Tuncay DEMİRÜREK, Yrd.Doç.Dr. Berna BAŞ ve Uzm.Dr. Zeynel Abidin ÖZTÜRK' e teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan, hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen ve beni bugünlere getiren, evlatları olmaktan gurur duyduğum fedakâr anneme, babama, kardeşlerime ve ayrıca eşime saygı ve sevgilerimi sunarım.

Uzm. Dr. Muhammed Sait DAĞ

Gaziantep, 2012

## II. İÇİNDEKİLER

I. ÖNSÖZ.....	I
II. İÇİNDEKİLER.....	II
III. ÖZET.....	V
IV. ABSTRACT.....	VI
V. KISALTMALAR.....	VII
VI. TABLO LİSTESİ.....	VIII
VII. ŞEKİLLİSTESİ.....	IX
VIII. RESİM LİSTESİ.....	X
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kolonun Genel Özellikleri.....	3
2.1.1. Kolonun Embriyolojisi.....	3
2.1.2. Kolonun Anatomisi.....	3
2.1.3. Kolonun Histolojisi.....	4
2.1.4. Kolonun Fizyolojisi.....	4
2.1.5. Kolonun Mikroflorası.....	4
2.1.6. Ratlarda Kolon Anatomisi.....	4
2.2. İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları.....	5
2.2.1. Epidemiyoloji.....	5
2.2.2. Etyoloji ve Patogenez.....	5
2.2.2.1. Tümör nekrosis faktör- $\alpha$ 'nın Patogenezdeki Rolü..	7
2.2.3. Tutulum Yerleri.....	8
2.2.4. Bağırsak Dışı Tutulumlar.....	8
2.2.5. Klinik.....	9
2.2.6. Endoskopik Bulgular.....	10
2.2.7. Histopatolojik Bulgular.....	11
2.2.8. Laboratuvar.....	11
2.2.9. Komplikasyonlar.....	11
2.2.10. Tedavi.....	12
2.2.10.1. Aminosalisilatlar.....	12

2.2.10.2. İmmün Süpresifler.....	12
2.2.10.3. Antibiyotikler.....	13
2.2.10.4. İmmünomodülatörler.....	13
2.2.10.5. Nutrisyonel ve Destekleyici Ajanlar.....	13
2.2.10.6. Diğer Tedaviler.....	14
2.2.10.7. Cerrahi Tedavi.....	14
2.3. Sitokinler.....	14
2.4. Reaktif Oksijen Türleri (ROT).....	14
2.5. Antioksidanlar.....	15
2.5.1. Endojen antioksidanlar.....	16
2.5.2. Eksojen antioksidanlar.....	16
2.5.3. Antioksidan enzimler.....	16
2.6. Myeloperoksidaz.....	17
2.7. Teucrium Polium.....	18
2.8. İnfliksimab.....	19
2.9. Deneysel Kolit Modelleri.....	20
2.9.1. Asetik Asit Kolit Modeli.....	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
3.1. Hayvanlar.....	21
3.2. Teucrium Polium Sulu Extresinin Hazırlanışı.....	21
3.3. Deneysel Grupları.....	22
3.4. Deneysel Prosedür ve Kolit Oluşturulması.....	22
3.5. Referans İlaç İnfliximab.....	23
3.6. Biyokimyasal Analiz.....	24
3.6.1. Doku Örneklerinin Biyokimyasal Analiz İçin Hazırlanması.....	24
3.6.2. TNF- $\alpha$ Düzeyinin Ölçümü.....	24
3.6.3. Toplam Oksidan Status Ölçümü.....	24
3.6.4. Toplam Antioksidan Kapasite Ölçümü.....	24
3.7. Makroskopik Değerlendirme.....	25
3.8. Mikroskopik değerlendirme.....	25
3.9. İstatistiksel Analiz.....	25

4. BULGULAR.....	26
4.1. Ağırlık Değişikliğinin Değerlendirilmesi.....	26
4.2. Biyokimyasal Analiz Sonuçları.....	27
4.3. Makroskopik ve Mikroskopik Skor Sonuçları.....	29
5. TARTIŞMA.....	34
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	40
7. KAYNAKLAR.....	41

### III. ÖZET

#### ASETİK ASİT İLE OLUŞTURULAN DENEYSEL KOLİT MODELİNDE INFLİKSİMAB VE TEUCRİUM POLİUM' UN ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Uzm.Dr. Muhammed Sait DAĞ

Yan Dal Uzmanlık Tezi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı/Gastroenteroloji Bilim Dalı

Tez danışmanı: Prof.Dr. Abdurrahman KADAYIFÇI

Haziran 2012, 46 sayfa

Gastrointestinal sistemin kronik, tekrarlayıcı ve inflamatuvar hastalıkları olan ülseratif kolit ve Crohn hastalığının henüz küratif bir tedavisi yoktur. Bu çalışmada antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri nedeniyle bölgemizde halk tıbbında yaygın olarak kullanılan Teucrium polium (TP) bitkisinin deneysel kolit modelindeki etkinliğinin araştırılması amaçlandı.

Çalışma için 40 adet Wistar albino cinsi erkek rat alınarak 5 gruba ayrıldı. Birinci grup sham grubu olarak belirlendi ve rektal serum fizyolojik verildi. Diğer 4 gruba rektal yolla % 4 asetik asit verilerek deneysel kolit oluşturuldu. İkinci gruba tedavi verilmezken, 3. gruba 5 mg/kg sc infliksimab, 4. gruba 400 mg/kg gavajla TP ve 5. gruba her iki tedavi birlikte 5 gün verildi. Çalışma sonunda kolon örneklerinde histopatolojik skorlamalar yapıldı. Antiinflamatuvar etkinlik için tümör nekrozis faktör  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) düzeyleri ve oksidatif stres için total antioksidan kapasite (TAK) ve total oksidan status (TOS) düzeyleri ölçüldü. Grup II' de grup I' e göre histopatolojik skorlarda belirgin bozulma, TAK değerinde azalma, TOS değerinde artma ve TNF- $\alpha$  değerinde artma saptandı. Grup III ve V' de tüm parametrelerde grup II' ye göre anlamlı düzelme görüldü. Grup IV' de makroskopik skorlar ve TOS dışındaki parametrelerde grup II' ye göre istatistiki olarak anlamlı düzelme elde edildi. Grup V' de TP ve infliksimabın birlikte verilmesi istatistiki olarak ek iyileşme sağlamadı.

Antioksidan kapasitede artma, histopatolojik skorlarda düzelme ve antiinflamatuvar etkileri nedeniyle TP inflamatuvar bağırsak hastalıkları tedavisinde alternatif bir ilaç olarak değerlendirilebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Teucrium polium, antiinflamatuvar etki, antioksidan etki.

#### IV. ABSTRACT

### THE EFFICIENCY OF TEUCRIUM POLIUM AND INFLIXIMAB IN AN ACETIC ACID INDUCED EXPERIMENTAL RAT COLITIS MODEL

Dr. Muhammed Sait DAG

Department of Internal Medicine/ Division of Gastroenterology

Thesis Advisor: Prof. Dr. Abdurrahman KADAYIFCI

June 2012, 46 pages

Crohn's disease and ulcerative colitis are chronic, recurrent and inflammatory diseases of the gastrointestinal system, and still there is not a curative therapy for them. This study attempts to investigate the efficiency of Teucrium polium (TP) in a rat model which is a traditional medicine and frequently used due to its anti-inflammatory and anti-oxidant features.

Forty Albino Wistar rats were randomly divided into five experimental groups. First group was determined as sham group and only rectal serum physiologic was given. Rectal 4% acetic acid was given to all four groups to create experimental colitis on rat model. The second group was not treated but the third group received 5 mg/kg subcutaneous infliximab. The fourth group received 400 mg/kg TP by gavages and the fifth group received combination of both therapies for five days. At the end of the trial, histopathological scorings were made on dissected colons. In order to measure anti-inflammatory efficiency, tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) levels were detected. Total anti-oxidant capacity (TAC) and total oxidant status (TOS) were used to measure oxidative stress. In contrast to group I, there was remarkable deterioration in histopathological scores, decreases in TAC values, and significant increases in TOS values and TNF- $\alpha$  levels' of group II. There was significant improvement in all parameters of group III and V in contrast to group II. Excluding the macroscopic scores and TOS values, there were statistically significant improvements in group IV. Combination of TP and infliximab did not make a difference.

TP can be considered as an alternative therapy choice in the treatment of inflammatory bowel diseases since it has achieved a significant increase in anti-oxidant capacity, remarkable improvement in histopathological scores and assistive anti-inflammatory feature.

**Key words:** Teucrium polium, anti-inflammatory effect, anti-oxidant effect.



## V. KISALTMALAR

<b>AA</b>	: Araşidonik asit
<b>ASCA</b>	: Anti-saccharomyces cerevisiae
<b>CH</b>	: Crohn hastalığı
<b>CHAI</b>	: Crohn hastalığı aktivite indeksi
<b>DSS</b>	: Dekstran sodyum sülfat
<b>Gİ</b>	: Gastro intestinal
<b>GİS</b>	: Gastro intestinal sistem
<b>GSH</b>	: Glutasyon
<b>GSH Px</b>	: Glutasyon peroksidaz
<b>GSH-R</b>	: Glutasyon redüktaz
<b>GST</b>	: Glutasyon s transferaz
<b>IL</b>	: İnterlökin
<b>İBH</b>	: İnflamatuvar bağırsak hastalığı
<b>KAT</b>	: Katalaz
<b>MDA</b>	: Malondialdehit
<b>MPO</b>	: Myeloperoksidaz
<b>NO</b>	: Nitrik oksit
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	: Süperoksit radikali
<b>OH<sup>-</sup></b>	: Hidroksil radikali
<b>pANCA</b>	: Perinükleer antinötrofil stoplazmik antikor
<b>R</b>	: Radyasyon
<b>ROT</b>	: Reaktif oksijen türleri
<b>SOD</b>	: Süper oksit dismutaz
<b>TBARS</b>	: Tiobarbütürik asit reaktif maddesi
<b>TGF</b>	: Transforme edici büyüme faktörü
<b>Th</b>	: T helper
<b>TNBS</b>	: Trinitrobenzen sülfonik asit
<b>TNF</b>	: Tümör nekrozis faktör
<b>TP</b>	: Teucium polium
<b>ÜK</b>	: Ülseratif kolit

## VI. TABLO LİSTESİ

## Sayfa No

<b>Tablo 1:</b> Ülseratif kolitte Truelove ve Witts klinik aktivite indeksi.....	9
<b>Tablo 2:</b> Crohn hastalığı aktivite indeksi.....	10
<b>Tablo 3:</b> CH' da 1998 Viyana sınıflaması.....	10
<b>Tablo 4:</b> Ülseratif kolitte Rachmilewitz endoskopik aktivite indeksi.....	11
<b>Tablo 5:</b> Deney gruplarının ağırlık değişiklikleri.....	26
<b>Tablo 6:</b> Ortalama TAK, TOS, TNF- $\alpha$ düzeyleri.....	29
<b>Tablo 7:</b> TAK, TOS ve TNF- $\alpha$ düzeylerinin karşılaştırılması.....	29
<b>Tablo 8:</b> Ortalama makroskopik ve mikroskopik skorlar.....	31
<b>Tablo 9:</b> Makroskopik ve mikroskopik skorların karşılaştırılması.....	31

**VII. ŞEKİL LİSTESİ****Sayfa No**

<b>Şekil 1:</b> Th1 ve Th2 aracılı sitokin profilleri ve immun yanıtlar.....	7
<b>Şekil 2a:</b> Deney gruplarında başlangıçtaki ortalama vücut ağırlıkları.....	26
<b>Şekil 2b:</b> 7. gündeki ortalama vücut ağırlığı değişimi.....	26
<b>Şekil 3:</b> Rat kolon dokusunda deney gruplarının ortalama TAK düzeyleri.....	27
<b>Şekil 4:</b> Rat kolon dokusunda deney gruplarının ortalama TOS düzeyleri.....	28
<b>Şekil 5:</b> Rat kolon dokusunda deney gruplarının ortalama TNF- $\alpha$ düzeyleri.....	28
<b>Şekil 6:</b> Deney gruplarında rat kolon örneklerinin makroskopik skor sonuçları..	30
<b>Şekil 7:</b> Deney gruplarında rat kolon örneklerinin mikroskopik skor sonuçları ..	30

**VIII. RESİM LİSTESİ****Sayfa No**

<b>Resim 1:</b> Teucrium polium resimleri.....	19
<b>Resim 2:</b> Açılan karın ön duvarında kolonun makroskopik görüntüsü.....	23
<b>Resim 3:</b> Grup I' de kolon dokusunun dıştan makroskopik görüntüsü.....	23
<b>Resim 4:</b> Grup II' de kolon dokusunun dıştan makroskopik görüntüsü.....	23
<b>Resim 5:</b> Grup I' de açılan kolon dokusunun makroskopik görüntüsü.....	31
<b>Resim 6:</b> Grup II' de açılan kolon dokusunun makroskopik görüntüsü.....	32
<b>Resim 7:</b> Grup I' de kolon mukozasının mikroskopik görüntüsü.....	32
<b>Resim 8:</b> Grup II' de kolon mukozasının mikroskopik görüntüsü.....	32
<b>Resim 9:</b> Grup III' de kolon mukozasının mikroskopik görüntüsü.....	33
<b>Resim 10:</b> Grup IV' de kolon mukozasının mikroskopik görüntüsü.....	33
<b>Resim 11:</b> Grup V' de kolon mukozasının mikroskopik görüntüsü.....	33

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnflamatuvar bağırsak hastalığı (İBH) terimi, gastrointestinal sistem (GİS)' in inflamatuvar, kronik, tekrarlayıcı ve etyolojisi kesin olarak bilinmeyen hastalıkları olan ülseratif kolit (ÜK) ve chron hastalığını (CH) tanımlar. ÜK sadece kalın bağırsağı tutar ve inflamasyon rektumdan başlayıp proksimale doğru yayılır. İnflamatuvar cevap genellikle mukoza tabakası ile sınırlı kalır. CH ise GİS' in herhangi bir yerini tutabileceği gibi başlıca ileum yada ileokolonik bölgeyi tutar ve inflamatuvar olay bağırsak duvarının tüm katları boyunca yayılır (1). Her ne kadar İBH' nin patofizyolojisi kesin olarak belli değilse de immünolojik düzenin bozulması sonucu immün sistem hücreleri tarafından reaktif oksijen radikallerinin üretimi ve salgılanmasının kolit patogenezinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (2,3). Mukoza içine monosit, makrofaj ve T lenfositleri gibi inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu ve bu hücrelerden önemli bir proinflamatuvar sitokin olan tümör nekroz faktör  $\alpha$  (TNF) gibi sitokinlerin ve reaktif oksijen türlerinin (ROT) salgılanması inflamatuvar kaskadı başlatarak doku hasarına sebep olur (3,4).

İBH tedavisinde kullanılan standart ajanların tedavide yetersiz kalmaları ve sahip oldukları yan etki potansiyelleri, başlıca bitkisel tedaviler olmak üzere alternatif tedavi yöntemleri arayışını doğurmuştur (5). Teucrium polium (TP) L. (poligermender, tüylü Kısa Mahmut otu, payaşan, Lamiaceae familyasından) 200' den fazla üyesi bulunan teucrium cinsinin bir alt türüdür. Akdeniz ülkelerinde yabani olarak yetişen teucrium cinsi bitkiler 2000 yıldan fazla süredir ağrı kesici, antiinflamatuvar, antilipidemik ilaç olarak ve hepatit, diyabet, enfeksiyon hastalıklarının tedavisi amacıyla geleneksel halk tıbbında yaygın olarak kullanılmışlardır (6,7). TP' un farklı biyolojik özellikleri; antioksidan, serbest radikal bağlayıcı, antikanser, antimutajenik, antiinflamatuvar, antispasmodik, sitotoksik, hipolipidemik, hipoglisemik, hipotansif, hepatoprotektif, antiülser, antibakteriyel, antifungal ve hafıza geliştirici olarak sıralanabilir (7). TP' nin birçok değişik hastalık spektrumunun tedavisindeki temel özellikleri antioksidan etkilerine bağlı olup birçok çalışmada gösterilmiştir (8-10).

İBH tedavisinde 5-aminosalisilat (ASA) preparatları, kortikosteroidler, antibiyotikler, immün modülatör ilaçlar ve biyolojik ajanlar tek başlarına yada kombine edilerek kullanılırlar. Bir biyolojik ajan olan infliximab, TNF- $\alpha$ ' ya karşı direkt etki gösteren, kimerik yapıda (% 75 insan ve % 25 fare) IgG1 yapısında bir antikordur. TNF- $\alpha$  önemli immünmodülatör ve proinflamatuvar özellikleri olan bir sitokindir ve hem ÜK ve hemde CH patogeneğinde önemli rol oynar (11). İnfliximabın steroide cevapsız İBH'lı hastalarda ve deneysel kolit modellerinde etkili olduğu daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (12,13).

Bu çalışmada bölgemizde çeşitli hastalıkların tedavisinde halk tıbbında yaygın olarak kullanılan ve birçok çalışmada antiinflamatuvar ve antioksidan etkileri gösterilmiş TP bitkisinin, asetik asit ile oluşturulan deneysel kolit modelindeki etkinliğinin TNF- $\alpha$  antikoru infliximab ile karşılaştırılması amaçlandı.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Kolonun Genel Özellikleri**

#### **2.1.1. Kolonun Embriyolojisi**

Gebeliğin 4. haftasında primitif bağırsak foregut, midgut ve hindgut olmak üzere 3 bölüme ayrılır. Midguttan duodenumun 2. kısmından, transvers kolonun proksimal 2/3 kısmına kadar olan ince ve kalın bağırsak bölümleri ve hindguttan transvers kolonun distal yarısı, inen kolon, sigmoid kolon ve rektumun proksimal kısmı oluşur (14).

#### **2.1.2. Kolonun Anatomisi**

İleoçekal valften anüse kadar uzanan yaklaşık 150 cm uzunluğunda içi boş bir organdır. Kolon duvarı; mukoza, submukoza, kas ve seroza tabakalarından oluşur. Dıştaki longitudinal kas tabakasının lifleri birleşerek tenya denilen bantları meydana getirir ve bu bantlar arasındaki keselere haustra koli denir. Kolon bölümleri proksimalden distale doğru çekum, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon, sigmoid ve rektumdan oluşur. Çıkan, inen kolonlar, hepatic ve splenic fleksuraların arka yüzleri retroperitoneal ve transvers kolon, çekum ve sigmoid kolon intraperitoneal yapılardır. Çekum kolonun ilk bölümüdür ve 7,5- 8,5 cm çapı ile en geniş yeridir. İç yan-arka kısmına kör tüp şeklindeki appendiks açılır. Posteromedialinde ise terminal ileum kaslarının kalınlaşarak oluşturduğu ileoçekal valv vardır. Çıkan kolon 20 cm uzunluğunda olup karaciğer sağ lob civarında hepatic fleksurayı oluşturur. Transvers kolon yaklaşık 50 cm uzunluğunda olup splenic fleksura olarak devam eder. Tamamen periton ile örtülüdür. İnen kolon splenic fleksuradan sigmoide kadar olan 25 cm ' lik kolon bölümüdür. Sigmoid kolon yaklaşık 40 cm uzunluğunda olup, kolonun en dar yeridir. Rektum kolonun 15 cm uzunluğundaki son bölümü olup, anüste sonlanır, haustra ve tenya içermez (14,15).

Tüm ince bağırsaklar, çekum, çıkan kolon ve transvers kolonu superior mezenterik arter ve sol kolonu inferior mezenterik arter besler. Genel olarak kolonun venleri aynı isimdeki arterleri takip ederler. Lenfatik drenajda benzer bir yol takip eder.

Kolonun sempatik innervasyonu T11-L3 ve parasempatik innervasyonu n. vagus ve S1-S3' sinir pleksuslarından sağlanır (15).

### **2.1.3. Kolonun Histolojisi**

Kolon duvarı, histolojik olarak içten dışa; mukoza, submukoza, muskuler kat ve seroza olmak üzere 4 tabakadan meydana gelir. Mukoza içten dışa doğru; epitel, lamina propria ve muskularis mukozadan, muskularis tabakası içte sirküler ve dışta longitudinal kas tabakalarından ve seroza ise ince ve gevşek bir bağ dokudan oluşur (14).

### **2.1.4. Kolonun Fizyolojisi**

Kolonda retrograt, segmental ve kitle hareketi olmak üzere 3 tür hareket tanımlanmıştır. Kolon sindirim atık deposu ve atık iletimini sağlaması dışında sıvı elektrolit dengesinin oluşmasında da önemli rol oynar. Su, sodyum ve klor absorbe edilirken, potasyum, bikarbonat ve mukus sekrete edilir. Kolona gelen su ve elektrolitlerin % 90' da fazlası absorbe edilir. Kolon yine sahip olduğu bakteriler yoluyla K vitamini, B12 vitamini, tiamin, riboflavin ve çeşitli kolon gazlarının üretilmesini sağlar.

### **2.1.5. Kolonun Mikroflorası**

Doğumda steril olan bağırsak mukozası, doğum sonrası süratle kolonize olur. Feçes kuru ağırlığının % 90' ını bakteriler oluşturur. Anaeroplara oranın 1/1000 kadardır. En sık bacterioides türleri ve E. coli' ye rastlanır. Normal şartlarda kolonun mukozal yapısı lümen içindeki bakterilerin kolon duvarına kolonizasyonuna ve invazyonuna engel olur (16).

### **2.1.6. Ratlarda Kolon Anatomisi**

İnsan ve rat gastrointestinal sistem anatomisi birbirine oldukça benzer yapıdadır. Rat kolonu ortalama 21-24 cm uzunluğundadır. S şeklinde karaciğerin viseral yüzünü takip ederek önce sağa, sonra orta hatta yönelir. İnsan kolonunda olduğu gibi çekum, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon, sigmoid ve rektumdan oluşur. İnce bağırsak ile çekum arasında ilioçekal valv yapısı bulunmaz. Makroskopik olarak ayırt edilebilen tenya yapısı yoktur. 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 (17).

## **2.2. İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları**

Sebebi tam olarak bilinmeyen, aktivasyon ve remisyon periyodları ile seyreden, GİS' i değişik lokalizasyonlarda tutan, çeşitli ekstraintestinal komplikasyonlara sebep olan, kronik, inflamatuvar hastalıklardır. İki majör formu ÜK ve CH olup, kesin ayırım yapılamayan % 10-15' lik kısmı ise indetermine kolit olarak sınıflandırılır. ÜK, rektumdan proksimale doğru değişik uzunluklarda, arada sağlam alan olmaksızın kolon mukozasında diffüz inflamasyona sebep olurken, CH ağızdan anüse kadar tüm gastrointestinal (Gİ) traktüsü segmenter ve transmural tarzda tutan inflamasyon yapar. Her iki hastalıktada önemli ekstraintestinal tutulumlar görülür (1). İnflamasyonun şekli, klinik seyir, komplikasyonlar, tedavi ve prognozları farklı olduğundan bu iki hastalığın ayrımının yapılması oldukça önemlidir.

### **2.2.1. Epidemiyoloji**

Ülseratif kolit ve CH' nin görülme sıklığı coğrafik bölgelere göre farklılık gösterir. Her iki hastalıkta bölge olarak Kuzey Avrupa ülkelerinde, ırk olarak Kafkas ırkında ve etnik köken olarak yahudilerde daha fazla görülmektedir. ÜK insidansı 2-10/100.000 ve prevalansı 35-100/100.000 iken, CH' nin insidansı 1-6/100.000 ve prevalansı 10-100/ 100.000 arasında değişir. Her iki hastalık da herhangi bir yaşta görülebilmekle beraber en sık 20-40 yaşları arasında başlar ve 55-65 yaşlarında ikinci bir pik yapar. İBH' da genel olarak kadın erkek oranı eşit kabul edilir. Ancak ÜK % 20-30 erkeklerde ve CH benzer oranda kadınlarda daha sık görülür. Yine yüksek sosyoekonomik düzeye sahip olanlarla, şehirde yaşayanlarda İBH' nin daha sık görüldüğü bildirilmiştir (18,19).

### **2.2.2. Etyoloji ve Patogenez**

Yapılan birçok araştırmaya rağmen İBH etyolojisi ve patogenezini tam olarak anlayamamıştır. Ancak muhtemelen; çevresel ve genetik faktörlerin sebep olduğu bozulmuş immün sistem regülasyonu, Gİ lümen florasındaki mikroorganizmalara ve diyetle alınan antijenlere bağlı anormal Gİ lümen ile ilgili faktörler ve lüminal faktörlerin

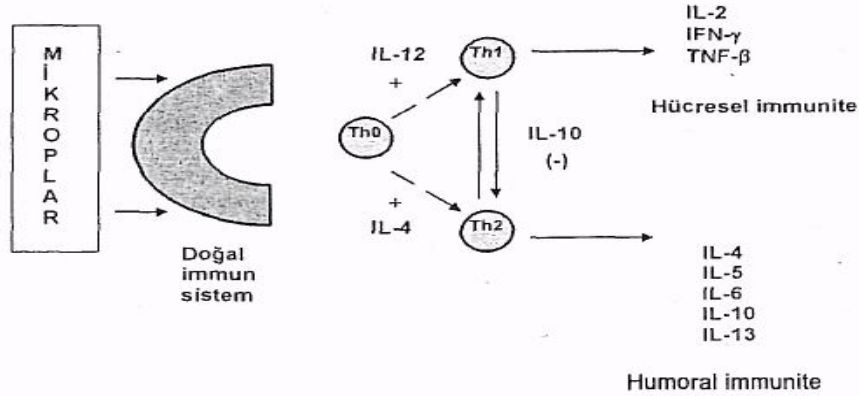
bağırsak mukozasına penetrasyonuna izin veren defektif Gİ mukozal bariyer varlığı gibi bir ya da daha fazla faktörün beraberce etkili olduğudur (5).

İnflamatuvar bağırsak hastalıklarının genetik bir temeli vardır. CH gelişiminde genetik faktörler ÜK' e göre daha önemlidir. Birinci derece akrabaları arasında İBH bulunan birinin hastalığa yakalanma riski 30-100 kat artar ve hastaların yaklaşık %15' inin birinci derece akrabalarında İBH vardır. Yine monozigotik ikizlerde dizigotik ikizlere göre İBH' nın daha sık görüldüğü tespit edilmiştir. HLA DR-2, DR-B1\*0103 doku grubu antijenleriyle ÜK arasında ve DQB1\*4 ile CH arasında pozitif korrelasyon olduğu bildirilmiştir. Yine ÜK' e sıklıkla eşlik eden perinükleer boyalı antinötrofil stoplazmik antikor (pANCA)' un genetik olarak geçtiği düşünülmüştür (18).

Birçok çevresel faktör İBH patogeneğinde suçlanmış, ancak bunların hiçbiri kesin olarak kanıtlanamamıştır. Rafine gıda, aşırı karbonhidrat, nişasta ve yağ alımı, lifli gıda ile beslenme, kahve, alkol, tahıl, hububat ve anne sütünün etiyolojideki rolüne ait çelişkili bilgiler vardır. Sigara ÜK' da koruyucu, CH' da ise uyarıcı ve alevlendirici etkilidir. Yine oral kontraseptif kullananlarda CH sıklığı artmıştır. Nonsteroid antiinflamatuvar ajanların ve psikolojik stresin hastalığı alevlendirdiği ya da şiddetini arttırdığı bildirilmiştir. Kızamık enfeksiyonu ve aşısının CH riskini artırdığı iddia edilmiştir. Yine ÜK' da E. coli ve CH' da M. paratuberkülosis etyolojik ajan olarak suçlanmışlardır (18,20).

Normal şartlarda bağırsak lümeni içindeki antijenik yük ile mukozal immün sistem arasında fizyolojik sınırlar içinde tutulan sürekli bir inflamasyon vardır. İBH ise bu durumun abartılmış halidir. Genetik ve çevresel etkenlerle duyarlı hale gelmiş ve permeabilitesi artmış bağırsak mukozasına tetikleyici ajanın nüfus etmesiyle inflamasyon başlar. Bu antijenler, makrofajlar vasıtasıyla mukozal T lenfositlerine sunulur ve inflamasyonu alevlendirecek olan birçok sitokin salgılanır. CH' da interlökin (IL) 1, IL-2, TNF- $\alpha$ , interferon- $\gamma$  gibi daha çok T helper-1 (Th) tipi sitokinler salgılanırken, ÜK' de IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 gibi Th-2 tipi sitokinler salgılanır. Ancak ÜK ve CH' da hem Th-1 ve hem de Th-2 tipi sitokinler değişik oranlarda artmışlardır. Th-2 sitokinler B lenfositlerini uyararak aşırı miktarda IgG salgılanmasına sebep olur. Artmış IgG kompleman ve fagositlerin aktivasyonuna yol açarak inflamasyonu daha da alevlendirir. Ortamda bulunan IL-8 nötrofilleri aktive eder ve böylece açığa çıkan reaktif oksijen türleri ve başlıca interferon- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  gibi inflamatuvar sitokinler

mukozal hücreleri zarara uğrattılar. Yine siklooksijenaz 1 yoluyla üretilen lökotrien B4 kemotaksisi artırarak inflamasyonun şiddetlenmesini sağlar. Defans mekanizmalar olarak prostoglandin E2, nitrik oksit ve transforme edici büyüme faktörü (TGF) salgılanır. TGF artışı ise epitel hiperproliferasyonuna ve malignite riskinde artışa neden olur (2-4,18).



**Şekil 1:** Th1 ve Th2 aracılı sitokin profilleri ve immün yanıtlar (18)

### 2.2.2.1. Tümör nekrozis faktör- $\alpha$ 'nın Patogenezdaki Rolü

TNF- $\alpha$  monosit, makrofaj ve T lenfositlerden salgılanan 17-kD büyüklüğünde proinflamatuvar bir sitokindir. Biyolojik aktivitesi latel şok, kaşeksi ve akut faz yanıtının indüksiyonudur. IL-1, IL-6, IL-8 ve MCP-1 sekresyonunu stimüle eder, adezyon moleküllerinin sekresyonunu artırır ve majör metalloproteinaz indükleyen sitokin olarak tanımlanır (21). Aynı zamanda T lenfositleri tarafından inflamatuvar sitokin  $\gamma$ -interferon ve IL-2' nin üretimini stimüle eden bir kofaktördür. TNF- $\alpha$  salgılanması spesifik bir metalloproteinaz olan TNF- $\alpha$  convertaz aracılığıyla olur. Sekresyon sonrası TNF- $\alpha$  TNF reseptör 1(TNFR) ve TNFR2 olarak adlandırılan transmembran reseptörlerine bağlanır. Solübl TNF, bir doğal TNF inhibitörü olarak etki gösterir ve TNF' yi nötralize eder. Hücre ölümü, hedef gen transkripsiyonun değişimi ve sitokin salınımı TNFR1 aracılığıyla olur. TNFR2 antiapoptotik etki ile hücre sürveyini ve proliferasyonunu artırır (22).

TNF- $\alpha$  hem ÜK ve hemde CH' ın patogenezinde önemli rol oynayan bir sitokindir. ÜK' de hücre aracılı inflamatuvar süreç lokal mukozal inflamasyonda önemli rol oynamazken, Th-2 lenfositlerin regülasyonundaki bozulma inflamasyon, hücre nekrozu ve mukozal hasara sebep olan antikor üretimine sebep olur (21). CH' da

kronik inflamasyon özellikle TNF- $\alpha$  olmak üzere proinflamatuvar sitokinlerin üretimine katkıda bulunur. ÜK' li hastaların kolon biopsi örneklerinin incelendiği bir çalışmada lamina propriada TNF- $\alpha$  konsantrasyonunun artmış olduğu ve buradaki mononükleer hücrelerin fazlaca TNF- $\alpha$  sekrete ettikleri gösterilmiştir. Sekresyon artışıyla da mukozal inflamasyonun yoğunluğu ve ciddiyetinin korrele olduğu görülmüştür (23). Yine aktif CH'lı hastaların serumlarında TNFR1 ve TNFR2 düzeylerinin artmış olduğu ve bir anti-TNF- $\alpha$  ajan olan infliksimab tedavisi sonrası düzeldiği gösterilmiştir (24). İnfliksimab hem solubl ve hemde transmembran TNF' yi nötralize eder, kompleman fiksasyonu aracılığıyla TNF üreten hücreleri lizise uğratar, IgG1 Fc parçası aracılığıyla T lenfositlerine sitotoksik ve apoptotik etki gösterir (25).

### 2.2.3. Tutulum Yerleri

Hedef organ ÜK için kolondur. Tutulum rektum ile sınırlı olduğunda hemorajik proktit ya da ülseratif proktit denir. Rektum + sigmoid kolon tutulursa distal tutulumlu, rektum + sigmoid + inen kolon tutulursa sol kolon tutulumlu, rektum + sigmoid + inen + transvers kolon tutulursa yaygın tutulumlu ya da extansif ÜK, çekuma kadar olan tüm kolon tutulursa pankolit denir. Vakaların % 40-50'sinde distal kolon tutulumu, % 40'ında sol kolon tutulumu ve % 20'sinde pankolit görülür. Pankolitlerin az bir kısmında terminal ileumda 'back wash ileitis' denilen inflamasyon görülür. CH' da ise hedef organ tüm sindirim kanalı olup, en çok terminal ileum ve çekum-sağ kolon bölgesi tutulur. Vakaların % 40-55' inde ileo-kolonik tutulum, % 30-40' ında sadece ileal tutulum, % 15-25' inde sadece kolon tutulumu görülür. Üst GİS tutulumu % 10 ve perianal tutulum % 3-36 vakada görülür (18).

### 2.2.4. Bağırsak Dışı Tutulumlar

Bağırsak dışı tutulumlar İBH vakalarının % 15-25' inde görülür. Deri bulgularından pyoderma gangrenosum ve eritema nodosum ÜK' de daha sık görülür. Nadiren Sweet sendromu görülebilir. Göz bulguları olarak anterior üveit, episklerit ve konjoktivit eşlik edebilir. Enteropatik artrit denilen gezici artrit % 10-15 vakada görülür ve büyük eklemleri tutar. Sakroileit vakaların % 12-15' inde hastalığa eşlik eder. Yine nadir olarak coomb's pozitif hemolitik anemi, arteriyal ve venöz trombozlar görülebilir.

ÜK' de daha fazla olmak üzere tüm İBH' ların % 3' ünde primer sklerozan kolanjit tabloya eşlik eder. Karaciğerle ilgili en sık anomali yağlanmadır (18,26).

### 2.2.5. Klinik

Kanlı, mukuslu ishal ÜK' nin tipik semptomu olup vakaların % 90-95' inde görülür. Yine tenezm, karın ağrısı, ateş, halsizlik, kilo kaybı diğer klinik yakınmalardır. CH' da ise semptom ve bulgular tutulum yerine göre değişmekle beraber sağ alt kadran ya da supra pubik karın ağrısı tipik semptomdur. Sulu ishal, tenesm, ateş, kilo kaybı, çocuklarda büyüme gelişme geriliği ve komplikasyonların oluşturduğu semptom ve bulgularada rastlanır (18). ÜK' in klinik formları kronik intermittan, kronik devamlı ve akut fulminan form olarak 3' e ayrılır. Klinik davranış şekline göre CH ise inflamatuvar, obstrüktif-stenozan ve fistülizan-penetrant hastalık olarak 3' e ayrılır. İnflamatuvar formda ishal, karın ağrısı ve ateş ön plandayken, stenozan formda intestinal obstrüksiyon bulguları tabloya hakimdir. fistülizan-penetrant formda CH'nın transmural inflamasyonu nedeniyle bir ucu lümende ve açık, bir ucu serozada veya serozanın dışına taşan fistül yapıları meydana gelir ve bulgular fistülün açıldığı bölgeye göre değişir. ÜK' de klinik aktiviteyi değerlendirmek üzere Truelove ve Witts kriterleri (Tablo 1) eski olmasına rağmen halen kullanılmaktadır (27). CH' da klinik aktivite değerlendirilmek üzere Crohn hastalığı aktivite indeksi (CHAI) ve Harvey-Bradshaw klinik aktivite indekleri kullanılmaktadır. CHAI hastalığın son 7 gününü değerlendiren bir indeks olup, CHAI skorunun <150 olması klinik remisyonu, 150-450 arası olması orta şiddette hastalığı ve >450 olması ise ciddi-aktif hastalığı (Tablo 2) gösterir (28). CH'nın klinik davranışı esas alınarak 1998' de Viyana sınıflaması (Tablo 3) yapılmıştır (29).

**Tablo 1:** Ülseratif kolitte Truelove ve Witts klinik aktivite indeksi (27)

	<b>Hafif</b>	<b>Orta</b>	<b>Ciddi</b>
İshal sayısı	<4	4-6	>6
Dışkıda kan	Yok/çok az	Az-orta	Çok
Ateş	Yok	<37,5°	>37,5°
Nabız dakika sayısı	Normal	Normal/hafif yüksek	>90
Hemoglobin	Normal/biraz düşük	Orta derecede düşüş	<7,5 gr/dl
Sedimentasyon	<30 mm/h	Hafif yüksek	>30 mm/h

**Tablo 2:** Crohn hastalığı aktivite indeksi (28)

<b>Kullanılan Parametre</b>	<b>Skor</b>	<b>Ağırlık</b>
Son 7 gündeki sulu ya da yumuşak dışkı sayısı	X1	2
Son 7 gündeki günlük karın ağrısı sayısının toplamı (0=hiç, 1=hafif, 2=orta, 4=şiddetli)	X2	5
Son 7 gündeki genel iyilik hali (0=genellikle iyi, 1=orta, 2=kötü, 3=çok kötü, 4=aşırı derecede kötü)	X3	7
Barsak dışı belirtilerin sayısı (A=artrit/artralji, B=iritis/üveitis, C=e. nodosum/p. gangrenosum/aftöz stomatit, D=anal fissür, fistül ya da abse, E=diğer fistül, F=son bir hafta içinde ateş > 37.8°C)	X4	20
Diyare için opiyat kullanımı (0=Hayır, 1=Evet)	X5	30
Abdominal kitle (0=yok, 2=şüpheli, 5=kesin)	X6	10
Bulunan hematokritin erkeklerde 47'den, kadınlarda 42'den çıkarılması	X7	10
Standart değer altında bulunan kilonun yüzdesi	X8	6

**Tablo 3:** CH' da 1998 Viyana sınıflaması (29)

<b>Yaş (Age)</b>	A1 A2	<50 >50
<b>Tutulum yeri (Location)</b>	L1 L2 L3 L4	Terminal ileum tutulumu Kolon tutulumu İleokolonik tutulum Üst GİS tutulumu
<b>Klinik davranış (Behavior)</b>	B1 B2 B3	İnflamatuvar Strüktüran Penetran

### 2.2.6. Endoskopik Bulgular

Hem ÜK hem de CH' ın tanı, tedavi ve takibinde kolonoskopi son derece önemlidir. CH' da ayrıca üst GİS tutulumunu değerlendirmek üzere üst GİS endoskopide yapılmalıdır. ÜK' ın kolonoskopik incelemesinde mukozad değişik derecelerde ödem, eritem, vaskülarite kaybı, granülarite, frajilite, eksuda, mukus, ülserler, pseudopolipler ve haustralarda silinme görülebilir. ÜK' da hastalığın endoskopik aktivitesini değerlendirmek için Rachmilewitz endoskopik aktivite indeksi (Tablo 4) kullanılır (30). CH' da ise tamamen sağlam mukozaya, küçük aftöz ülserler ya da coğrafik şekilli daha büyük ülserler ve darlıklar görülür. Bağırsak eksenine dik ve paralel ülserlerin sağlam mukozaya adacıklarını çevirmesiyle de kaldırım taşı görünümü oluşur.

**Tablo 4:** Ülseratif kolitte Rachmilewitz endoskopik aktivite indeksi (30)

Endoskopik parametreler	Ciddiyeti	Skor
Granülasyon	Var	0
	Yok	2
Vasküler görünüm	Normal	0
	Azalmış	1
	Kaybolmuş	2
Frajilite	Yok	0
	Dokunma ile	2
	kanama	4
	Spontan kanama	4
Mukozal hasar (mukus, fibrin, eksuda, erozyon, ülser)	Yok	0
	Hafif	2
	Belirgin	4

Toplam skorun  $\geq 4$  olması aktif hastalık,  $<4$  olması remisyonda hastalık olarak kabul edilir.

### 2.2.7. Histopatolojik Bulgular

Şiddetli hastalık dışında ÜK sadece mukozayı tutar. Hastalık aktivitesiyle paralel nötrofil ve mononükleer hücre infiltrasyonu ve crypt abseleri görülür. CH ise transmural tutulum yapar, ancak histolojik anormallikler lamina propria ve submukozada görülür. Yoğun mononükleer hücreler ve nonkazeifiye granülomlar görülebilir (31).

### 2.2.8. Laboratuvar

Dışkı incelemesinde, inflamatuvar ishal nedeniyle lökositler görülür. Kanda, anemi, lökositoz, trombositoz, hipoalbuminemi, sedimentasyon hızı ve C-reaktif protein düzeyinde artış görülür. ÜK' da % 50-85 pANCA (+) iken, CH' da sıklıkla anti-saccharomyces cerevisiae (ASCA) (+)' liği saptanır (31).

### 2.2.9. Komplikasyonlar

Her iki hastalıktada bağırsak dışı tutulumlar olan sistemik komplikasyonlar ve tutulum yerleriyle ilgili lokal komplikasyonlar görülür. ÜK' daki lokal komplikasyonlar; perianal lezyonlar, perforasyon, toksik megakolon, masif kanama, strüktür, pseudopolipler, displazi ve kolon kanseri iken, CH' da; perianal hastalıklar, fistül, abse ve bağırsak obstrüksiyonudur (18).

### 2.2.10. Tedavi

İBH'da tedavinin amacı; remisyon indüksiyonunun sağlanmasıyla semptomların ortadan kaldırılması, elde edilen remisyonun idamesi, komplikasyonların tedavisi ve önlenmesi olarak sıralanabilir. Tedavi seçenekleri hastalığın tutulum yerine, yaygınlığına, şiddetine, komplikasyonların varlığına ve önceki tedavilere verilen cevaba göre belirlenir. Bu amaçla 5-ASA preparatları, kortikosteroidler, antibiyotikler, immün modülatör ilaçlar ve biyolojik ajanlar tek başlarına yada kombine edilerek kullanılırlar (18,32).

#### 2.2.10.1. Aminosalisilatlar

İBH tedavisinde hem remisyon indüksiyonunda hem de idamesinde kullanılırlar. Bunlardan ilk kullanılan sulfasalazine, antibakteriyel sulfapyridine ve antiinflamatuvar 5-ASA' dan oluşmuştur. Yan etkilerden sorumlu sulfapyridine, taşıyıcı kısım olup esas etkiden 5-ASA' lar sorumludur. Sulfasalazinin baş ağrısı, bulantı, kusma, dispepsi, kemik iliği süpresyonu gibi yan etkileri nedeniyle balsalazide, mesalamine ve olsalazine gibi saf 5-ASA preparatları geliştirilmiştir. Remisyon indüksiyonu için sulfasalazine 3-6 gr/gün ve mesalamine 3,2-4,5 gr/gün dozlarında kullanılır. Distal tutulumlu hastalık varlığında ise topikal formları kullanılır. Muhtemel etkileri; IL-1 ve TNF- $\alpha$  üretimi ve TNF- $\alpha$ ' nın reseptörüne bağlanmasının inhibisyonu, siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzim inhibisyonu, güçlü antioksidan ve serbest radikal toplayıcı özellikleri, inflamatuvar hücrelerden adezyon molekülü ekspresyonunun inhibisyonu olarak sıralanabilir (32).

#### 2.2.10.2. İmmün Supresifler

**Kortikosteroidler;** 5-ASA' larla remisyon girmeyen hastalarda topikal veya sistemik olarak kullanılırlar. Uzun süreli kullanımda ciddi sistemik toksisiteleri olduğundan sadece remisyonun indüksiyonu amacıyla kısa süreli olarak kullanılırlar. Budesonid, karaciğerden % 90 oranında ilk geçiş eliminasyonuna uğrayan sistemik yan etkileri çok düşük olan topikal etkili steroiddir. İleum ve proksimal kolonda salınan formülü nedeniyle ileal, ileokolonik ve kolonik tutulumlu CH' da 9 mg/gün dozunda oral olarak ve distal tutulumlu ÜK' da ise topikal formda kullanılır. Remisyon indüksiyonunda çoğunlukla prednisolon 40-60 mg/gün oral olarak yada cevap



alınmazsa parenteral olarak kullanılır. Fosfolipaz A2' yı inhibe ederek, prostoglandin ve lökotrienlerin düzeyini azaltırlar, hümmoral ve hüccresel immün yanıtlar üzerine immümsüpresif etki gösterirler (32).

**Thiopurinler;** Azothiopurin ve 6-merkaptopurin DNA sentezi ve hücre proliferasyonunu inhibe eden purin antagonistleridir. Fistülizan CH ve yılda iki veya daha fazla nüks eden, steroid bağımlı, kronik aktif ve yaygın tutulumlu ÜK' de remisyunun sağlanması ve sürdürülmesinde kullanılırlar. Azothiopurin 2,5 mg/kg/gün dozunda kullanılır ve etkisi 17 hafta sonra başlar. Kemik iliğı toksisitesi ve uzun dönem kullanımda malignite riskinde artış önemli yan etkileridir (32).

**Methotrexate ve Siklosporin;** Methotrexate bir folik asit antagonisti olup, 15 mg/hf dozunda kullanılır. Alternatif ilaç olup ciddi yan etkiler nedeniyle kullanımı sınırlıdır. Siklosporin steroide refrakter akut şiddetli hastalıkta 4 mg/kg/ gün dozunda akut etki sağlamak amacıyla kullanılır. T lenfositlerini inhibe eder. Ciddi nefrotoksik yan etkisi olabilir (18).

### 2.2.10.3. Antibiyotikler

En çok kullanılanlar metronidazol ve siprofloksasin olup, tek başlarına ya da diğer ilaçlarla kombine olarak aktif CH' de remisyonu sağlayabilirler. Yine fistül ya da intraabdominal abse varlığında faydalıdırlar. Siprofloksasin ÜK' de remisyonu kolaylaştırabilir (18).

### 2.2.10.4. İmmünomodülatörler

İnfliksimab bir TNF- $\alpha$  antikoru olup diğer tedavilere dirençli ÜK ve fistülizan CH' da 5 mg/kg dozunda kullanılır. Yine CDP571, etanercept, thalidomid, natalizumab, IL-10, IL-11, ICAM-1 antisense oligonükleotid gibi immünomodülatör etkili ajanlar özellikle CH tedavisinde kullanılmış ve farklı sonuçlar elde edilmiştir (32).

### 2.2.10.5. Nutrisyonel ve Destekleyici Ajanlar

Total parenteral ve enteral beslenme rejimleri aktif CH'de remisyunun sağlanmasında ve fistül, darlık ve malabsorbsiyon gibi komplikasyonların varlığında zorunlu olarak kullanılırlar. Kısa zincirli yağ asitleri topikal olarak ÜK' de faydalıdırlar.

Folik asit, kalsiyum, D vitamini, B<sub>12</sub> vitamini ve kolestiramin destekleyici ajanlar olarak kullanılabilirler (18).

#### **2.2.10.6. Diğer Tedaviler**

Transdermal nikotin, heparin, zileuton, balık yağı, lidokain, ketotifen, klorokin, hidroksiklorokin, hiperbarik oksijen, intravenöz immünglobulin ve lökoferez ile İBH' de başarılı sonuçlar bildirilmişse de yaygın kullanım alanı bulamamışlardır (18).

#### **2.2.10.7. Cerrahi Tedavi**

ÜK' da tıbbi tedaviye direnç, perforasyon, toksik megakolon, displazi ve kolorektal kanser gibi komplikasyonların varlığı ve hayat kalitesini bozan kronik aktif hastalık varlığında cerrahi tedavi uygulanır. CH' da tıbbi tedavinin yetersizliği, fistül, abse, obstrüksiyon, kanama ve perforasyon varlığında yine cerrahi tedavi düşünülür (18).

### **2.3. Sitokinler**

Nonspesifik immün sistemin işleyişini düzenleyen proteinlerdir. Hücre büyümesi, doku tamiri ve yeniden yapılanması, immün cevabın düzenlenmesinde hücreler arasında kimyasal haberleşmeyi sağlarlar (33). Sitokinler doğal immünitede, mononükleer fagositler ve natural killer hücrelerinden üretilirken, kazanılmış immünitede T hücreleri tarafından üretilirler. TNF- $\alpha$ , IL-1 ve IL-6 doğal immün cevapta en önemli sitokinlerdir. Sitokinler proinflamatuvar ve antiinflamatuvar olarak adlandırılırlar. Proinflamatuvar sitokinler inflamasyonun başlangıcında salınırlar ve immün cevabın başlaması ve sürdürülmesi için gereklidirler. İnsan immün cevabında temel proinflamatuvar sitokinler TNF- $\alpha$  ve IL-1' dir. IL-10 ise bir antiinflamatuvar sitokindir.

### **2.4. Reaktif Oksijen Türleri**

Atomik ya da moleküler yapılarıdaki çiftlenmemiş tek elektron bölümlerine serbest radikal adı verilir. Başka moleküllerle çok kolay elektron alışverişine giren bu moleküllere de ROT denir. ROT' lar, süperoksit radikali (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), hidroksil radikali (OH<sup>-</sup>), alkoksil radikali (LO<sup>-</sup>), nitrik oksit (NO), peroksil radikali (LOO<sup>-</sup>), hidrojen peroksit

(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), lipid hidroperoksit (LOOH), hipoklorik asit (HOCl) ve singlet oksijen olarak sıralanabilir (34).

Süperoksit radikali aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. Direkt zararlı etkiden çok, asıl oksidan etkisi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaynağı ve geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olmasından kaynaklanır. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>2</sub><sup>-</sup> süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile dismutasyonu sonucu veya spontan olarak üretilir. O<sub>2</sub><sup>-</sup> aksine membranları geçen, sitozole diffüze olan uzun ömürlü bir oksidandır. OH<sup>-</sup> ise O<sub>2</sub><sup>-</sup> ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' in reaksiyonu sonucu oluşur ve bilinen en reaktif ve zarar verici radikaldir (34,35).

ROT' lar sıklıkla lipid yapılarla oluşur. Hücre membranında bulunan lipidlerin serbest radikallerle reaksiyona girmesi peroksidasyona neden olur. Bunun en iyi göstergesi malondialdehid (MDA) olup oksidan hasarı göstermede sıklıkla kullanılır. MDA seviyesi lipid peroksidasyonunun şiddetiyle orantılı olarak artar. Lipid peroksidasyonu hücresel bileşenlere en çok zarar veren reaksiyonlardan biridir (34).

Birçok anabolik ve katabolik reaksiyon sonucu ROT' lar oluşur. Sağlıklı bir organizmada oksidan ve antioksidan sistemler belirli bir denge içinde bulunurlar. Travma, iskemi, infeksiyonlar, stres, hemoraji, yaşlanma, hiperglisemi ve radyoaktivite maruziyeti gibi oksidan üretiminin arttığı yada antioksidan düzeyinde azalma olduğu durumlarda oksidan moleküller organizmanın yapı elemanlarında; hücre organelleri ve membranlarının lipid ve protein yapısının bozulması, DNA hasarı, mitokondrial aerobik solunumun bozulması, elastaz, proteaz, fosfolipaz, lipoksigenaz, siklooksigenaz, ksantinoksidaz gibi litik enzimlerin aktivasyonu, hücre içi yararlı enzimlerin etkisizleştirilmesi, trombosit agregasyonunda artış, dokulara fagosit toplanmasının kolaylaşması gibi zararlı etkilere sebep olurlar (34,35).

## 2.5. Antioksidanlar

Organizmadaki birçok biyokimyasal reaksiyon sonucu oluşan ROT' ların zararlı etkilerine karşı organizmayı koruyan antioksidan sistemler vardır. Antioksidanlar ROT' lara karşı; 1) ROT oluşmasını engelleyerek (demir ve bakır iyonlarını bağlayan metal şelatörler), 2) ROT' ları yakalayıp nötralize ederek (flavonoidler, α-tokoferol, askorbik asit, metiyonin, ürik asit, β-karoten gibi), 3) Oluşan ROT' ları detoksifiye ederek daha az toksik ürünlere dönüştürerek (süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz,

glutasyon redüktaz) etki gösterirler (36). Antioksidanlar genel olarak endojen ve eksojen antioksidanlar olarak ikiye ayrılırlar.

### 2.5.1. Endojen antioksidanlar

Endojen antioksidanlarda kendi aralarında enzim olanlar ve enzim olmayanlar olmak üzere iki gruba ayrılır:

Enzim olanlar; SOD, glutasyon peroksidaz (GSH-Px), glutasyon S-Transferazlar (GST), katalaz (KAT), mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi ve hidroperoksidaz' lardır.

Enzim olmayanlar; melatonin, seruloplazmin, transferrin, miyoglobin, hemoglobin, ferritin, bilirubin, glutasyon, sistein, metiyonin, ürat, laktoferrin ve albümin' dir (37).

### 2.5.2. Eksojen antioksidanlar

Eksojen antioksidanlar, vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olarak 3 gruba ayrılır. Vitamin yapısındaki eksojen antioksidanlar;  $\alpha$ -tokoferol (vitamin E),  $\beta$ -karoten, askorbik asit ve folik asittir. İlaç yapısındaki eksojen antioksidanlar; ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol), NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezipler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar), rekombinant süperoksit dismutaz, Trolox-C (vitamin E analogu), nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin), demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin), nötrofil adezyon inhibitörleri, sitokinler (TNF ve IL-1), barbitüratlar ve demir şelatörleridir. Gıdalardaki eksojen antioksidanlar; butylated hydroxytoluene, butylated hydroxyanisole, sodium benzoate, ethoxyquin, propylgalate ve fesuperoxyde dismutazdır (37).

### 2.5.3. Antioksidan enzimler

**Süperoksit dismutaz:** Serbest radikallere karşı organizmadaki ilk savunma sistemi olup,  $O_2^-$  radikalini daha az toksik olan  $H_2O_2$  ve moleküler oksijene ( $O_2$ ) dönüştürür. Enzimin üç tipi vardır. Birincisi mitokondride lokalize olan Mn-SOD, ikincisi sitozolde lokalize Cu-Zn SOD ve üçüncüsü plazmadaki süperoksit radikallerini metabolize eden vasküler endotele bağlı Cu-SOD' dır (36,37).

**Katalaz:** Esas olarak peroksizomlarda bulunan, dört adet hem grubu bulunan bir hemoproteindir. SOD tarafından oluşturulan  $H_2O_2$ 'yi oksijen ve suya parçalar. KAT aktivitesi eritrosit, karaciğer ve böbrekte yoğundur. Hücrede oluşan  $H_2O_2$ 'yi daha toksik olan  $OH^-$  radikali oluşumunu önlemek üzere ortadan kaldırır (36).

**Glutasyon Peroksidaz:** Hücre sitozolünde bulunan, tetramerik yapıda, merkezinde 4 adet selenyum içeren enzimdir.  $H_2O_2$ 'in detoksifikasyonundan esas olarak GSH-Px sorumludur. Lipid peroksidasyonunun başlamasını ve gelişmesini engeller. Fagositik hücreler ve eritrositlerde önemli antioksidan olarak görev yapar. GSH-Px aktivitesindeki azalma  $H_2O_2$  artışına ve şiddetli hücre hasarına yol açar (35,36).

**Glutasyon Redüktaz (GSH-R):** Dimerik yapıda, sitozol ve mitokondride bulunan bir enzimdir. NADPH varlığında okside glutasyonu (GSSG) indirgenmiş glutatyon (GSH) çevirir (35).

**Glutasyon-S-Transferazlar:** Antioksidan olarak önemleri ksenobiyotiklerin biyotransformasyonu ve detoksifikasyonunda rol almaları ve lipid peroksitlere karşı selenyumdan bağımsız GSH-Px aktivitesi göstermeleridir (37).

**Mitokondriyal sitokrom oksidaz:** Solunum zincirinin son enzimi olup  $O_2^{\cdot-}$  yi detoksifiye eder. Çoğu zaman  $O_2^{\cdot-}$  üretimi mitokondriyal sitokrom oksidaz enziminin kapasitesini aşar ve  $O_2^{\cdot-}$  nin detoksifikasyonu için diğer antioksidan enzimler devreye girer (37).

**Glutasyon (GSH):** Organizmanın tüm hücrelerinde bulunan glutamikasit, sistein ve glisinden oluşan tripeptid yapıda önemli bir antioksidandır.  $H_2O_2$  ve serbest radikalleri indirgeyerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Eritrosit membranını  $H_2O_2$ 'den, lökositleri fagositozda üretilen oksidan maddelerden korur (37).

## 2.6. Myeloperoksidaz

Fagositik hücrelerde bulunan lizozomal bir enzimdir. Nötrofillerin azurofil granüllerinde bolca bulunur. Dokuya gelen aktive lökositler myeloperoksidaz (MPO), elastaz, proteaz, kollojenaz ve laktoferrin gibi enzimleri açığa çıkarırlar. Nötrofillerin aktivasyonu büyük miktarda  $O_2^{\cdot-}$ ,  $H_2O_2$  ve  $OH^-$  salınımına neden olur. Bu ROT'ların MPO ile reaksiyona girmesi sonucu oluşan HOCl ve N-kloraminler sitotoksik etkiyi başlatır. MPO aktivitesinin ölçümü nötrofil sekestrasyonunun göstergesi olarak kullanılabilir (38).

## 2.7. Teucrium Polium

Birçok kronik hastalıkta olduğu gibi İBH tedavisinde de, standart tedavi ajanlarıyla tam kür elde edilememesi ve sahip oldukları yan etkiler nedeniyle, başlıca bitkisel tedaviler olmak üzere alternatif tedavi seçeneklerine eğilim artmıştır (5).

TP (poligermader, tüylü Kısa Mahmut otu, payaşan, Lamiaceae familyasından) teucrium cinsinin bir alt türü olup Akdeniz ülkelerinde yabani olarak yetişir (6,7). TP' un uç kısımları, kök ve yapraklarından 134 adet aktif bileşik izole edilmiştir. Bitkinin kimyasal yapısını neoklorodan diterpenler, monoterenler, seskiterpenler, polifenoller, flavonoidler ve yağ asidi esterleri oluşturur. Başlıca antioksidan etkisinin sahip olduğu flavonoidlerden kaynaklandığı düşünülse de, diğer tüm bileşenlerinde bu etkiden sorumlu olabileceği bildirilmiştir. Yapılan birçok çalışmada TP bitkisinin, kloroformlu, etil asetatlı, etanolik ve metanolik ekstraktlarının hepsinin belirgin antioksidan etkilerinin olduğu gösterilmiştir (7).

TP' un antioksidan etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, G2 fazındaki kültüre edilmiş rat hepatositlerinde, geleneksel halk tıbbında kullanılan benzer şekilde hazırlanan TP sulu ekstresinin invitro ortamda  $\beta$ -karoten ilişkili oksidatif süreci ve Fe ilişkili lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği ve intraselüler glutatyon düzeyini artırdığı gösterilmiştir (39). Başka bir çalışmada ise TP' un % 80 etanol ile benzer şekilde hazırlanan sulu ekstresinin Wistar cinsi ratlarda 50, 100 mg oral dozlarda invivo olarak serum total antioksidan kapasite (TAK) seviyelerini belirgin arttırdığı ve tiobarbütürik asit reaktif maddesini (TBARS) belirgin azalttığı tespit edilmiştir (8).

Teuciumların İBH' daki etkinliğiyle ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS) ile oluşturulan deneysel kolit modelinde Teucrium persium' un antioksidan ve antiinflamatuvar etkinliğinin olduğu gösterilmiştir (40). Başka bir çalışmada da % 6 asetik asit (AA) kullanılarak köpeklerde oluşturulan deneysel kolit modelinde TP' un ülser iyileşmesini hızlandırdığı ve inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir (41). Yine İBH patogeneğinde suçlanan mikrobiyal ajanlarla ilgili başka bir çalışmada, TP' un anti-amebik, antioksidan ve DNA hasarını önleyici etkisi olduğu gösterilmiştir (42).

Antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri kanıtlanmış ve bölgemiz geleneksel halk tıbbında yaygın olarak kullanılan TP bitkisi, etyopatogeneğinde inflamasyon ve

oksidatif stresin önemli rol oynadığı İBH tedavisinde, etkinliği araştırılmak üzere çalışmamızda kullanıldı.



**Resim 1:** Teucrium polium resimleri

### 2.8. İnfliksimab

İnfliximab, TNF- $\alpha$ 'nın etkilerini bloke ederek etki gösteren, kimerik yapıda (% 75 insan, % 25 fare) IgG1 yapısında bir antikordur. TNF- $\alpha$  ise ÜK ve CH' yıda içeren birçok inflamatuvar bozuklukta anahtar rol oynayan bir sitokindir (43). İnfliksimab intravenöz olarak ve genellikle 5 mg/kg dozunda, 0., 2., 6. haftalardan sonra 8 haftada bir tekrarlanan dozlarla kullanılır. Yarılanma ömrü 8-9,5 gündür. 1998 yılında CH için ve 2005' te ÜK' te kullanım için FDA onayı almıştır. İBH'da infliksimab kullanımı romatoid artritli hastalardan elde edilen deneyimlerden sonra klasik tedavilere dirençli İBH' lı hastaların tedavisiyle başlamıştır. İBH' da infliksimab kullanım endikasyonları; steroide dirençli ya da bağımlı, immünmodülatör ilaçlara dirençli yada bu ilaçları tolere edemeyen hastalarla, ciddi seyirli fistülizan Crohn' u olan hastalardır (44).

İnfliksimab' ın inflamatuvar olaylardaki etkisi farklı şekillerde gerçekleşir. TNF- $\alpha$ ' yı hem monomerik hemde trimerik formuna bağlanarak nötralize eder. Yine lamina propriadaki lenfositlerin ve aktive T lenfositlerinin apoptozisine neden olmasına rağmen sayılarında belirgin bir azalma yapmadan IL-1, IL-6, IL-18 ve IFN- $\gamma$  üretimini azaltarak serumda ve lamina propriada sitokin sekresyonunu değiştirir (45). Monositlerden TNF- $\alpha$ ' yı nötralize edici etkisi olan çözünür TNFR2 salınımını artırarak TNFR2 ekspresyonunu azaltır ve böylece TNF- $\alpha$ 'nın etkisini sınırlandırır. Lökositlerden spesifik olarak IL-10 üretimini artırırken, diğer proinflamatuvar sitokinlerin salınımına

sebeup olmayarak bir antiinflamatuvar çevre oluşturur. Ayrıca etkisini azaltacak olan ribaund TNF- $\alpha$  üretimine sebeup olmaz (46).

Birçok deneysel ve klinik çalışmada hem ÜK ve hemde CH' da etkinliği gösterilmiş olduğundan çalışmamızda TP' un etkileriyle karşılaştırılmak üzere referans ilaç olarak infliksimab seçildi.

## **2.9. Deneysel Kolit Modelleri**

Kesin etyolojisi bilinmeyen İBH patogenezindeki mekanizmaları açıklığı kavuşturmak üzere deney hayvanlarında, çeşitli kimyasal ajanların intrarektal yolla uygulanmasıyla akut ve kronik inflamasyon içeren deneysel kolit modelleri geliştirilmiştir. Bu yöntemlerin tercih edilmeleri, deneysel kolit oluşturulan eksojen indüksiyon modellerinin teknik olarak basit olması, deneylerin tekrarlanabilirliği ve düşük maliyet özellikleri nedeniyledir. Kolit oluşturulmak üzere en sık kullanılan ajanlar AA, TNBS, dekstran sodyum sülfat (DSS) formalin, indometazin, etanol, veya çeşitli immünkompleksler olmuştur. TNBS koliti ciddi transmural inflamasyon ve Th1 ağırlıklı inflamatuvar cevap oluşturduğundan daha çok CH' yı taklit eder. DSS kolitinde ise hem akut hemde kronik inflamatuvar değişiklikler izlenir (47).

### **2.9.1. Asetik Asit Kolit Modeli**

AA ile oluşturulan deneysel kolit modelinde inflamasyon kolonla sınırlı olup uygulama sonrası ilk 4 saat içinde direkt epitel hasarı oluşur. Uygulamadan 12 saat sonra ise inflamatuvar hücre infiltrasyonu en şiddetli seviyeye ulaşır. Ratlarda AA ile oluşturulan kolitin tam iyileşmesi 2-3 haftayı bulur (48). İnsan ÜK morfolojisine en uygun deneysel kolit modelini bulmak amacıyla yapılan bir çalışmada rat kolonlarında % 4, 6, 8' lik AA çözeltisi kullanılmış ve bunlardan % 4 asetik asit çözeltisinin, uygulamanın 4. gününde insan ÜK morfolojisine en yakın değişiklikleri oluşturduğu görülmüştür. Aynı çalışmada 7. günden itibaren mukozal iyileşmenin başladığı ve 14. günde mukozanın neredeyse tamamen normale döndüğü tespit edilmiştir. % 6 ve 8' lik solüsyonların ise derin ülserlere ve yüksek oranda mortaliteye sebeb oldukları görülmüştür (49). Çalışmamız için insan ÜK modeline en yakın histopatolojik değişiklikleri oluşturan % 4' lük AA seçildi. Kolutin normal iyileşme süreci de 7. günde başladığından deney süresi 6 gün olarak belirlenerek çalışma 7. günde sonlandırıldı.



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji laboratuvarında Ekim-Kasım 2011 tarihleri arasında yapıldı. Çalışmanın uygunluğu Gaziantep Üniversitesi Etik Kurul Başkanlığı tarafından onaylandı (Etik Kurul Karar No: 06.2011-02, tarih: 06.06.2011).

#### 3.1. Hayvanlar

Deney için kullanılacak denekler Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji laboratuvarından elde edildi. En az 3 aylık ve ağırlıkları 190-220 gram arasında değişen 40 adet Wistar Albino cinsi erkek rat seçildi. Denekler adaptasyon amacıyla deneyden 1 hafta öncesinde standart çelik telli kafeslere, her kafeste 5 hayvan olacak şekilde deney ortamına yerleştirildiler. İsteğe göre musluk suyu, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık sikluslarda, yaklaşık % 55 nemli ortamda ve  $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$  ısıda tutularak, standart rat yemi ile beslendiler.

#### 3.2. Teucrium Polium Sulu Extresinin Hazırlanışı

Bitkiler Mayıs-Haziran 2011 tarihlerinde Kilis İli Resul Osman Dağı bölgesinden toplandı. Toplanan bitki örnekleri Gaziantep Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Herbaryumunca Teucrium polium L. (Tüylü Kısamahmut, payaşan) olarak teşhis edildi. TP ekstresi Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji laboratuvarında hazırlandı. Bitkinin uç kısımları 7 gün boyunca oda ısısında kurutuldu. Daha sonra toz haline getirilen bitki kısımları bez torbalar içinde saklandı. Toz halindeki bitki materyali halk tıbbındaki kullanımına benzer şekilde 50 gramı 500 ml distile su içinde çözüldü. Bu karışım  $95^{\circ}\text{C}$  de 15 dakika tutulduktan sonra, önce ham sellüloz filtre ve daha sonra Whatman filtre kağıdından geçirildi. Daha sonra % 80 etanol ile muamale edildi. Elde edilen filtrat Gaziantep Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde dondurup-kurutma işlemine (liyofilizasyon) tabi tutularak toz haline getirildi ve temiz cam şişe içinde kullanacağı zamana kadar  $-18^{\circ}\text{C}$  de saklandı. Ortalama verimlilik % 12,8 olarak hesaplandı.

### 3.3. Deney Grupları

**Grup I (n=8): Sham Grubu;** İntarektal 2 ml serum fizyolojik alan grup,

**Grup II (n=8): Deneysel Kolit Grubu;** % 4 AA ile kolit oluşturulan ve herhangi bir tedavi almayan grup,

**Grup III (n=8): İnfliksimab Grubu;** % 4 AA ile kolit oluşturulan ve 5 mg/kg/gün subkutan (sc) infliksimab tedavisi alan grup,

**Grup IV (n=8): Teucrium Polium Grubu;** % 4 AA ile kolit oluşturulan ve 400 mg/kg/gün gavajla TP tedavisi alan grup,

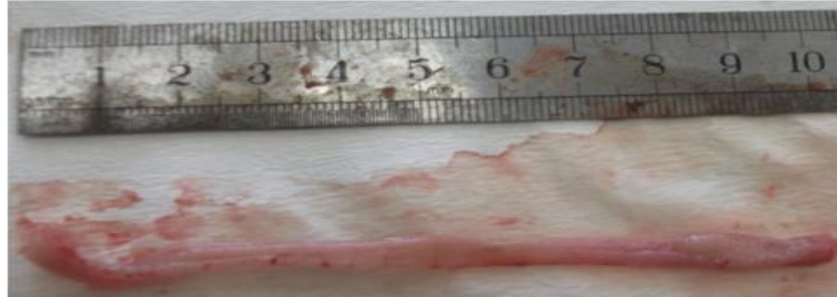
**Grup V (n=8): Teucrium Polium ve İnfliksimab Grubu;** % 4 AA ile kolit oluşturulan ve 400 mg/kg/gün gavajla TP ve 5 mg/kg/gün sc infliksimab tedavisi alan grup.

### 3.4. Deneysel Prosedür ve Kolit Oluşturulması

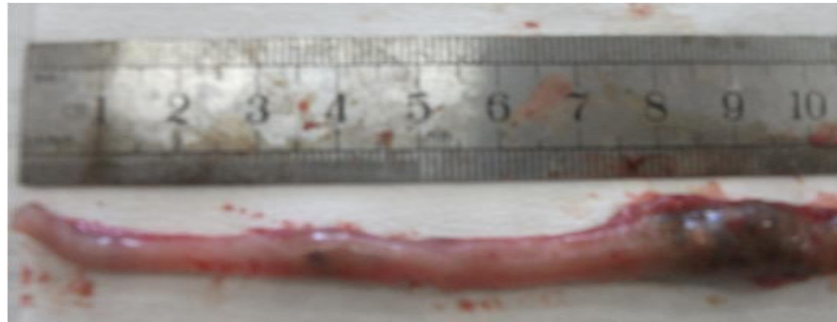
Deneysel kolit oluşturmak üzere işlemden 24 saat önce aç bırakılıp, sadece musluk suyu verilen ratlarda, 50 mg/kg ketamin hidroklorür (ketalar, Pfizer) ve 5 mg/kg ksilazin (rompun, Bayer) kombinasyonunun intraperitoneal olarak verilmesiyle anestezi sağlandı. Daha sonra 2 mm çapındaki pediatrik beslenme sondasıyla anal kanaldan transrektal olarak 8 cm ilerlendi ve bağırsak içine 1 ml serum fizyolojik verildi. Batın hafif sıvazlanarak rezidü dışkıları çıkarıldı. Bu işlemi takiben anal kanaldan 8 cm içeri sokulan katater ile supin trendelenburg pozisyonunda 45° lik açıda tutulan hayvanlara 2 ml % 4 AA yavaş şekilde enjekte edildi. Asitin dışarı kaçışını önlemek üzere hayvanlar bu pozisyonda 30 sn tutuldu. Bu işlem kontrol grubunda AA yerine 2 ml serum fizyolojik verilerek yapıldı. Kolit oluşumundan 1 gün sonra tedavi gruplarına belirlenen dozlarda 5 gün süre ile tedavi verildi. Kolit oluşumunun 7. gününde hayvanlarda ketamin ve ksilazin kombinasyonu kullanılarak yeterli anestezi sağlandıktan sonra batın ön duvarı eksize edilerek anüsün 1 cm üzerinden 10 cm uzunluğunda kolon segmentleri çıkarıldı. Çıkarılan kolon segmentleri uzunlamasına açıldıktan sonra serum fizyolojik ile yıkandı ve ardından makroskopik kolit skorlaması yapıldı. Bağırsak segmentleri 2 eşit parçaya ayrılarak mikroskopik inceleme için % 10 formalin içine ve biyokimyasal analiz için ependorf tüpler içinde - 80 °C 'de saklandılar.



**Resim 2:** Açılan karın ön duvarında kolonun makroskopik görüntüsü



**Resim 3:** Grup I' de kolon dokusunun dıştan makroskopik görüntüsü



**Resim 4:** Grup II' de kolon dokusunun dıştan makroskopik görüntüsü

### 3.5. Referans İlaç İnfliximab

Referans ilaç olarak infliksimab 100 mg flakon (Remicade, Schering-Plough) 5 mg/kg/gün dozunda sc olarak kullanıldı.

### **3.6. Biyokimyasal Analiz**

#### **3.6.1. Doku Örneklerinin Biyokimyasal Analiz İçin Hazırlanması**

Biyokimyasal analiz için ayrılan kolon örnekleri bir hacim (0,5 gr) bağırsak dokusu ve 10 hacim pH 7.4 olan fosfat tampon ilave edilerek 1:10 oranında sulandırıldı (w/v) ve 1 dk boyunca homojenizatör cihazı kullanılarak buz içinde homojenize edildi. Daha sonra +4 °C'de 10 000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek elde edilen üst kısım dokular başka bir tüpe alındı. Biyokimyasal değerlendirmenin yapılacağı zamana kadar -80 °C'de derin dondurucuda saklandı. Tüm biyokimyasal parametreler hazırlanan bu doku örneklerinden ölçüldü.

#### **3.6.2. TNF- $\alpha$ Düzeyinin Ölçümü**

Hazırlanan doku örneklerinden elde edilen homojenatlarda kantitatif TNF- $\alpha$  düzeylerini tespit etmek amacıyla rat spesifik TNF- $\alpha$  ELISA rat kiti (KRC3011, 96 test, Invitrogen) kullanıldı. Doku örnekleri ELX 800 cihazında (Biotek inc., USA) çalışıldı. Sonuçlar pg/ml cinsinden hesaplandı.

#### **3.6.3. Toplam Oksidan Status Ölçümü**

Örneklerin toplam oksidan status (TOS) düzeyleri Erel (50) tarafından tanımlanan, örneklerin içerdiği oksidan moleküllerin ferroz iyonunun ferrik iyonla kümülatif olarak oksitlemesine dayanan, kolorimetrik yöntem kullanılarak ölçüldü. Doku örneklerinden toplam oksidan status ölçümü için, total oksidan status assay kiti (Rel Assay, Türkiye) kullanıldı. Sonuçlar mmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Eqv/L cinsinden hesaplandı.

#### **3.6.4. Toplam Antioksidan Kapasite Ölçümü**

Örneklerin TAK ölçümü Erel' in (51) tariflediği, örnekteki tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS katyonik radikalini redüklemesi sonucu renkli radikalın antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonlarıyla orantılı olarak dekolorize olması esasına dayanan yöntemle ölçüldü. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanıldı. Doku örneklerinden toplam antioksidan kapasite ölçümü için total antioksidan status assay kiti (Rel Assay, Türkiye) kullanıldı. Sonuçlar mmol Trolox eqv/L olarak hesaplandı.

### 3.7. Makroskopik Değerlendirme

Çıkarılan bağırsak bölümlerinin longitudinal biçimde açılmasını takiben, hızla serum fizyolojik ile yıkanarak, gruplara ve tedaviye kör bir patoloji uzmanı tarafından Millar ve arkadaşlarının (52) tariflediği şekilde makroskopik skorlamaları her bir denek için ayrı ayrı yapıldı ve grup ortalamaları hesaplandı.

0 = Normal mukoza

1 = Sadece mukozal eritem

2 = Hafif mukozal ödem, az miktarda kanama ya da küçük erozyonlar

3 = Orta derecede ödem, kanayan ülser yada erozyon

4 = Ciddi ülser, erozyon, ödem ve doku nekrozunun varlığı

### 3.8. Mikroskopik değerlendirme

% 10 formalin içinde tespit edilmiş kolon segmentleri, parafin bloklara gömüldü. Bu bloklardan 5 µ kalınlığında alınan kesitler hematoksilin-eosin boyasıyla boyandı. Hazırlanan preparatlar gruplar için gruplara kör bir patoloji uzmanı tarafından ışık mikroskopu altında incelenerek mikroskopik skorlama yapıldı. Skorlama için Ackerman ve arkadaşlarının (53) kullandığı skorlama sistemi modifiye edilerek her hayvan için ayrı ayrı hesaplandı ve her grubun ortalama skoru elde edildi.

A: Nekrozun derinliği: yok = 0; mukozal = 1; mukozal ve submukozal = 2; mukozal, submukozal ve muskularis propria = 3; tüm kolon duvarında = 4,

B: Nekrozun genişliği: yok = 0; küçük bir alan = 1; orta derecede bir alan = 2; büyük bir alan = 3; yaygın = 4,

C: İnflamasyonun derecesi: yok = 0; minimal = 1; ılımlı = 2; orta derecede = 3; ciddi = 4,

D: İnflamasyonun genişliği: yok = 0; mukozal = 1; mukozal ve submukozal = 2; mukozal, submukozal ve muskularis propria' da = 3; tüm kolon duvarında = 4.

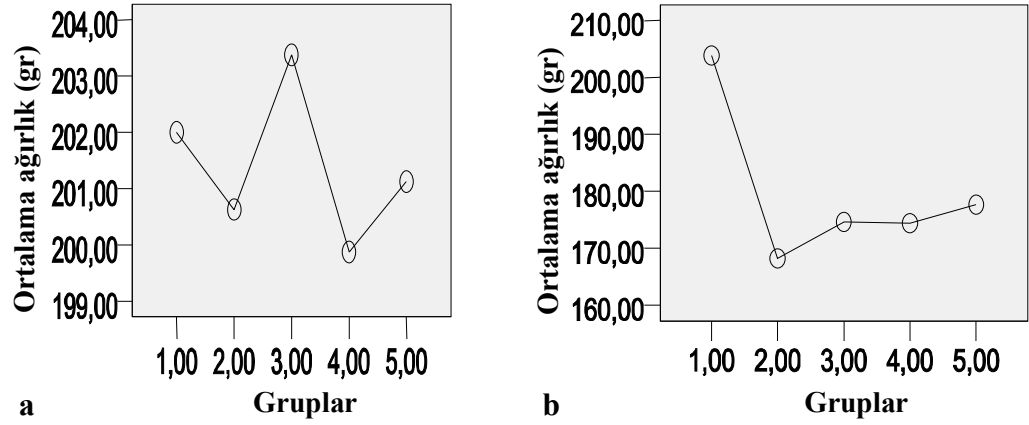
### 3.9. İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizi SPSS v.17.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapıldı. Gruplar arasındaki makroskopik skorlar, mikroskoik skorlar ve biyokimyasal parametrelerin analizi için Kruskal Wallis testi ve Mann-Whitney U-testi post hoc test olarak kullanıldı. Veriler ortalama ± standart sapma (SS) olarak ifade edildi. Gruplardaki değişkenlerin ortalamaları Boxplot seçilerek çizildi. Sonuçlar arasındaki  $p < 0,05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Ağırlık Değişikliğinin Değerlendirilmesi

Kolit oluşumunu izleyen günlerde, tüm kolit gruplarında kanlı ishal, zayıflama ve deri turgorunda azalma gözlemlendi. Grupların ağırlıkları arasında kolit öncesi dönemde istatistiksel olarak fark yokken, kolit oluşumunun 7. gününde grup I ile deneysel kolit grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ( $p<0.001$ ). Tüm kolit gruplarında belirgin kilo kaybı olmasına rağmen, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi. Şekil 2a ve 2b’ de kolit öncesi ve sonrası ağırlık değişimi, Tablo 5’ de kolit öncesi ve sonrası grupların ağırlık ortalamaları görülmektedir.



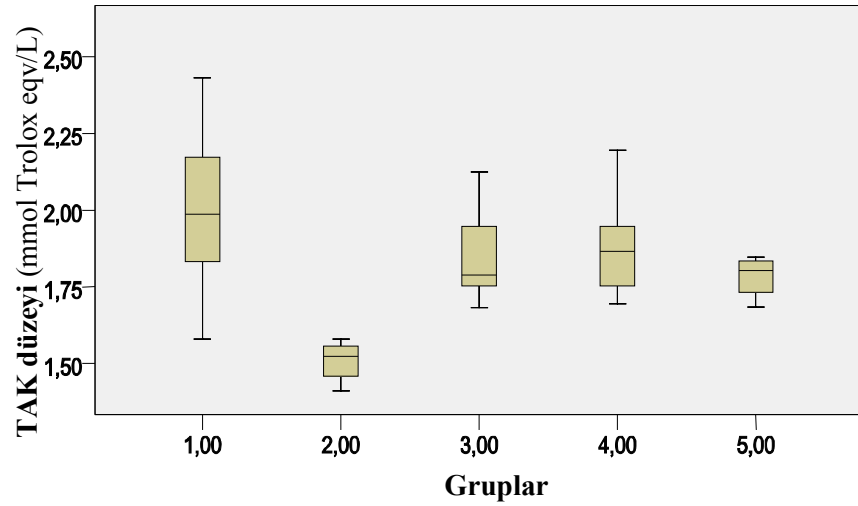
Şekil 2a: Deneysel gruplarında başlangıçtaki ortalama vücut ağırlıkları, 2b: 7. gündeki ortalama vücut ağırlığı değişimi

Tablo 5: Deneysel gruplarının ağırlık değişiklikleri

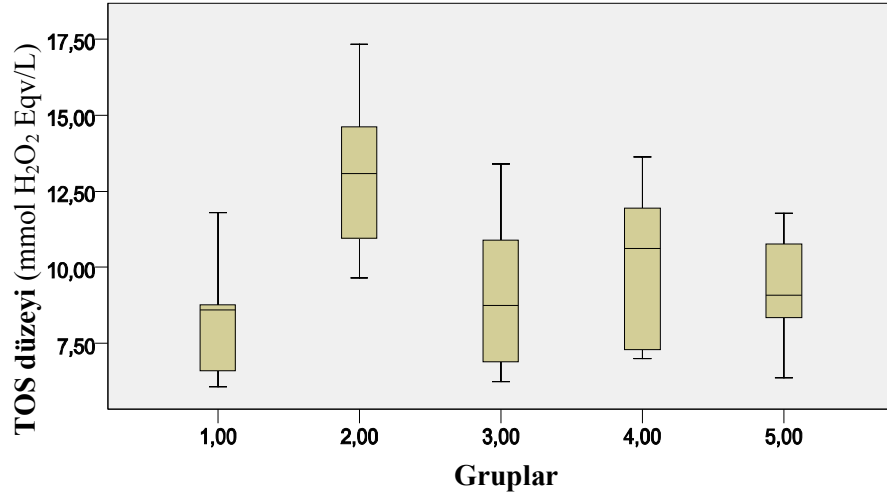
Gruplar	Ağırlık 1. gün (gr) $\pm$ SS	Ağırlık 7. gün (gr) $\pm$ SS
Grup I	202 $\pm$ 6,63	203,8 $\pm$ 6,01
Grup II	200,6 $\pm$ 5,70	168,2 $\pm$ 8,37
Grup III	203,3 $\pm$ 12,2	174,6 $\pm$ 12,39
Grup IV	199,8 $\pm$ 9,8	174,3 $\pm$ 11,51
Grup V	201,1 $\pm$ 9,96	177,6 $\pm$ 11,19

#### 4.2. Biyokimyasal Analiz Sonuçları

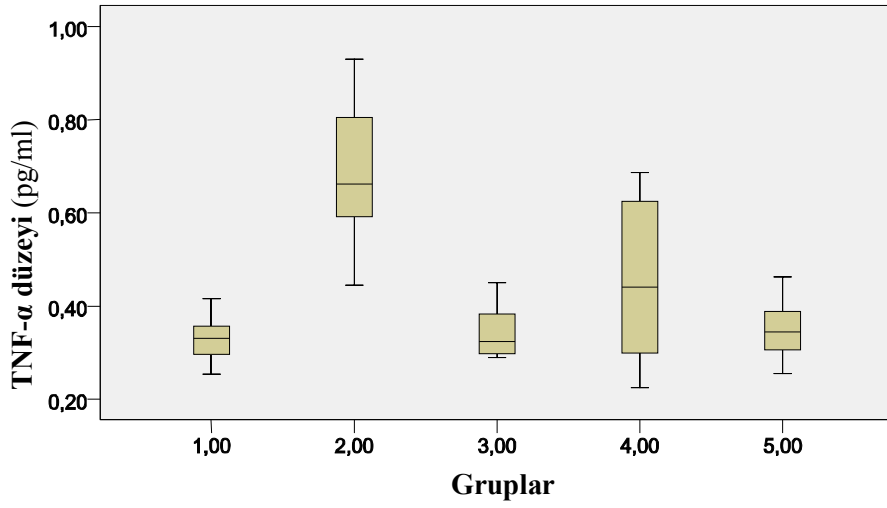
Grupların TAK değerleri karşılaştırıldığında; grup I' in TAK değeri grup II'den anlamlı derecede daha yüksekti ( $p<0.001$ ). Grup I ile III, IV ve V arasında istatistiki fark yokken, grup II' nin TAK değeri grup III, IV ve V' e göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşüktü (sırasıyla  $p=0.004$ ,  $p=0.002$ ,  $p=0.006$ ). Grupların TOS değerleri karşılaştırıldığında; grup II' nin TOS değeri grup I, III ve V' göre anlamlı oranda daha yüksekti (sırasıyla  $p=0.002$ ,  $p=0.013$ ,  $p=0.021$ ). Grupların TNF- $\alpha$  değerleri karşılaştırıldığında; grup II' nin TNF- $\alpha$  düzeyi grup I, III, IV, V' e göre istatistiki olarak anlamlı derecede artmıştı (sırasıyla  $p<0.001$ ,  $p<0.001$ ,  $p<0.003$ ,  $p<0.001$ ). Grupların TAK, TOS ve TNF- $\alpha$  değerleri sırasıyla Şekil 4, 5, 6' da ve Tablo 6 ve 7' de gösterilmiştir.



**Şekil 3:** Rat kolon dokusunda deney gruplarının ortalama TAK düzeyleri



Şekil 4: Rat kolon dokusunda deney gruplarının ortalama TOS düzeyleri



Şekil 5: Rat kolon dokusunda deney gruplarının ortalama TNF- $\alpha$  düzeyleri



**Tablo 6:** Ortalama TAK, TOS, TNF- $\alpha$  düzeyleri

Gruplar	Ortalama değer $\pm$ SS	Minumum değer	Maksimum değer
<b>TAK</b> Grup I	1,99 $\pm$ 0,26	1,58	2,43
Grup II	1,50 $\pm$ 0,06	1,41	1,58
Grup III	1,84 $\pm$ 0,14	1,68	2,12
Grup IV	1,87 $\pm$ 0,15	1,70	2,19
Grup V	1,83 $\pm$ 0,18	1,68	2,27
<b>TOS</b> Grup I	8,22 $\pm$ 1,83	6,07	11,79
Grup II	13,03 $\pm$ 2,62	9,65	17,32
Grup III	9,08 $\pm$ 2,49	6,24	13,40
Grup IV	10,04 $\pm$ 2,59	6,99	13,63
Grup V	9,31 $\pm$ 1,70	6,36	11,77
<b>TNF-<math>\alpha</math></b> Grup I	0,32 $\pm$ 0,04	0,25	0,42
Grup II	0,68 $\pm$ 0,15	0,45	0,93
Grup III	0,34 $\pm$ 0,06	0,29	0,45
Grup IV	0,45 $\pm$ 0,18	0,23	0,69
Grup V	0,34 $\pm$ 0,06	0,25	0,46

**Tablo 7:** TAK, TOS ve TNF- $\alpha$  düzeylerinin karşılaştırılması

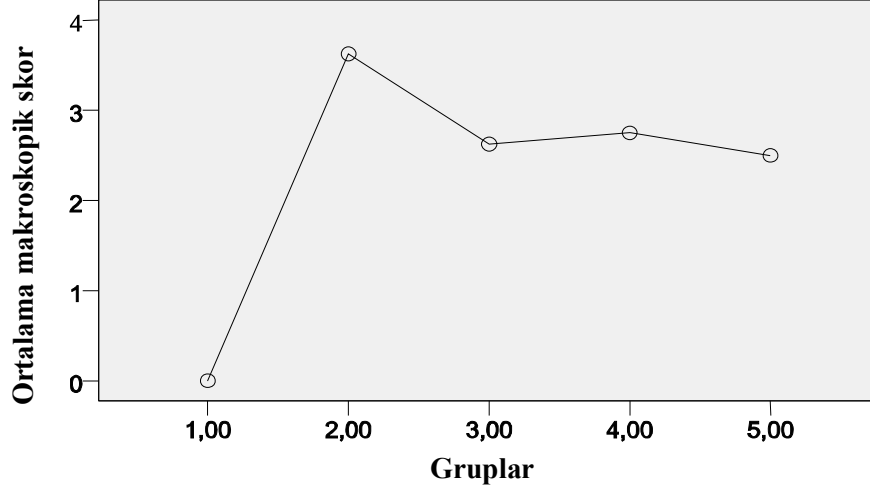
Gruplar	P <sub>TAK</sub> değeri	P <sub>TOS</sub> değeri	P <sub>TNF-<math>\alpha</math></sub> değeri
Grup I-II	<0.001*	0.002*	<0.001*
Grup I-III	0.435	0.943	0.999
Grup I-IV	0.641	0.517	0.229
Grup I-V	0.362	0.877	0.997
Grup II-III	0.004*	0.013*	<0.001*
Grup II-IV	0.002*	0.092	0.003*
Grup II-V	0.006*	0.021*	<0.001*
Grup III-IV	0.997	0.919	0.337
Grup III-V	1.000	1,000	1.000
Grup IV-V	0.990	0.968	0.395

\* istatistiksel yönden anlamlılık

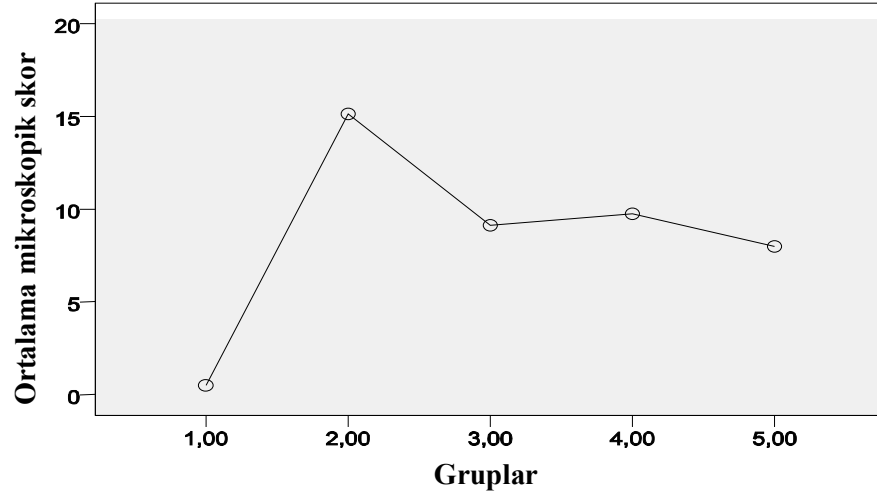
### 4.3. Makroskopik ve Mikroskopik Skor Sonuçları

Grupların makroskopik skorları karşılaştırıldığında Grup I' in makroskopik skoru grup II, III, IV ve V' e göre anlamlı derecede daha düşüktü ( $p < 0.001$ ). Grup II' nin makroskopik skoru grup III ve V' den anlamlı derecede daha yüksekti (sırasıyla  $p = 0.020$ ,  $p = 0.007$ ). Grupların mikroskopik skorları karşılaştırıldığında; grup I' in mikroskopik skoru kolit gruplarına göre belirgin olarak daha düşüktü ( $p < 0.001$ ). Yine grup II' nin mikroskopik skoru belirgin yüksek olup grup III, IV, V ile kıyaslandığında

istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ( $p < 0.001$ ). Grupların makroskopik ve mikroskopik skor sonuçları Şekil 7, 8 ve Tablo 8, 9' da verilmiştir.



Şekil 6: Deney gruplarında rat kolon örneklerinin makroskopik skor sonuçları



Şekil 7: Deney gruplarında rat kolon örneklerinin mikroskopik skor sonuçları

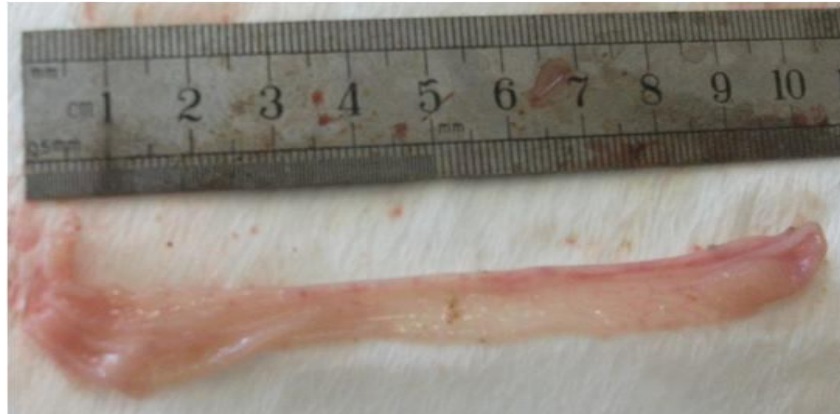
**Tablo 8:** Ortalama makroskopik ve mikroskopik skorlar

Gruplar	Ortalama değer $\pm$ SS	Minumum skor	Maksimum skor
<b>Mak. skor</b> Grup I	0,00 $\pm$ 0,00	0	0
Grup II	3,63 $\pm$ 0,51	3	4
Grup III	2,63 $\pm$ 0,74	2	4
Grup IV	2,75 $\pm$ 0,70	2	4
Grup V	2,50 $\pm$ 0,75	2	4
<b>Mik. skor</b> Grup I	0,50 $\pm$ 0,92	0	2
Grup II	15,13 $\pm$ 1,35	13	16
Grup III	9,13 $\pm$ 3,18	6	14
Grup IV	9,75 $\pm$ 2,71	6	14
Grup V	8,00 $\pm$ 2,44	6	12

**Tablo 9:** Makroskopik ve mikroskopik skorların karşılaştırılması

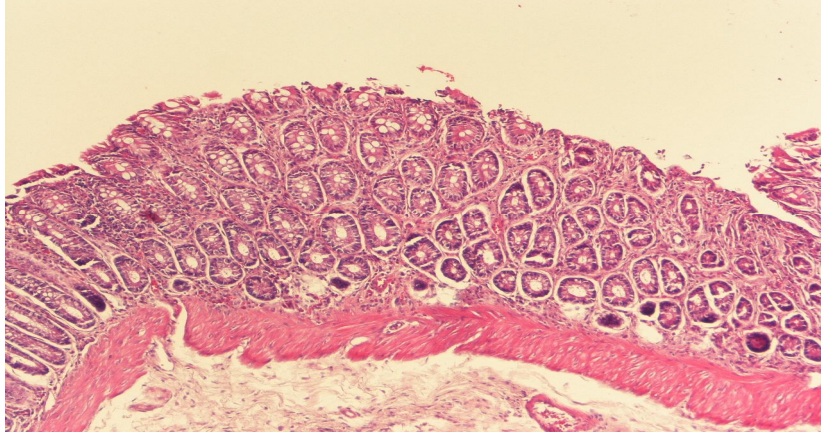
Gruplar	P <sub>Mak</sub> değeri	P <sub>Mik</sub> değeri
Grup I-II	< 0,001*	<0,001*
Grup I-III	<0,001*	<0,001*
Grup I-IV	<0,001*	<0,001*
Grup I-V	<0,001*	<0,001*
Grup II-III	0,020*	<0,001*
Grup II-IV	0,054	<0,001*
Grup II-V	0,007*	<0,001*
Grup III-IV	0,994	0,982
Grup III-V	0,994	0,861
Grup IV-V	0,925	0,551

\* istatistiksel yönden anlamlılık

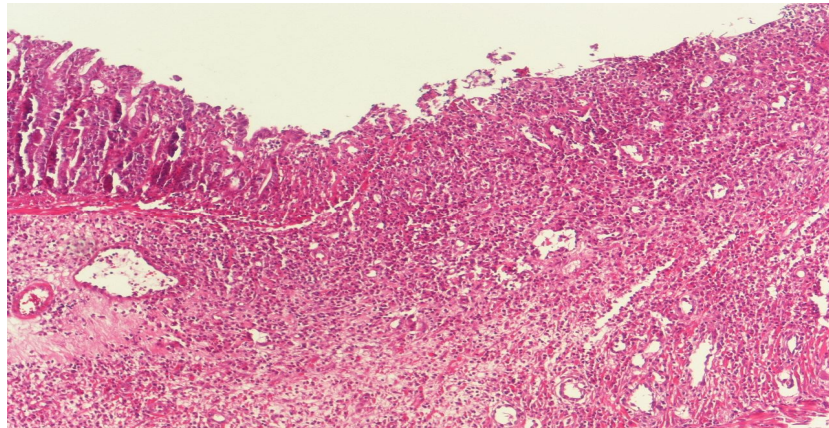
**Resim 5:** Grup I' de açılan kolon dokusunun makroskopik görüntüsü, (serum fizyolojik ile yıkanmış normal görünümde kolon)



**Resim 6:** Grup II' de açılan kolon dokusunun makroskopik görüntüsü, (serum fizyolojik ile yıkanarak temizlenen tam kat kolon duvarını tutan, dev, nekroze, ülser)

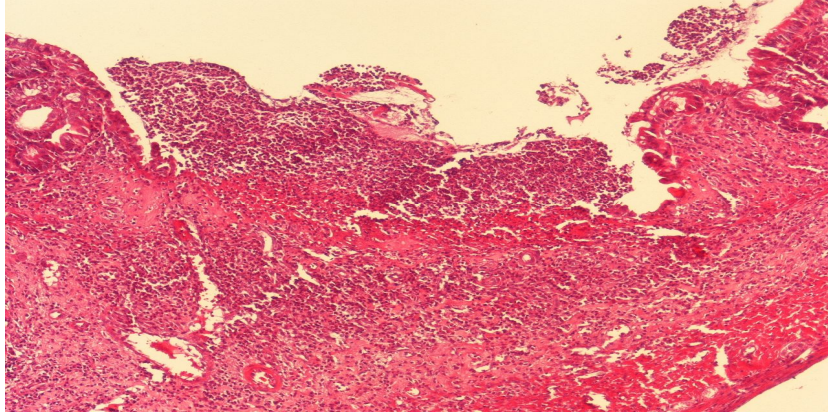


**Resim 7:** Grup I' de kolon mukozasının mikroskopik görüntüsü, (normal kolon mukozası) (H&E, X100)

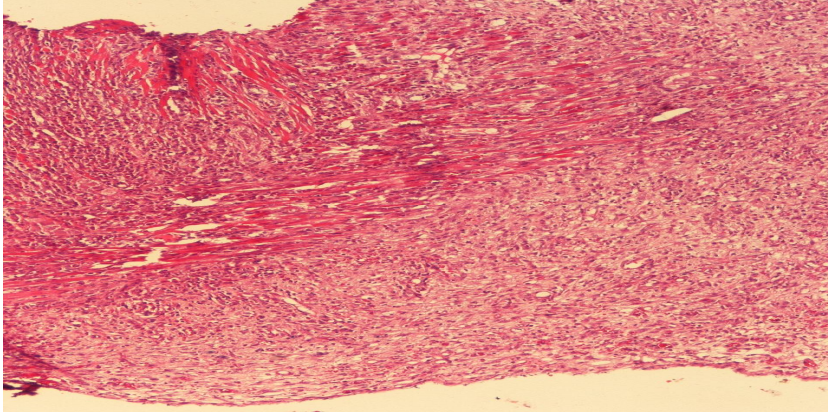


**Resim 8:** Grup II' de kolon mukozasının mikroskopik görüntüsü, (yaygın ülser alanı ve yoğun polimorf nüveli lökosit infiltrasyonu) (H&E, X100)

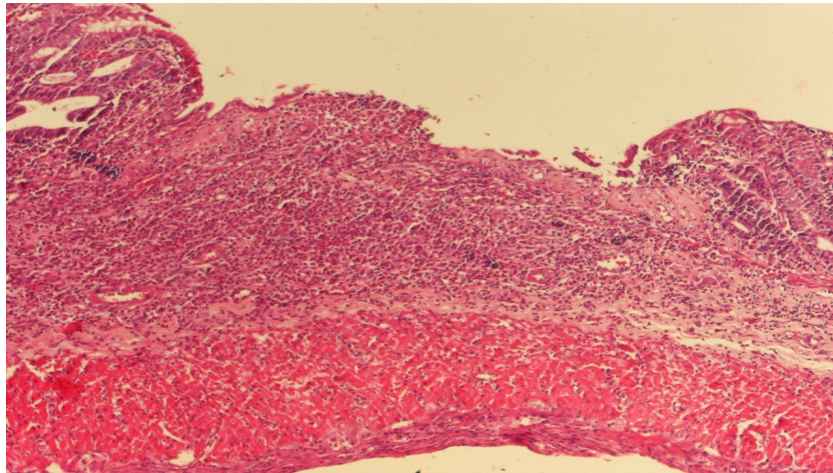




**Resim 9:** Grup III' de kolon mukozasının mikroskopik görüntüsü, (lokalle ülser alanları ve yoğun polimorf nüveli lökosit infiltrasyonu) (H&E, X100)



**Resim 10:** Grup IV' de kolon mukozasının mikroskopik görüntüsü, (tüm katları tutan ülser alanı) (H&E, X100)



**Resim 11:** Grup V' de kolon mukozasının mikroskopik görüntüsü, (lokalle ülser alanı, mukozal ve submukozal alanda yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu) (H&E, X100)

## 5. TARTIŞMA

Çalışmamız sonucunda; grup II' de grup I' e göre histopatolojik skorlarda belirgin bozulma, TAK değerinde azalma, TOS değerinde artma ve TNF- $\alpha$  değerinde artma görüldü. Grup III ve V' de sayılan tüm değerlerde grup II' ye göre anlamlı düzelme görüldü. Grup IV' de kullanılan TP tedavisi makroskopik skor ve TOS dışındaki parametrelerde grup II' ye göre istatistiki olarak anlamlı düzelme yaptı. Grup V' de TP ve infliksimabın beraber verilmesi istatistiki olarak ek iyileşme sağlamadı.

AA' in % 4, 6 ve 8' lik çözeltilerinden insan akut ÜK morfolojisine en yakın değişikliklerin % 4' lük AA kullanılmasıyla elde edildiği gösterilmiştir (49). Başka çalışmalarda da AA ile oluşturulan deneysel kolit modelinde hem inflamatuvar ve hem de oksidan parametrelerde artış ve antioksidan parametrelerde azalma tespit edilmiştir (53,54). Bu nedenle çalışmamızda daha çok ÜK benzeri akut inflamatuvar değişiklikler elde etmek üzere % 4' lük AA kullanıldı. Kolit oluşturulan rat kolon örneklerinin makroskopik ve mikroskopik değerlendirmesinde mukozal ödem, hiperemi, değişik boyutlarda ülserler ve polimorf nüveli lökositlerin hakim olduğu inflamatuvar değişiklikler ve biyokimyasal değerlendirmede oksidan kapasitede artış ve antioksidan kapasitede azalma tespit edildi.

Kolit oluşumunun klinik etkisinin objektif olarak değerlendirilmesi amacıyla kolit öncesi ve kolit sonrası 7. günde grupların ağırlıkları kıyaslandığında, tüm kolit gruplarında sham grubuna göre anlamlı ağırlık kaybı olduğu görüldü ( $p < 0.001$ ). Diğer taraftan kolit grupları arasında en fazla ağırlık kaybı grup II' de olmasına rağmen, gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı fark yoktu. Sonucun bu şekilde çıkması tedavi ve deney süresinin kısa olmasına bağlandı. Deneysel kolit oluşturulan başka bir tez çalışmasında da kolit oluşturulmayan kontrol grubu ile deneysel kolit grupları arasında çalışmamız sonuçlarına benzer ağırlık değişiklikleri elde edilmiştir (56).

Birçok deneysel çalışmada invitro ve invivo şartlarda TP' un antiinflamatuvar ve antioksidan etkileri gösterilmiştir. Ljubuncic ve arkadaşları (39) TP' un antioksidan özelliklerini G2 fazındaki kültüre edilmiş rat hepatositlerinde invitro olarak değerlendirdikleri çalışmada, çalışmamızdakine benzer şekilde hazırlanan sulu ekstre

kullanmışlardır. TP sulu ekstresi  $Fe^{+2}$  ilişkili lipid peroksidasyonunu ve  $\beta$ -karoten oksidasyonunu ( $p<0.001$ ) anlamlı oranda azaltmıştır ve yüksek dozlarda intraselüler glutatyon düzeyini kontrole göre 5 kat attırmıştır. Başka bir çalışmada Hasani ve arkadaşları (8) Wistar cinsi ratlarda TP' un antioksidan etkisini, benzer şekilde hazırlanan sulu ekstrenin gavajla 14 gün boyunca 50, 100 ve 200 mg dozlarında verilmesiyle rat serum örneklerinde çalışmışlardır. Her üç dozda serbest radikal toplama gücünün bir göstergesi olan difenil-pikril hidrazil seviyeleri ( $p<0.05$ ) anlamlı olarak artmıştır. 50 ve 100 mg dozlarda  $Fe^{+3}$ 'ün  $Fe^{+2}$ 'ye dönüşümü ile ölçülen TAK düzeyleri anlamlı olarak artarken, TBARS üzerinden ölçülen lipid peroksidasyonu ( $p<0.005$ ) belirgin olarak azalmıştır. İlginç olarak bu değişiklikler 200 mg tedavi grubunda elde edilememiştir (8). Çalışma sonuçlarımız yukarıdaki sonuçlarla benzer olup, grup II' de, sham grubuna göre TAK seviyesi ( $p<0.001$ ) belirgin azalırken, TOS seviyesi ( $p=0.002$ ) belirgin artmıştır. TP tedavisi alan grup IV' de TAK seviyesi Grup II' den anlamlı yüksek iken ( $p=0.002$ ), TOS seviyeleri arasında ( $p=0.092$ ) istatistiksel fark oluşmamıştır. TOS ile ilgili sonucumuz Hasani' nin 200 mg TP dozuyla elde ettiği sonuçla uyumludur.

Teuciumların İBH' daki etkinliğiyle ilgili sınırlı sayıda deneysel çalışma mevcuttur. Demirel ve arkadaşları (57) ratlarda iyonize radyasyona (R) bağlı oksidatif bağırsak hasarı oluşturdukları kolit modelinde, TP' un etil asetat ekstresini tedavi ajanı olarak 500 mg/kg/gün dozunda gavajla 7 gün boyunca kullanmışlardır. TBARS ve MPO düzeyleri R grubunda kontrol grubuna göre ( $p < 0.01$ ) anlamlı yüksek iken, R+TP tedavi grubunda sadece MPO seviyesi R grubuna göre anlamlı oranda ( $p < 0.01$ ) düşüktü. R ve R+TP grupları arasında TBARS ve GSH seviyeleri açısından anlamlı fark yoktu. Histopatolojik skorlardan sadece L. propriadaki inflamatuvar hücre skoru R+TP grubunda R grubuna göre ( $p < 0.01$ ) belirgin olarak daha düşüktü. Çalışmamızda grup IV' deki TOS değeri ile grup II' deki arasında istatistiki fark olmayıp mevcut çalışma ile benzerdir. Ancak çalışmamızda TAK değeri grup IV' de grup II' ye göre anlamlı oranda yüksek bulunmuşken ( $p=0.002$ ) bu çalışmada antioksidan GSH düzeyleri R+TP grubunda R grubundan farksız bulunmuştur. Yine antiinflamatuvar gösterge olarak çalışmamızdaki TNF- $\alpha$  düzeyi bu çalışmadaki MPO düzeyiyle korrele olarak grup IV' de grup II' den anlamlı olarak ( $p=0.003$ ) daha düşük bulunmuştur.

Çalışmamız sonuçlarına benzer sonuçlar Abdolghaffari ve arkadaşlarının (40) ratlarda TNBS ile oluşturdukları deneysel kolit modelinde elde edilmiştir. Tedavi ajanı olarak Teucium persicum' un etanolik ekstresi 100, 200 ve 400 mg/kg/gün dozlarında gavajla 10 gün boyunca verilmiştir. Tüm Teucium gruplarında kolit grubuna göre ( $p<0.01$ ) dozla artan şekilde histolojik skorlarda belirgin düzelme görüldü. Doku TNF- $\alpha$  düzeyleri aynı şekilde kolit grubunda sham grubuna göre anlamlı oranda artmışken, Teucium 400 grubunda en fazla olmak üzere tüm Teucium gruplarında kolit grubuna göre ( $p<0.01$ ) anlamlı oranda daha düşüktü. Kolonik TAK düzeyleri de benzer şekilde kolit grubunda sham grubuna göre belirgin olarak azalmış ve Teucium 400 grubunda en fazla olmak üzere tüm Teucium gruplarında kolit grubuna göre ( $p<0.01$ ) anlamlı oranda artmıştı. Kolonik TBARS düzeyleri kolit grubunda sham grubuna göre belirgin olarak artarken, tüm Teucium gruplarında kolit grubuna göre ( $p<0.01$ ) anlamlı derecede azalmıştı. MPO düzeyi kolit grubunda sham grubuna göre belirgin artmışken, Teucium 400 grubunda ( $p<0.01$ ) en düşük düzeydeydi. Çalışmamızdan farklı olarak; bu çalışmada Teucium persicum kullanılmasına rağmen antioksidan ve antiinflamatuvar etkiler tüm Teuciumların ortak özelliğidir. Diğer farklar kolitin AA yerine TNBS ile oluşturulması ve tedavi süresinin 5 gün daha uzun olması olarak sıralanabilir. Sayılan farklılıklar değerlendirildiğinde çalışma sonuçları, bizim sonuçlarımız ile oldukça benzerdir.

Mehrabani ve arkadaşlarının (41) % 6' lık AA ile köpeklerde distal tip deneysel kolit oluşturularak yaptıkları çalışmada, TP' nin sulu ekstresi, 400 mg/kg/gün dozunda transrektal olarak verilerek mukozal iyileşmeye etkisi araştırılmıştır. Kolit oluşturulduktan 1 hafta sonra 1 ay boyunca 6 hayvan TP tedavisi alırken, kolit oluşturulan 2 hayvan kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Tedavi bittikten sonraki 7, 14 ve 30. günlerde anüsten 10, 20 ve 30 cm proksimalden alınan biopsilerin histopatolojik incelenmesinde; 14 ve 30. günlerde alınan biopsilerde mukozal iyileşmenin kontrol grubuna göre (sırasıyla  $p=0.04$  ve  $p=0.005$ ) anlamlı olarak daha iyi olduğu görülmüştür. Sonuçlar çalışmamızdaki histopatolojik değerlendirme sonuçlarıyla benzer olup, çalışmamızda TP alan grup IV ve V' de grup II' ye göre anlamlı mukozal iyileşme vardı ( $p<0.001$ ). Ancak % 4 AA ile oluşturulan kolitte 7. günden sonra spontan mukozal iyileşmenin görüldüğü düşünüldüğünde (48), bu çalışmada % 6 AA ve rat yerine köpek kolonu kullanılmış olsa bile yaklaşık 2 ay sonra anlamlı inflamatuvar değişiklikler



saptanması ilginç bulunmuştur. Yine kullanılan denek sayısında genelleme yapmak açısından çok düşüktür.

İnfliksımabın hem insan İBH'lı hastalarda ve hem de deneysel kolit modellerinde etkili olduğu daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (12,13,54). İnfliksımabın klinik çalışmalar ve deneysel kolit modelinde 5, 10, 15 mg/kg dozları arasında tüm parametreler değerlendirildiğinde, en iyi sonuçlar 5 mg/kg dozuyla elde edildiğinden çalışmamızda referans ilaç infliksımabın bu dozu tercih edildi (13, 58).

İnfliksımabın ÜK' de kullanılması ile ilgili ilk geniş hasta katımlı klinik deneyimler ACT 1 ve 2 çalışmalarından elde edildi (58). Her iki çalışmada da steroide yada diğer immünomodülatör ilaçlara cevapsız akut ÜK' li hastalar seçilerek infliksımab 5, 10 mg ve plasebo gruplarına ayrıldı. ACT 1' de 54. hafta sonundaki klinik yanıt oranları sırasıyla % 45, % 44 ve % 20 olup plaseboya göre anlamlı iyileşme vardı ( $p<0.001$ ). ACT 2' de ise 30. hafta sonunda klinik remisyon oranları sırasıyla % 25.6, % 35.8 ve % 10.6 olup plaseboya göre ( $p<0.001$ ) anlamlı iyileşme vardı. İnfliksımabın CH' daki etkinliğiyle ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Bunlardan ACCENT 1 çalışmasında, lüminal Crohn' lu 573 hasta tek doz infliksımab 5 mg/kg infüzyonu sonrası, cevap alınan % 58 hasta rastgele 5, 10 mg ve plasebo gruplarına ayrıldı. Bir yıl sonunda infliksımab alan hastalarda plaseboya göre ( $p=0.004$ ) anlamlı iyileşme görüldü (59). Fistülizan crohn' lu hastaların değerlendirildiği ACCENT 2 çalışmasında ise 306 fistülizan crohn' lu hastaya 3 doz infliksımab 5 mg/kg sonrası cevap alınan % 69 hasta infliksımab ve plasebo kollarına ayrıldı. 54. haftada infliksımab ile devam edilen grupta plaseboya göre ( $p<0.001$ ) anlamlı cevap elde edildi (60). Görüldüğü gibi hem ÜK ve hemde CH' da infliksımab ile plaseboya göre anlamlı cevap elde edilmiş olup, AA ile deneysel kolit oluşturduğumuz çalışmamızda da infliksımab alan Grup III ve grup V' de, tedavi verilmeyen grup II' ye göre TAK, TOS, TNF- $\alpha$  ve histopatolojik skorlarda anlamlı cevap elde edilmiştir.

Avşar ve arkadaşlarının (54) çalışmamıza benzer şekilde % 4 AA ile oluşturdukları deneysel kolit modelinde, infliksımab, allopürinol ve bu iki ilacın kombinasyonlarının tedavi etkinliği araştırıldı. Sham grubu ve tedavi gruplarında histopatolojik skorlar kolit grubuna göre ( $p<0.001$ ) anlamlı oranda düşüktü. Yine kombine tedavi grubunda histopatolojik skorlar allopürinol ve infliksımab gruplarına göre anlamlı oranda düşüktü. MPO seviyeleri kolit grubunda her üç tedavi grubuna göre

( $p<0.001$ ) ve sham grubunda tüm kolit gruplarına göre ( $p<0.001$ ) anlamlı olarak daha yüksekti. MDA seviyesi açısından gruplar arasında fark yoktu. Çalışmamızdan farklı olarak 1 cc AA kullanılmış ve tedavi süresi 48 saat olarak belirlenmiştir. Sonuçlar çalışma sonuçlarımızla uyumlu olup, çalışma gruplarımızdan grup III ve V' de grup II' ye göre hem histopatolojik skorlar hemde TNF- $\alpha$  düzeyleri ( $p<0.001$ ) anlamlı oranda daha düşüktü. TP ve infliksimab alan grup V' de bir kısım parametreler diğer tedavi gruplarına göre daha iyi olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi.

Triantafillidis ve arkadaşları (13) TNBS ile oluşturulan deneysel kolit modelinde infliksimab' ın 5, 10, 15 mg/kg s.c. dozlarını kullanmışlardır. Çalışmada, tedavi verilmeyen kontrol grubunda TNF- $\alpha$  ve MDA seviyeleri belirgin olarak artmışken, infliksimab 5 mg alan grupta, en iyi mukozal iyileşme, 10 mg alan gruptan daha düşük TNF- $\alpha$  seviyeleri ve 15 mg alan gruptan daha düşük MDA seviyeleri elde edilmiştir. Çalışmamızda infliksimabın 5 mg/kg dozunun kullanıldığı grup III ve TP ile kombine edildiği grup V' de, grup II' ye göre histopatolojik skorlar (sırasıyla, Mak:  $p=0.020$  ve  $p=0.007$  ve Mik:  $p<0.001$ ) anlamlı oranda daha iyiydi. Yine TNF- $\alpha$  düzeyi her iki grupta, grup II' ye göre ( $p<0.001$ ) anlamlı oranda daha düşüktü. Grup II ve V' in TNF- $\alpha$  düzeyi grup IV' den daha düşük olmasına rağmen istatistiki olarak anlamlı fark yoktu.

Baghaei ve arkadaşlarının (61) TNBS ile ratlarda oluşturdukları deneysel kolit modelinde 14 gün 5 mg/kg s.c. dozunda verilen infliksimab tedavisi, kolit grubuna göre histopatolojik skorlarda, doku TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , MPO, TBARS ilişkili lipid peroksidasyonunda ve Fe indirgeyici antioksidan güçte (FRAP) istatistiksel olarak anlamlı düzelme yapmış olup, sonuçlar çalışmamızdaki infliksimab tedavisi verilen gruplardaki sonuçlarla benzerdir.

Deneysel çalışma sonuçları değerlendirilirken, kullanılan kimyasalın miktarının, yoğunluğunun, temas süresinin, kullanılan deneklerin cins, tür ve sayılarının, verilen tedavilerin dozlarının ve sürelerinin, deney öncesi, deney sırasındaki ve deney sonrasındaki deneğe, ortama ve araştırmacıya ait çevresel faktörlerin çalışma sonuçlarını etkileyebileceği açıktır.

AA % 4' lük çözeltisinin rat kolonuna uygulanması oksidatif hasar oluşturdu. TP' un sulu ekstresinin 400 mg/kg dozunda verilmesiyle mikroskopik skorlarda düzelme, TAK düzeylerinde artma ve TNF-  $\alpha$  düzeylerinde anlamlı azalma saptandı.

AA ile oluşturulan deneysel kolit modelinde TP' un antiinflamatuar ve antioksidan kapasiteyi artırıcı etkileri vardır.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Asetik asit ile ratlarda oluşturulan deneysel kolit modelinde TP' un sulu ekstresi ve antiTNF- $\alpha$  ajan infliksimabın inflamatuvar ve oksidatif süreçlerdeki etkilerinin araştırılmasını amaçlayan bu çalışmada aşağıdaki sonuçlar elde edildi.

1. AA'in % 4' lük çözeltisinin rat kolonuna uygulanması akut kolit ile uyumlu inflamatuvar değişiklikler oluşturdu.
2. Tüm kolit gruplarında sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı kilo kaybı görüldü.
3. TP' un sulu ekstresinin 400 mg/kg/gün dozunda oral olarak verilmesi, mikroskopik skorlarda, TAK ve TNF- $\alpha$  düzeylerinde kolit grubuna göre istatistiki olarak anlamlı düzelme yaptı.
4. TP' un sulu ekstresi ile makroskopik skorlarda ve TOS düzeyinde kolit grubuna göre daha düşük değerler elde edilmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi.
5. İnfliksımab' ın 5 mg/kg/gün dozunda sc olarak uygulanması AA kolit modelinde makroskopik, mikroskopik skorlarda ve TNF-  $\alpha$ , TAK ve TOS düzeylerinde kolit grubuna gre istatistiksel olarak anlamlı iyileşme sağladı.
6. İnfliksımab tedavi grubunda TP tedavi grubuna göre sayılan parametrelerde genel olarak daha iyi sonuçlar elde edilmesine rağmen istatistiksel anlamlılık oluşmadı.
7. Grup V' de infliksımab ve TP' un beraber verilmesi ek iyileşme sağlamadı.
8. İleride bu konuda yapılacak çalışmalarda; hayvan sayısının daha fazla olması, TP' un farklı dozlarının kullanılması, hepatotoksisite gibi yan etkilerini de içermesi, AA dışındaki diğer kolit oluşturan ajanlarda denenmesi ve daha uzun süreli tedavi etkinliğinin araştırılması önerilir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Podolsky DK. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med.* 2002;347:417-429.
2. Sartor RB. Pathogenesis and immune mechanism of chronic inflammatory bowel diseases. *Am J Gastroenterol.* 1997;92:5-11.
3. Damiani CR, Benetton CA, Stoffel C, Bardini KC, Cardoso VH, Di Giunta G, et al. Oxidative stress and metabolism in animal model of colitis induced by dextran sulfate sodium. *J Gastroenterol Hepatol.* 2007;22:1846-1851.
4. Ardizzone S, Bianchi Porro G. Biologic therapy for inflammatory bowel disease. *Drugs.* 2005;65:2253-2286.
- 5- Rahimi R, Mozaffari S, Abdollahi M. On the use of herbal medicines in management of inflammatory bowel diseases: a systematic review of animal and human studies. *Dig Dis Sci.* 2009;54:471-480.
6. Galati EM, Mondello MR, D'Aquino A, Miceli N, Sanogo R, Tzakou O, et al. Effects of *Teucrium divaricatum* Heldr. ssp. *Divaricatum* decoction on experimental ulcer in rats. *J Ethnopharmacol.* 2000;72:337-342.
7. Bahramikia S, Yazdanparast R. Phytochemistry and Medicinal Properties of *Teucrium polium* L. (Lamiaceae). *Phytother Res.* 2012; doi:10.1002/ptr.4617.
8. Hasani P, Yasa N, Vosough-Ghanbari S, Mohammadirad A, Dehghan G, Abdollahi M. In vivo antioxidant potential of *teucrium polium*, as compared to a-tocopherol. *Acta Pharmaceutica.* 2007;57:123-129.
9. Couladis M, Tzakou O, Verykokidou E, Harvala C. Screening of some Greek aromatic plants for antioxidant activity. *Phytother Res.* 2003;17:194-195.
10. Sharififar F, Dehghn-Nudeh G, Mirtajaldini M. Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium* L. *Food Chem.* 2009;112:885-888.

11. Reimund JM, Wittersheim C, Dumont S, Muller CD, Baumann R, Poindron P, et al. Mucosal inflammatory cytokine production by intestinal biopsies in patients with ulcerative colitis and Crohn's disease. *J Clin Immunol.* 1996;16:144-150.
12. Lawson MM, Thomas AG, Akobeng AK. Tumour necrosis factor alpha blocking agents for induction of remission in ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006;19:CD005112.
13. Triantafillidis JK, Papalois A, Parasi A, Anagnostakis E, Burnazos S, Gikas A, et al. Favorable response to subcutaneous administration of Infliximab in experimental colitis in rats. *World J Gastroenterol.* 2005;11:6843-6847.
14. Antonioli DA, Madara JL. Functional Anatomy of the Gastrointestinal Tract In: *Pathology of the Gastrointestinal Tract.* W.B. Saunders Co. Philadelphia, 1992:211-356.
15. Keith L. Moore-Arthur F. Dalley. *Pelvis ve Perineum, Kliniğe Yönelik Anatomi,* 4.Baskı, Nobel Kitabevi, İstanbul, 2007;385-388.
16. Gaurner F, Mabgelada JR. Gut flora in lealth and disease. *Lancet.* 2003;361;512-519.
17. Williams PL, Warwick R, *Gray's Anatomy (36th ed).* Churchill Livingstone, Edinburgh, 1980:874-936.
18. Kaymakoğlu S. İnflamatuvar Barsak Hastalıkları. ed. *Gastroenterohepatoloji, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2001;189-211.*
19. Sandler RS, Loftus Jr EV. Epidemiology of inflammatory bowel diseases. Gn: Sartor RB Sandborn WJ (eds). *Kirsner's inflammatory Bowel Disease.* Sandborn WJ (eds). Philadelphia, Saunders, 2004:245-262.
20. Shanahan F. Crohn's disease. *Lancet.* 2002;359:62-69.
21. Sands BE. Therapy of Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology.* 2000;118:68-82.

22. Mizoguchi E, Mizoguthi A, Takedatsu H, Cario E, de jong YP, Ooi CJ, et al. Role of tumor necrosis factor 2 (TNFR2) in colonic epithelial hyperplasia and chronic intestinal inflammation in mice. *Gastroenterology*. 2002;122:134-144.
23. Murch SH, Braegger CP, Walker-Smith JA, MacDonald TT. Location of tumour necrosis factor a by immunohistochemistry in chronic inflammatory bowel disease. *Gut*. 1993;34:1705-1709.
24. Gustot T, Lemmers A, Louis E, Nicaise C, Quertinmont E, Belaiche J, et al. Profile of soluble cytokine receptors in Crohn's disease. *Gut*. 2005;54:488-495.
25. Sandborn WJ, Targan SR. Biologic therapy of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2002;122:1592-1608.
26. Bernstein CN, Blanchard JF, Ravvsthorne P, Yu N. The prevalence of extraintestinal disease in inflammatory bowel disease: a population based study. *Am J Gastroenterol*. 2001;96:1116-1122.
27. Truelove SC, Witts LJ. Cortisone in Ulcerative Colitis: Final Report on Therapeutic Trial. *BMJ*. 1955;2:1041-1048.
28. Best WR, Beckett JM, Singleton JW, Kern FJ. Development of a Crohn's disease activity index. National Cooperative Crohn's Disease Study. *Gastroenterology*. 1976;70:439-444.
29. Gasche C, Schönmeierich J, Brynskov J, D'Haens G, Hanauer SB. A simple classification of Crohn's disease: report of the working party for the world congresses of gastroenterology Vienna 1998. *Inflamm Bowel Dis*. 2000;6:8-15.
30. Rachmilewitz D. Coated mesalazine (5-aminoalicylic acid) versus sulphasalazine in the treatment of active ulcerative colitis: a randomised trial. *BMJ*. 1989;298:82-86.
31. Uzunismail H. İnflamatuvar Barsak Hastalığı İBH. ed.Yazıcı H, Hamuryudan V, Sonsuz A. *Cerrahpaşa İç Hastalıkları*, İstanbul: Medical Yayıncılık, 2005:819-827.
32. Akpınar H. Crohn Hastalığı. ed. Tözün N, Şimşek H, Özkan H, Şimşek İ, Gören A. *Klinik Gastroenteroloji ve Hepatoloji*, MN Medikal & Nobel, Ankara, 2007:829-848.

33. Oberholzer A, Oberholzer C, Moldawer LL. Cytokine signaling regulation of the immune response in normal and critically ill states. *Crit Care Med.* 2000;28:3-12.
34. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi.* 1997;6:92-95.
35. Halliwell B. Free radicals and antioxidants: A personal view. *Nutrition Reviews.* 1994;52:253-265.
36. Seven A, Candan G. Antioksidan savunma sistemleri. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi.* 1996; 27:41-50.
37. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları, Konya, 1995.
38. Krawisz JE, Sharon P, Stenson WF. Quantitative assay for acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity. Assessment of inflammation in rat and hamster models. *Gastroenterology.* 1984;87:1344-1350.
39. Ljubuncic P, Dakwar S, Portnaya I, Cogan U, Azaizeh H, Bomzon A. Aqueous Extracts of *Teucrium polium* Possess Remarkable Antioxidant Activity In Vitro. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2006;3:329-338.
40. Abdolghaffari AH, Baghaei A, Moayer F, Esmaily H, Baeri M, Monsef-Esfahani HR, et al. On the benefit of *Teucrium* in murine colitis through improvement of toxic inflammatory mediators. *Hum Exp Toxicol.* 2010;29:287-295.
41. Mehrabani D, Bahrami F, Hosseini SV, Ashraf MJ, Tanideh N, Rezaianzadeh A, et al. The Healing Effect of *Teucrium polium* in Acetic Acid-induced Ulcerative Colitis in the Dog as an Animal Model. *Middle East J Dig Dis.* 2012;4:40-47.
42. Tepe B, Degerli S, Arslan S, Malatyali E, Sarikurkcu C. Determination of chemical profile, antioxidant, DNA damage protection and antiamebic activities of *Teucrium polium* and *Stachys iberica*. *Fitoterapia.* 2011;82:237-246.
43. Holtmann MH, Schuchmann M, Zeller G, Galle PR, Neurath MF. The emerging distinct role of TNF-receptor 2 (p80) signalling in chronic inflammatory disorders. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2002;50:279-288.



44. Danese S, Colombel JF, Reinisch W, Rutgeerts PJ. Review article: infliximab for Crohn's disease treatment shifting therapeutic strategies after 10 years of clinical experience. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011;33:857-869.
45. Ringheanu M, Daum F, Markowitz J, Levine J, Katz S, Lin X, et al. Effects of infliximab on apoptosis and reverse signaling of monocytes from healthy individuals and patients with Crohn's Disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2004;10:801-810.
46. Ebert EC. Infliximab and the TNF-alpha system. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2009;296:612-620.
47. Kawada M, Arihiro A, Mizoguchi E. Insights from advances in research of chemically induced experimental models of human inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 2007;13:5581-5593.
48. Dieleman LA, Elson CO, Tennyson GS, Beagley KW. Kinetics of cytokine expression during healing of acute colitis in mice. *Am J Physiol.* 1996;271:130-136.
49. Fabia R, Willén R, Ar'Rajab A, Andersson R, Ahrén B, Bengmark S. Acetic acid-induced colitis in the rat: a reproducible experimental model for acute ulcerative colitis. *Eur Surg Res.* 1992;24:211-25.
50. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.* 2005;38:1103-11.
51. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem.* 2004;37:112-119.
52. Millar AD, Rampton DS, Chander CL, Claxson AWD, Blake DR. Evaluating the antioxidant potential of new treatments for inflammatory bowel disease in a rat model of colitis. *Gut.* 1996;39:407-415.
53. Ackerman Z, Karmeli F, Cohen P, Rachmilewitz D. Experimental colitis in rats with portal hypertension and liver disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2003;9:18-24.
54. Osama MA, Alaa A, Tarek MA, Shima AR, Ayman MM. Ameliorative Effects of Sildenafil in Acetic Acid-Induced Chronic Colitis in Rats. *Life Science Journal.* 2012;9:354-361.

55. Avşar FM, Aydın OU, Şahin M, Aydın S, Paşaoğlu H, Han Ü. Deneysel Akut Ülseratif Kolit Modelinde infliksimab ve allopurinol'ün Etkilerinin İncelenmesi. Selçuk Tıp Dergisi. 2009;7-16.

56. İsmail Cem Eray. Deneysel kolit modeli üzerine glutamin, N-asetil sistein ve intrarektal metotreksatın etkilerinin incelenmesi. Uzmanlık Tezi. Tez Danışmanı Prof. Dr. Ömer Alabaz. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Adana 2009.

57. Demirel U, Harputluoglu MM, Us SB, Kaya E, Sahin N, Aydın NE, et al. The effects of Teucrium polium on ionizing radiation-induced intestinal damage in rats. Acta Gastroenterol Belg. 2011;74(4):491-496.

58. Rutgeerts P, Sandborn WJ, Feagan BG, Reinisch W, Olson A, Johanns J, et al. Infliximab for induction and maintenance therapy for ulcerative colitis. N Engl J Med. 2005;233:2462-2476.

59. Hanauer SB, Feagan BG, Lichtenstein GR, Mayer LF, Schreiber S, Colombek JF, et al. Maintenance infliximab for Crohn's disease: the ACCENT I randomised trial. Lancet. 2002; 359:1541–1549.

60. Sands BE, Anderson FH, Bernstein CN, Chey WY, Feagan BG, Fedorak RN, et al. Infliximab maintenance therapy for fistulizing Crohn's disease. N Engl J Med. 2004;350: 876–885.

61. Baghaei A, Esmaily H, Abdolghaffari AH, Baeeri M, Gharibdoost F, Abdollahi M. Efficacy of Setarud (IMod), a novel drug with potent anti-toxic stress potential in rat inflammatory bowel disease and comparison with dexamethasone and infliximab. Indian J Biochem Biophys. 2010;47:219-26.

## 8. EKLER

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU  
UNIVERSITY OF GAZİANTEP, ANIMAL EXPERIMENTS LOCAL ETHICS COMMITTEE  
GAZİANTEP-TÜRKİYE

## ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL NO					
	ARAŞTIRMA ADI	Asetik asit ile oluşturulan deneysel akut kolit modelinde infliksimab ve teucrium poliumun etkilerinin karşılaştırılması				
	SORUMLU ARAŞTIRICI UNVANI/ADI/BİRİMİ	Prof.Dr.Abdurrahman KADAYIFÇI G.Ü.Tıp Fak.İç Hastalıkları A.D				
	DİĞER ARAŞTIRICILARIN UNVANI/ADI/BİRİMİ	Uzm.Dr.Muhammed Sait DAĞ G.Ü.Tıp Fak.İç Hastalıkları A.D Yrd.Doç.Dr.Musa AYDINLI G.Ü.Tıp Fak.İç Hastalıkları A.D Yrd.Doç.Dr.Tuncer DEMİR G.Ü.Tıp Fak.Fizyoloji A.D. Doç.Dr.Seyithan TAYSI G.Ü.Tıp Fak. Biyokimya A.D. Doç.Dr.Ediz TUTAR G.Ü.Tıp Fak.Patoloji A.D.				
	KOORDİNATÖR MERKEZ DESTEKLEYİCİ					
DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Tarih				
	DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKASI	Var/ 02-18 Haziran 2008				
	BAŞVURU TAAHHÜTNAMESİ	Var/ 06.06.2011				
ÇALIŞMA ESASI	İYİ LABORATUVAR UYGULAMALARI KLAVUZU					
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 06.2011- 02		Tarih: 22.06.2011			
	Üniversitemiz Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Abdurrahman KADAYIFÇI'nın sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda bilgileri verilen hayvan deneyleri araştırma amaçlı başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak 22.06.2011 tarihli Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul toplantısında incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir.					
ETİK KURUL ÜYELERİ						
Unvanı /Adı/ Soyadı Etik Kurul Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof.Dr.Celalettin CAMCI Başkan	Tıbbi Onkoloji	Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	Katılmadı
Prof.Dr.A.Tuncay DEMİRÜREK Başkan Yardımcısı	Tıbbi Farmakoloji	Tıp Fakültesi Farmakoloji A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr.Şükran YAĞCI YÜCEL Üye	Biyoloji	Fen-Ed.Fak. Biyoloji Bölümü	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr.Ahmet ERBAĞCI Üye	Üroloji	Tıp Fakültesi Üroloji A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç.Dr.Oral SÖKÜCÜ Üye/Raportör	Diş Hekimliği	Diş Hekimliği Fakültesi	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	Katılmadı
Yrd.Doç.Dr.Neşe KIZILKAN Üye/Eğitim Sorumlusu	Anatomi	Tıp Fakültesi Anatomi A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd.Doç.Dr.Ayhan ERALP Üye	Histoloji ve Embriyoloji	Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Avukat Murat GÜNERİ Üye	Avukat	Serbest Avukat	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	Katılmadı
M.Celal ÖZSÖYLER Üye	Veteriner Hekim	Sivil Üye	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	Katılmadı

\* Araştırma ile İlişki \*\* Toplantıda Bulunma