



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL KOLİT MODELİNDE KOENZİM Q10'UN
KORUYUCU ETKİNLİĞİNİN KOLON DOKUSUNDA
ARAŞTIRILMASI**

AHMET NEDİM KADİFECİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

KAHRAMANMARAŞ 2017

**T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL KOLİT MODELİNDE KOENZİM Q10'UN
KORUYUCU ETKİNLİĞİNİN KOLON DOKUSUNDA
ARAŞTIRILMASI**

**AHMET NEDİM KADİFECİ
YÜKSEK LİSANS**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Ergül BELGE KURUTAŞ**

**Jüri Üyesi Jüri Üyesi
Yrd.Doç.Dr.Muhammed SEYİTHANOĞLU Prof. Dr. Serap YALIN**

KAHRAMANMARAŞ 2017

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Ahmet Nedim Kadifeci tarafından hazırlanan “Deneysel Kolit Modelinde Koenzim Q10’un Koruyucu Etkinliğinin Kolon Dokusunda Araştırılması” adlı bu tez, jürimiz tarafından 27/12/2017 tarihinde oy birliği ile Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans olarak kabul edilmiştir.

Prof.Dr.Ergül BELGE KURUTAŞ

Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı, KSÜ

Yrd.Doç.Dr.Muhammed SEYİTHANOĞLU

Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı, KSÜ

Prof.Dr.Serap YALIN

Biyokimya Ana Bilim Dalı, MEÜ

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım.

Prof.Dr.MEHMET BOŞNAK

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Ahmet Nedim KADİFECİ

Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 2016/6-35 YLS

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Eğitimim süresi boyunca her türlü bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, tezimin her aşamasında ilgi ve desteğini aldığım ve fikirlerinden faydalandığım saygı değer hocam Prof. Dr. Ergül BELGE KURUTAŞ'a

Eğitimim sırasında yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı hocam Prof. Dr. Metin KILINÇ ve Öğretim üyeleri hocalarım Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN ' a , Yrd. Doç. Dr. Muhammed SEYİTHANOĞLU'a, Doç. Dr. Mehmet ŞAHİN'e, Yrd. Doç. Dr. Filiz ALKAN BAYLAN'a,

Tez çalışmama histopatolojik incelemeleriyle önemli katkılarda bulunan Prof. Dr. Sevgi BAKARIŞ hocama,

Tez çalışmamda yardımlarını esirgemeyen doktora öğrencisi Safiye Şeyma TANER'e ve arkadaşım Tıbbi Biyokimya Yüksek Lisans öğrencisi Erkan ÖNER'e,

Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma laboratuvarı personelimiz Abdullah YILMAZ'a,

Her zaman maddi manevi yanımda olan ve her türlü desteğini üzerimden hiç bir zaman eksik etmeyen saygı değer babama, sevgili anneme, kardeşime en içten teşekkürü bir borç bilirim.

Bu araştırma, 2016/6-35 YLS kodlu proje olarak Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.

Aralık-2017

Ahmet Nedim KADİFECİ

DENEYSSEL KOLİT MODELİNDE KOENZİM Q10'UN KORUYUCU ETKİNLİĞİNİN KOLON DOKUSUNDA ARAŞTIRILMASI

Yüksek Lisans Tezi

Ahmet Nedim KADİFECİ

ÖZET

Giriş ve Amaç: İnflamatuar bağırsak hastalıkları (İBH), etiyojisi belli olmayan, genetik ve çevresel faktörler ile intestinal immün faktörler arasındaki etkileşim sonucu ortaya çıktığına inanılan sistemik hastalık grubudur. Son yıllarda İBH'da belirgin bir artış dikkati çekmektedir. Deneysel olarak bir çok çalışma yapılmasına rağmen, klinik pratikte tam bir tedavi sağlayabilen ajan bulunamamıştır. İBH patogeneğinde, oksidatif stres ve inflamasyon önemli risk faktörleridir. Bu çalışmada ratlarda asetik asit ile oluşturulan deneysel kolit modelinde koenzim Q10'un koruyucu etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışma 200-220 gr ağırlığında 24 adet erkek Wistar-albino cinsi rat üzerinden üç gruba ayrılarak gerçekleştirildi. Tüm gruplardaki her bir rat ketamin ile anestezi uygulandıktan sonra operasyona başlandı. Grup 1 (Kontrol): Kontrol grubuna intraperitoneal (İP) yolla sadece serum fizyolojik 1 mL (%0,9 NaCl) verildi. Grup 2 (Kolit+Serum Fizyolojik grubu): Kolit grubundaki ratlar 30° trendelenburg pozisyonuna getirilerek 8 mm'lik kateter, rektal yoldan 6 cm ileriye uzanacak şekilde yerleştirilen ve ratlara 1 mL, pH 2.4, % 4'lük asetik asit intrarektal (İR) olarak uygulanan ve eş zamanlı olarak İP yoldan 1 mL serum fizyolojik (nötr pH'da % 0.9'luk NaCl) verildi. Grup 3 (Tedavi grubu; Kolit+CoQ10): Kolit grubundaki ratları 30° trendelenburg pozisyonuna getirilerek 8 mm'lik kateter, rektal yoldan 6 cm ileriye uzanacak şekilde yerleştirilen ve ratlara 1 mL, pH 2.4, % 4'lük asetik asit intrarektal (İR) olarak uygulanan ve eş zamanlı olarak İP yoldan 1 mL koenzim Q10 (10 mg/ml/kg⁻¹) verildi. Deney sonunda her üç grubun barsak dokuları çıkarıldı. Barsak dokusunda oksidatif/nitrozatif stres biyobelirteçleri olarak; katalaz (CAT), superoksit dismutaz (SOD), redükte glutatyon (GSH), malondialdehit (MDA), Nitrik oksit (NO) düzeyleri spektrofotometrik olarak ölçülürken, nitrotirozin (3-NT) düzeyleri ELIZA ile ölçüldü. Dokuların histopatolojik incelenmesi ışık mikroskopi ile yapıldı.

Bulgular: Kolit grubunda kontrol ve tedavi gruplarına göre MDA, NO, 3-NT düzeyleri artarken CAT, SOD ve GSH düzeyleri anlamlı olarak azalmıştır ($p<0.05$). Çalışmamızda kolit grubundaki ratların hepsinde makroskobik hasar gözlemlendi. Ayrıca mikroskobik hasarlanma bulguları olan epitelyal hücre kaybı, kript absesi ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu oluşmayan denek yoktu. Bulgularımız kolit modelinin başarıyla gerçekleştirildiğini göstermektedir. Histopatolojik incelemede tedavi grubunda kolit grubuna göre söz konusu bulguların daha hafif düzeyde olduğu gözlemlendi.

Sonuç: Deneysel olarak %4'lük asetik asit ile oluşturulan kolit hasarı modelinde koenzim Q10 ile tedavi uygulandığında histopatolojik olarak düzelme sağlandığı ve biyokimyasal olarak oksidatif/nitrozatif stres düzeylerinde belirgin düzeyde azalma olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Koenzim Q10, Kolit modeli, Kolon , Nitrozatif/Oksidatif Stres

Sayfa Adedi: 97

Danışman: Prof.Dr.Ergül BELGE KURUTAŞ

INVESTIGATION OF PROTECTIVE EFFECT OF COENZYME Q10 IN EXPERIMENTAL COLITIS

Master Thesis

Ahmet Nedim KADİFECİ

ABSTRACT

Objective: Inflammatory bowel disease (IBD) is a systemic disease, with unknown etiology, believed to result from the interaction between genetic and environmental factors and intestinal immune factors. Recently, there is a significant increase in prevalence of IBD but although many experimental studies have been performed, no agent could be found providing a complete cure in clinical practice. Oxidative stress and inflammation are considerable risk factors in the pathogenesis of inflammatory bowel disease (IBD). In this study we aimed to protect the effects of coenzyme Q10 on intestinal epithelium in chronic colitis induced rats.

Material and Method: This study was carried out by dividing 24 male Wistar-albino rats weighing 200-220 grams into three groups. Rats were anesthetized with ketamine. Then the operation started. Group 1 (Control): 1 mL of saline (0.9 %NaCl) was administered intraperitoneally (IP) to the sham group. Group 2 (Colitis+Serum Physiological): The rats in the colitis group were brought to the trendelenburg position with a 30 degree, the 8 mm catheter was positioned to extend 6 cm from the rectal tract and rats were given 1 mL serum physiological (0.9% NaCl at neutral pH) 1 mL pH 2.4 %4 acetic acid intrarectal (IR) administered concurrently with IP route. Group 3 (Colitis+Co Q10): The rats in the colitis group were brought to the trendelenburg position with a 30 degree, the 8 mm catheter was positioned to extend 6 cm from the rectal tract and rats were given 1 mL coenzym Q10 (10 mg/ml/kg⁻¹) 1 mL pH 2.4 % 4 acetic acid intrarectal (IR) administered concurrently with IP route. In the end of the experiment, the tissues of bowel of each three groups were extracted. In the bowel tissue, as oxidative/nitrosative stress biomarkers, while the levels of catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), reduced glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA), nitric oxide (NO) were measured spectrometrically, the levels of nitrotyrosin (3-NT) were measured with ELISA. The histopathological examination of tissues was conducted with light microscope.

Results: While the levels of MDA, NO and 3-NT were increased in the colitis group compared to control and treatment groups, CAT, SOD and GSH levels were significantly decreased ($p < 0.05$). In our study macroscopic damage was observed in all rats of the colitis group. There was also no occurred rat on evidence of microscopic damage, epithelial cell loss, crypt abscess and inflammatory cell infiltration. Our findings show that the colitis model has been performed successfully. Histopathologic examination showed that the treatment group was lighter findings than the colitis group.

Conclusion: Experimentally, when treated with coenzyme Q10, it was ameliorated as histopathologic and oxidative/nitrosative stress levels were significantly reduced as biochemically in induced-colitis injury model with 4% acetic acid.

Key Words: Coenzyme Q10, Colitis Model, Colon, Nitrosative/Oxidative Stress

Page Number: 97

Supervisor: Prof.Dr.Ergül BELGE KURUTAŞ

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

| | |
|---|----|
| ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR..... | I |
| ÖZET | II |
| ABSTRACT..... | IV |
| İÇİNDEKİLER | VI |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ | IX |
| 1. GİRİŞ AMAÇ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 2 |
| 2.1. İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları | 2 |
| 2.1.1 Crohn Hastalığı | 3 |
| 2.1.2 Ülseratif Kolit Hastalığı | 4 |
| 2.2. Epidemiyoloji..... | 6 |
| 2.3. Etyoloji ve Patogenez..... | 7 |
| 2.3.1.Çevresel Faktörler | 10 |
| 2.3.2. Genetik Faktörler | 11 |
| 2.3.4. İmmunolojik Faktörler | 11 |
| 2.4 Kollitte Laboratuvar | 12 |
| 2.5. Kolit Tedavisi..... | 14 |
| 2.6. Deneysel Kolit Modeli | 15 |
| 2.7. Serbest Radikaller | 17 |
| 2.7.1 Süperoksit Radikali | 18 |
| 2.7.2. Hidrojen Peroksit | 19 |
| 2.7.3. Hidroksil Radikali | 20 |
| 2.7.4. Singlet oksijen..... | 21 |
| 2.8. Serbest Oksijen Radikallerinin Biyolojik Hedefleri | 21 |
| 2.8.1. Membran Lipidlerine Etkileri | 22 |
| 2.8.2. Proteinlere Etkileri | 22 |
| 2.8.3. Nükleik Asit ve DNA'ya Etkileri..... | 23 |

| | |
|---|----|
| 2.8.4. Karbonhidratlara Etkileri | 23 |
| 2.9. Antioksidan Savunma Mekanizmaları | 23 |
| 2.9.1. Enzimatik Antioksidanlar | 24 |
| 2.9.1.1. Süperoksit Dismutaz..... | 24 |
| 2.9.1.2. Katalaz | 25 |
| 2.9.1.3. Glutasyon Peroksidaz..... | 25 |
| 2.9.1.4. Glutasyon Redüktaz | 26 |
| 2.9.1.5. Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz | 27 |
| 2.9.2. Enzimatik Olmayan Endojen Antioksidanlar | 27 |
| 2.9.2.1. Glutasyon | 27 |
| 2.9.2.2. C Vitamini | 28 |
| 2.9.2.3. E Vitamini | 28 |
| 2.9.2.4. Beta Karoten | 29 |
| 2.9.2.5. Melatonin..... | 29 |
| 2.9.2.6. Ürik Asit | 29 |
| 2.9.2.7. Bilirubin..... | 29 |
| 2.9.3. Eksojen Antioksidanlar | 30 |
| 2.10. Koenzim Q10'un Tarihçesi ve Tanımı..... | 30 |
| 2.10.1. Koenzim Q10'un Yapısı ve Biyosentezi..... | 31 |
| 2.10.2. Koenzim Q10'un Antioksidan Fonksiyonu | 32 |
| 3. MATERYAL VE METOD..... | 35 |
| 3.1. Deney Hayvanları | 35 |
| 3.2. Deney Grupları..... | 35 |
| 3.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler | 37 |
| 3.4. Çalışmada Kullanılan Cihazlar | 38 |
| 3.5. Deneysel Kolit Modeli | 38 |
| 3.6. Homojenat Hazırlama | 39 |
| 3.7. Protein Düzeyinin Tayini | 39 |
| 3.8. Malondialdehit (MDA) Düzeyinin Tayini | 41 |
| 3.9. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivite Tayini | 44 |
| 3.10. Redükte Glutasyon Tayini | 47 |
| 3.11. Katalaz (CAT) Aktivite Tayini | 49 |
| 3.12. NO (nitrit+nitrat) ölçüm yöntemi..... | 50 |
| 3.13. Nitrotirozin (3-NT) Düzeyi..... | 52 |

| | |
|---|----|
| 3.14. Histopatolojik Değerlendirme..... | 52 |
| 3.15. İstatistik..... | 52 |
| 4. BULGULAR..... | 53 |
| 4.1. Oksidatif/Nitrozatif Stres Biyobelirteç Sonuçları..... | 53 |
| 4.2. Histopatolojik Bulgular..... | 57 |
| 4.2.1. Makroskopik Skorlama..... | 57 |
| 4.2.2.Mikroskopik Skorlama..... | 58 |
| 5. TARTIŞMA..... | 62 |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER..... | 68 |
| 7. KAYNAKLAR..... | 69 |
| 8. ŐEKİLLER DİZİNİ..... | 79 |
| 9. TABLOLAR DİZİNİ..... | 80 |
| 10. RESİMLER DİZİNİ..... | 81 |
| 11. GRAFİKLER DİZİNİ..... | 81 |
| 12. EKLER..... | 82 |
| 13. ÖZGEÇMİŞ..... | 83 |

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|--|---|
| ATP | : Adenozin Trifosfat |
| ADP | : Adenozin Difosfat |
| KoQ | : Koenzim Q |
| NADPH | : Redükte Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat |
| O₂⁻ | : Süperoksit Anyon Radikali |
| HOCl | : Hipoklorik Asit |
| H₂O₂ | : Hidrojen Peroksit |
| ROR | : Reaktif Oksijen Radikalleri |
| KSÜ | : Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi |
| O₂ | : Oksijen |
| DNA | : Deoksiribonükleik Asit |
| FAD | : Flavın Adenin Dinükleotit |
| OH[·] | : Hidroksil Radikali |
| ¹O₂[·] | : Singlet Oksijen |
| H[·] | : Hidrojen Radikali |
| SOD | : Süperoksit Dismutaz |
| CAT | : Katalaz |
| ROO | : Peroksil Radikali |
| MDA | : Malondialdehit |
| GSSG | : Okside Glutasyon |
| GSH | : Redükte Glutasyon |
| GR | : Glutasyon Redüktaz |
| OD | : Optik Dansite |
| SOR | : Serbest Oksijen Radikalleri |
| NO | : Nitrik oksit |
| NT | : Nitrotrozin |
| İBH | : İnflamatuar Bağırsak Hastalığı |
| CH | : Crohn Hastalığı |

1. GİRİŞ AMAÇ

İnflamatuvar bağırsak hastalıkları (İBH), etiyolojisi belli olmayan, genetik ve çevresel faktörler ile intestinal immün faktörler arasındaki etkileşim sonucu meydana geldiğine inanılan sistemik hastalık grubudur. Son zamanlarda İBH'da belirgin bir artış dikkati üzerine çekmektedir ve deneysel anlamda bir çok çalışma yapılmasına rağmen, klinik pratikte tam bir tedavi sağlayabilen ajan bulunamamıştır. (İBH) patogeneğinde, oksidatif stres ve inflamasyon önemli risk faktörleridir.

İnflamatuvar bağırsak hastalıkları ülseratif kolit (ÜK) ve crohn hastalıkları (CH) olarak iki kısımda incelenir. Bu hastalıklar gastrointestinal kanalın kronik inflamatuvar hastalıklarıdır. Teşhis edilmeleri endoskopik yolla, klinik ve histolojik özelliklerini araştırarak yapılır. Fakat tek başına bir bulgu, bir veya diğer hastalık için kesin olarak tanısal değildir. Tanımı olmayan ülseratif kolit diye adlandırılan diğer grupta ise bazı hastalar arasında değişen klinik bir tabloya sahiptir (1).

Crohn hastalığı ve Ülseratif kolit ABD'de yaklaşık olarak 1.4 milyon, Avrupa'da ise 2.2 milyon insanı etkilemektedir (2). İnflamatuvar bağırsak hastalıklarının Kuzey Amerika ve Avrupa'daki insidansı 100.000'de 5, prevalansı ise yaklaşık olarak 100.000'de 50'dir. Son yıllarda İBH'nın insidans ve prevalansı, daha önce sık görüldükleri bölgeler olan Kuzey Amerika ve Avrupa'da stabil seyrederken, nispeten görülme sıklığının daha az olduğu bölgeler olan Güney Avrupa ve Asya'da artışa geçmiştir (3,4).

Hayvan modelleri İBH'de elli yıldan uzun bir süredir araştırmalarda kullanılmaktadır. Sonrasında koşulların iyileştirilmesi ve hayvan rahatlığının sağlanması için deneysel kolit modelleri geliştirilmiştir. Bu modellerin, hastalığın patojenezinin çalışılması ve terapötik ajanların keşfi için önemi büyüktür (5). Ortaya konulan bu modellerde, insanlarda oluşan İBH'nin birçok histopatolojik ve klinik özellikleri gözlenebilmektedir (6).

Bu çalışmada ise ratlarda oluşturulan deneysel kolit modelinde koenzim Q10'un koruyucu etkinliğini araştırmak amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları (İBH)

İnflamatuvar bağırsak hastalıkları ülseratif kolit (ÜK) ve crohn hastalıkları (CH) olarak iki sınıf altında incelenir. Bu hastalıklar gastrointestinal kanalın kronik inflamatuvar hastalıklarıdır. Teşhis edilmeleri endoskopik yolla, klinik ve histolojik özelliklerini araştırarak yapılır. Ancak tek başına bir bulgu, bir veya diğer hastalık için kesin olarak tanısal değildir. Tanımlanamayan ülseratif kolit diye isimlendirilen diğer grupta ise bazı hastalar arasında değişen klinik bir tabloya sahiptir (1). Belirgin anormal immun cevap ülseratif kolit ve crohn hastalığının karakterize özelliğidir. Vücudun enfeksiyona karşı korunması immun hücrelerle gerçekleşir ama inflamatuvar bağırsak hastalarında immun sistem yabancı maddeleri yakalama noktasında, bağırsaktaki yiyecek, bakteri ve diğer maddeleri ayırt edemeyerek barsak hücrelerine hücum eder. Organizma bu süreçte lökositleri kronik inflamasyonun olduğu yer olan barsak iç tabakalarına göndermektedir (7). İnflamatuvar bağırsak hastalığı genellikle dışkılama alışkanlıklarında farklılaşma ile karakterizedir. Kronik seyreden bir hastalıktır. Başta İngiltere, Kuzey Amerika ve İskandinav ülkeleri olmak üzere dünya üzerinde çok yaygın bir yayılım göstermektedir (8).



Şekil 1. İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları (9)

2.1.1. Crohn Hastalığı

Potansiyel olarak gastrointestinalin herhangi bir bölgesini ilgilendiren kronik inflamasyon durumu olarak bilinen Crohn hastalığı genellikle ince bağırsak sonu ile kalın bağırsak başlangıcını etki eden hastalıktır. Bu hastalıkta, bağırsak tabakalarının bütünü tutulmuştur. Hastalıklı bölümün dışındaki bölümler aralığındaki sağlıklı bağırsak dokusu devam etmektedir (10). İleum ve çekumda hastalık (hastaların %40'ı) ince bağırsağa lokalize hastalık (hastalarının %30'u) ve kolona lokalize hastalık (hastaların %25'i) olmak üzere Chron hastalığı üç majör formdan biriyle öne çıkar. Crohn hastalığı daha az sıklıkta, ağız, dil, özofagus, mide ve duodenum gibi gastrointestinalin daha proximal bölgelerini tutar (1). Üst gastrointestinal sistem tutulumlu Crohn Hastalığında tablo çok belirgin değildir. Özofagus tutulumunda disfaji, yanma meydana gelebilir (7). Hastalığın erken dönemlerinde aralıklarla remisyon görülürken, daha ileri dönemlerinde sık aralıklarla meydana gelen, şiddetli ve uzun süren belirtiler meydana gelir. Kronik ishal, karın ağrısı, şişkinlik, kilo kaybı, bulantı ve ateş sıklıkla görülen semptomlardır (11) (Tablo 1, Tablo 2).

Chron hastalığında inflamatuvar, stenozan, fistülizan klinik tip ayrımı yapılır. Karın ağrısı, ateş ve ishal inflamatuvar formda ön plandadır. Stenozan formda ise genel olarak yenileyen intestinal obstrüksiyon bulguları tabloya hakimdir. İnflamasyon nedeni ile meydana gelen ödem ve spazm intestinal obstrüksiyonun sebebi olabileceği gibi, yenileyen alevlenmelerle gerçek fibrozisin gelişimine bağlı striktür de yol açabilir (7). Crohn hastalığı tedavisinde aminosalisilatlar (5-ASA), steroidler, immun modifikatörler (azatioprin (AZA), 6-Merkaptopurin (6-MP) ve metotrexat (MTX), antibiyotikler (metronidazol, ampisilin, ciprofloksin ve diğerleri) ve biyolojik tedavi (influxamab) kullanılır. Hastalar için ilaçlar semptomları kontrol altına alamadığı durumlarda cerrahi tedavi gerekli olmaktadır. Crohn hastalarının 3/4'ü cerrahi tedavi almak zorunda kalmaktadırlar (12,13).

Tablo 1. Crohn Hastalığı Klinik Belirtileri (11)

| Klinik belirti | Görülme sıklığı |
|-------------------------|-----------------|
| İshal | 85% |
| Karın ağrısı, şişkinlik | 75% |
| Kilo kaybı | 50% |
| Ateş | %40-60 |
| Bulantı | %20-30 |
| Anal semptomlar | %10-20 |

Tablo 2. Crohn Hastalığında EİS Tutulumu ve Görülme Sıklığı (11)

| Ekstra intestinal sistem | Ekstra intestinal hastalık |
|--------------------------|---|
| Cilt-mukozal | Eritema nodozum Piyoderma gangrenosum |
| Romatolojik | Periferar artrit Ankilozan spondilit Sakroileit |
| Göz | Konjunktivit İritis/Üveit Episklerit |
| Hepatobilier | Primer sklerozan kolanjit Kolelithiazis Yağlı infiltrasyon Perikolanjit |
| Üriner | Nefrolithiazis Üreter darlığı |
| Diğer | Osteoporozis Vaskülit, Tromboemboli, Anemi Perikardit, Myokardit Akciğer hastalıkları |

2.1.2. Ülseratif Kolit Hastalığı

Ülseratif kolit kolon dokusunun mukozasına sınırlı, yenileyici, inflamasyon ataklarıyla karakterize inflamatuvar bağırsak hastalığıdır. Çoğu kez rektumu tutar. Hastalık %30-50 oranında proksimale etki edebilir. Gastrointestinal belirtiler hastalığın yerleşim bölgesine göre değişkenlik göstermektedir. En çok görülen semptomlar kanlı-mukuslu ishal, karın ağrısı, rektal kanamadır (14) (Tablo 3). Kanlı-mukuslu ishal sıklıkla gece ve yemeklerden sonra görülür. Ağrı daha fazla yemekle ve defekasyonla bağlantılı kolik tarzda, daha çok sol alt kadranı hedef alır. Kilo kaybı hem hastalıklı mukozadan serum proteinlerinin kaybına hemde ağrının güçlenmesi nedeniyle korkmuş olan hastanın oral alımını kısıtlamasına bağlı görülür. Özellikle rektum tutulumu olan hastalarda tenezm, hemetokezya ve defekasyon sıklığında artış görülmektedir. Ateş genellikle az yükselir, akut fulminan kolitte daha fazla yükselebilir.

Hastalığın şiddetine göre sınıflandırma da yapılmaktadır. Hafif şiddetli hastalık durumu: Rektuma sınırlı olan hastalarda, mukus pasajıyla beraber aralıklı rektal kanama, günde 4'den az hafif diyare görülür. Hafif kramp ile birlikte karın ağrısı, tenesmus ve

konstipasyon dönemleri de sık olarak gözlenir. Orta şiddette hastalık durumunda ise: En azından splenik fleksuraya kadar uzanan anatomik tutulumla karakterizedir. Klinik olarak sık, sulu, kanlı ishal, kan transfüzyonu gerektirmeyen anemi, etkisi çok olmayan karın ağrısı ve düşük dereceli ateş gözlenir. Nütrisyonel durum bozulmaz. Ülseratif kolit hastalarının yaklaşık %10'unda toksik megakolon görülür (15). Hastaların %90'ında acil cerrahi girişim gerekir ve mortal seyredebilir. Serbest perforasyon ülseratif kolit hastalarının yaklaşık %2'sinde görülür ve genellikle toksik kolit veya megakolon ile bağlantılıdır (16). Ülseratif kolit hastalarında kanser görülme prevalansı %3.5 civarındadır (17). Hastalığın süresi ve yaygınlığı arttıkça risk faktörü artar. Yaygın koliti olan hastalarda kolorektal kanser riski normal popülasyona göre 19 kat artmıştır. ÜK'de de EİS bulguları görülür. Bu belirtiler tipik olarak hastalığın aktif olduğu dönemde meydana gelir. Crohn hastalığına göre daha az sıklıkla görülürler ve çoğunlukla kolon tutulumuyla bağlantılıdır. En sık kas iskelet sistemi tutulumu görülür.

Tablo 3. Ülseratif Kolit Hastalığının Klinik Belirtileri (14)

| Klinik belirti | Görülme sıklığı |
|---------------------|-----------------|
| Kanlı-mukuslu ishal | %79 |
| Karın ağrısı | %71 |
| Rektal kanama | %55 |
| Kilo kaybı | %18 |
| Tenezm | %16 |
| Bulantı-kusma | %14 |
| Ateş | %11 |
| Kabızlık | %5 |

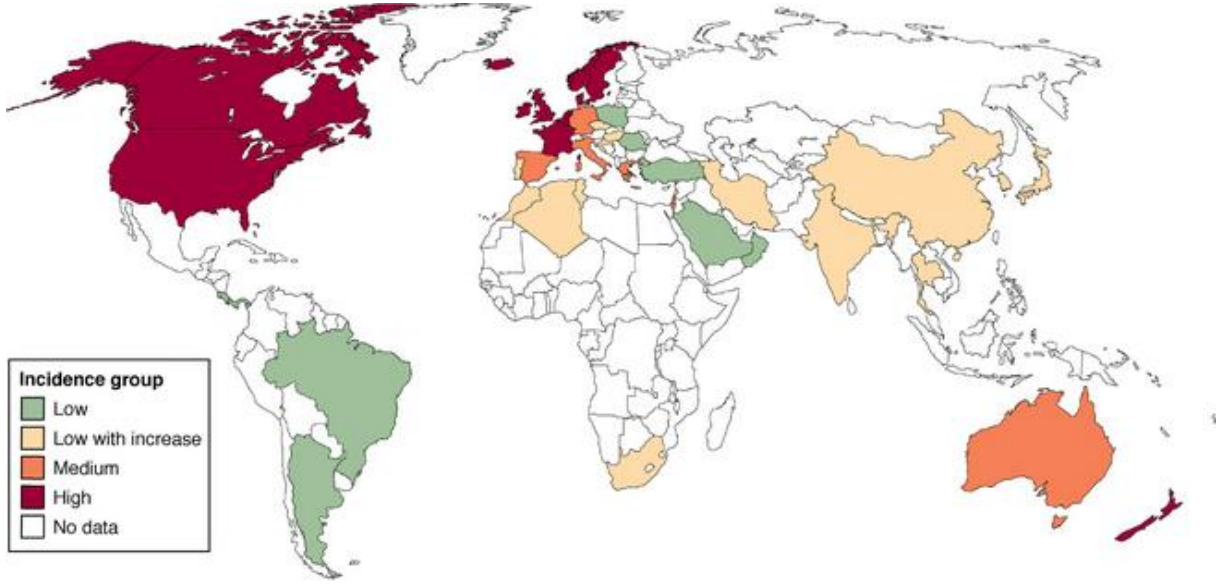
Tablo 4. Ülseratif Kolit'de EİS Tutulumu (14)

| Ekstra İntestinal Sistem | Ekstra İntestinal Hastalık |
|--------------------------|---|
| Kas- İskelet | Periferal artrit Ankilozan spondilit Sakroileit Hipertrofik osteoartropati Osteoporoz |
| Cilt | Eritema nodosum Pyoderma gangrenosum |
| Hepatobilier | Primer sklerozan kolanjit Kolelithiazis Hepatosteatoz Kolanjiosarkom |
| Göz | Konjunktivit İrit Episklerit Üveit |
| Pankreatik | Akut ve kronik pankreatit |
| Üriner | Pyelonefrit |
| Hematolojik | Tromboemboli, Anemi |
| Pulmoner | Kronik bronşit |
| Nörolojik | Optik nörit |
| Kardiyak | Perikardit, Myokardit |

2.2. Epidemiyoloji

Crohn hastalığı ve Ülseratif kolit ABD'de yaklaşık olarak 1.4 milyon, Avrupa'da ise 2.2 milyon insanı etkisi altına almıştır (2). İnflamatuvar bağırsak hastalıklarının Kuzey Amerika ve Avrupa'daki insidansı 100.000'de 5, prevalansı ise yaklaşık olarak 100.000'de 50'dir. Son zamanlarda İBH'nın insidans ve prevalansı, daha önce sık görüldükleri bölgeler olan Kuzey Amerika ve Avrupa'da stabil seyrederken, nispeten görülme sıklığının daha az olduğu bölgeler olan Güney Avrupa ve Asya'da artışa geçmiştir (3,4).

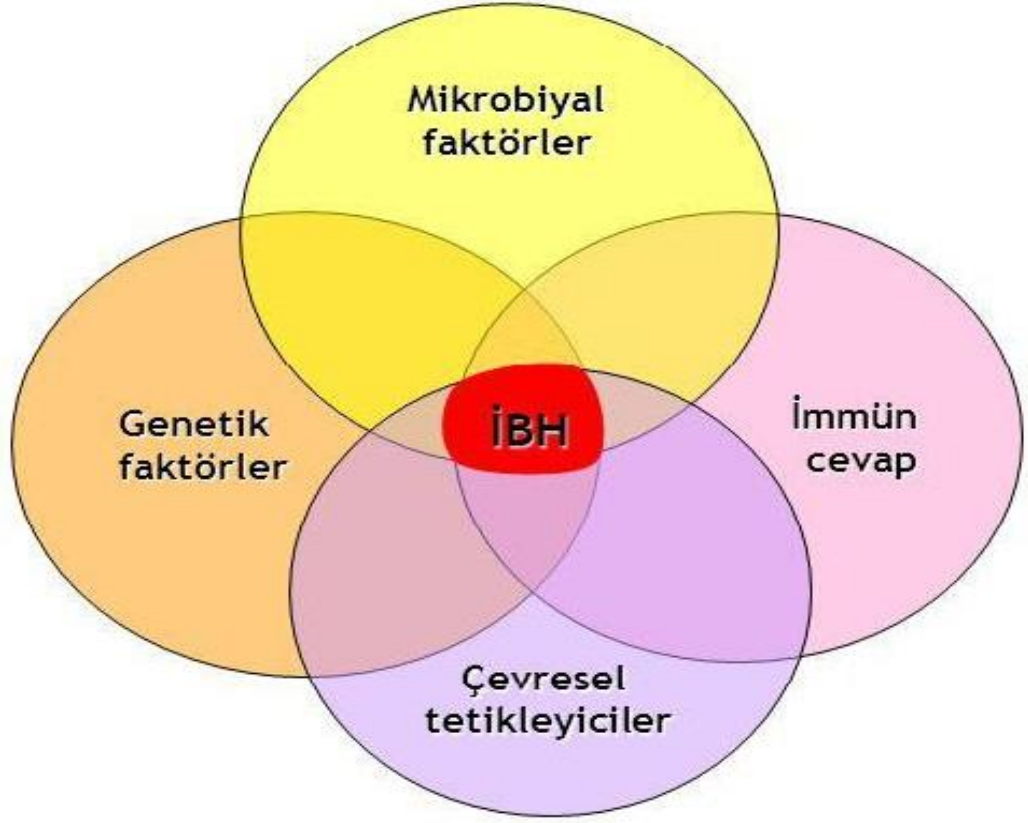
Ülseratif kolit sıklığı özellikle Japonya, Güney Kore ve Singapur'da belirgin olarak artmıştır (18,19). Her iki hastalık da yahudi ırkında ve beyaz ırkta sık görülür. ABD'de her iki hastalık siyah ırkta, beyaz ırka göre iki ile beş kat arasında daha az görülmektedir (7).



Şekil 2. İBH'nin Epidemiyolojisi (20)

2.3. Etyoloji ve Patogenez

Yapılan bir çok çalışmaya rağmen inflamatuvar bağırsak hastalıklarının etyolojisi ve patogenezini tam olarak anlayamamış ve aydınlatılamamıştır. Ancak olasılıkla; çevresel ve genetik faktörlerin yol açabileceği bozulmuş immün sistem regülasyonu, gastrointestinal (Gİ) lümen florasındaki mikroorganizmalara ve diyetle alınan antijenlere bağlı anormal gastrointestinal (Gİ) lümen ile ilgili faktörler ve lüminal faktörlerin bağırsak mukozasına penetrasyonuna izin veren defektif gastrointestinal mukozal bariyer varlığı gibi bir ya da daha çok faktörle beraber etkili olduğudur (21).

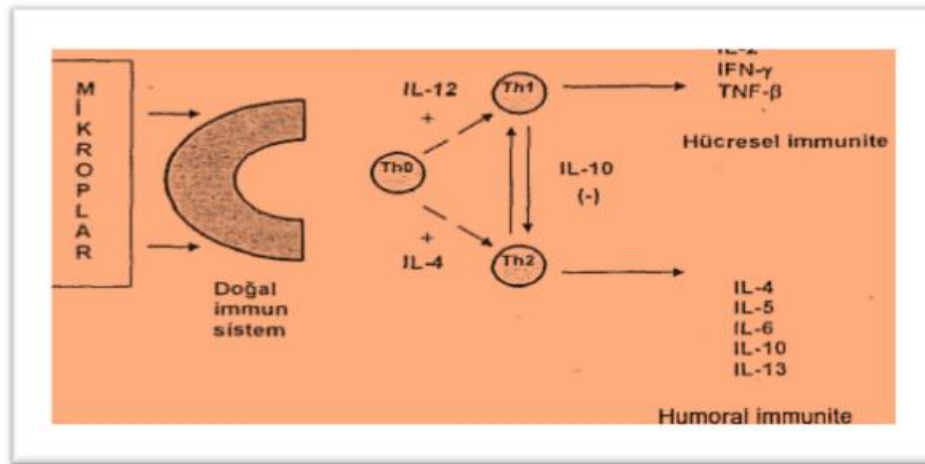


Şekil 3. İBH'nin Etyolojisi (22)

İnflamatuar bağırsak hastalıklarının genetik bir temele dayanabileceği öngörülmüştür. Crohn hastalığı gelişiminde genetik faktörler Ülseratif Kolit'e göre daha önemlidir. Birinci derece akrabaları arasında inflammatuar bağırsak hastalıkları bulunan kişinin hastalığa yakalanma riski 30-100 kat yüksek ve hastaların yaklaşık %15'inin birinci derece akrabalarında inflammatuar bağırsak hastalıkları mevcuttur. Yine monozigotik ikizlerde dizigotik ikizlere göre inflammatuar bağırsak hastalıklarının daha çok görüldüğü bulunmuştur. HLA DR-2, DR-B1*0103 doku grubu antijenleriyle ülseratif kolit arasında ve DQB1*4 ile CH arasında pozitif korelasyon olduğu çalışmalarla desteklenmiştir. Yine Ülseratif Kolit'e sıklıkla eşlik eden perinükleer boyalı antinötrofil stoplazmik antikor (pANCA)'un genetik olarak geçebileceği düşünülmüştür (7).

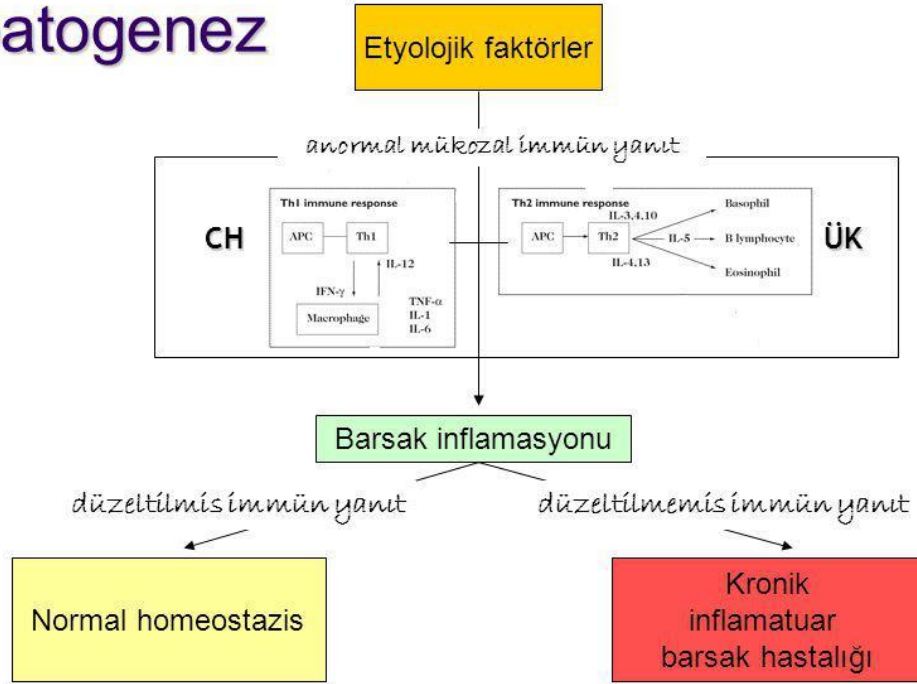
Birçok çevresel faktör inflammatuar bağırsak hastalıkları patogenezinde suçlanmış, ancak bunlarınhiçbiri kesin olarak kanıtlanamamıştır. Rafine gıda, aşırı karbonhidrat, nişasta ve yağ alımı, lifli gıda ile beslenme, kahve, alkol, tahıl, hububat ve anne sütünün etiyojideki işlevine ait çelişkili kabul edilen bulgular mevcuttur. Sigara Ülseratif Kolit'da koruyucu,

Crohn Hastalığı'nda ise uyarıcı ve alevlendirici etkilidir. Yine oral kontraseptif kullananlarda Crohn hastalığı sıklığı yükselmiştir. Nonsteroid antiinflamatuvar ajanların ve psikolojik stresin hastalığı alevlendirdiği ya da şiddetini arttırdığı bildirilmiştir. Kızamık enfeksiyonu ve aşısının crohn hastalığı riskini artırdığı öne atılmıştır. Yine Ülseratif Kolit'da E. coli ve Crohn Hastalığı'nda M. paratuberkülosis etyolojik ajan olarak gösterilmiştir (23,24). Normal koşullarda bağırsak lümeni içindeki antijenik yük ile mukozal immün sistem arasında fizyolojik sınırlar içerisinde bulunan sürekli bir inflamasyon vardır. İnflamatuvar bağırsak hastalıkları ise bu durumun abartılmış şeklidir. Genetik ve çevresel etkenlerle hassas 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. Crohn Hastalığı'n'da interlökin (IL) 1, IL-2, TNF- α , interferon- γ gibi daha çok T helper-1 (Th) tipi sitokinler salgılanırken, Ülseratif Kolit'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 yükselmişlerdir. Th-2 sitokinler B lenfositlerini uyararak aşırı miktarda IgG salgılanmasına yol açar. Artmış IgG kompleman ve fagositlerin aktivasyonuna neden olarak inflamasyonu daha da etkili hale getirir. Ortamda bulunan IL-8 nötrofilleri aktif hale getirir ve böylece ortaya çıkan reaktif oksijen türleri (ROT) ve başlıca interferon- γ ve TNF α gibi inflamatuvar sitokinler mukozal hücreleri zarara uğrattırır. Yine siklooksijenaz 1 yoluyla üretilen lökotrien B4 kemotaksisi artırarak inflamasyonun artmasını sağlar. Defans mekanizmalar olarak prostoglandin E2, nitrik oksit ve transforme edici büyüme faktörü (TGF) salgılanır. TGF artışı ise epitel hiperproliferasiyonuna ve malignite riskinde artışa yol açar (7,21,23-25).



Şekil 4. Th1 ve Th2 aracılı sitokin profilleri ve immün yanıtlar (21)

patogenez



Şekil 5. IBH'nin Patogenezi (26)

2.3.1. Çevresel Faktörler

Ülseratif kolitin ortaya çıkma sıklığının gelişmiş ülkelerde gelişmemiş ülkelere göre daha az olması hastalığın etiyolojisinde çevresel faktörlerin işlevini desteklemektedir (27,28). Çevresel faktörler arasında sigara, stres, oral kontraseptif kullanımı ve beslenme sayılabilir (29). Sigara crohn hastalığında risk artırıcı olarak etki gösterse de, ülseratif kolitte koruyucu etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (29-31). Sigara içmenin hastalık üzerindeki koruyucu etki mekanizması tam olarak aydınlatılmamış olmasına rağmen (32), sigara içimi sırasında ortama salınan maddelerin hücresel ve humoral immün sistemi etkilediği, kolondaki mukus salgısını artırdığı ve proinflamatuvar sitokinlerin üretimini azalttığı ve makromoleküllere karşı intestinal geçirgenliği modifiye ettiği belirtilmiştir. Nikotinin Th2 hücrelerinin fonksiyonları üzerinde inhibitör etkisi olduğu kabul edilmekle beraber (29,33) Ülseratif kolit tedavisinde plesabodan daha aktif olduğu gösterilmiştir (32).

Ülseratif kolitin başlamasında ve aktivasyonunda stresin etkili olduğu gözlenmiştir (32,34). Hastalık 1950'li yıllarda psikosomatik hastalık olarak tanımlanmış ve depresyondaki

insanların hastalık bakımından daha çok risk taşıdığı ortaya atılmıştır. Psikonöroimmunolojik çalışmalar ile davranışların ve duyguların inflamasyonu ve immün sistemin etki edebileceği anlaşılmıştır. Akut stresin immün sistemi etkileyerek inflamasyon gelişimine yol açtığı belirtilmiştir (29). Oral kontraseptif kullanımı crohn hastalığı için risk faktörü taşırken ülseratif kolit üzerindeki etkisi tam olarak belirlenememiştir (31). Bu yolla olan doğum kontrolünün ülseratif kolit relapslarını etkileyebileceği bildirilmiştir (29). Beslenme ve diyetin de hastalıkta etkili olduğu bilinmektedir. Süt ürünlerinden zengin diyet ve lifli besinlerden fakir bir beslenmenin ülseratif kolit relapslarıyla bağlantılı olduğu görüşü daha çoktur (29).

2.3.2. Genetik Faktörler

Ülseratif kolitte genetik faktörlerin etkinliğini destekleyen veriler arasında; hastalığın insidansının Musevilerde Musevi olmayanlara göre, beyaz ırkta siyah ırka göre yüksek olması, birinci derece akrabalarda görülme sıklığının %10 olması ve monozigot ikizlerde hastalığın insidansında artış gözlenmesi sayılabilir (27,31).

Genetik faktörlerin etkisini destekleyen nitelikte olan bu bulgulara rağmen hastalığın etiyojisi spesifik bir gene dayandırılmamakla birlikte, HLA gen allelerinin etkisinin olabileceği düşünülmektedir (27,28,31). Ülseratif kolitte DR2 alleleri, artmıştır. ÜK'li hastaların pankolitle seyreden hastalarında ve ekstraintestinal belirtileri olan hastalarda HLA DRB1*0301 alleli kontrole göre artmış şekilde bulunmuştur (28,31).

Yapılan deneysel çalışmalar “çoklu direnç geni 1”den (multi drug resistance gene 1) [MDR1] yoksun olan ratlarda kolit geliştiğini göstermiştir. MDR1 geninin iki polimorfunun (C3435T ve G2677T/C) ülseratif kolit ile ilgili olduğu anlaşılmıştır. İnsan MDR1 geninden kodlanan p-glikoprotein (Pgp) ksenebiyotiklere karşı bariyer oluşturduğu bilinmektedir. Ayrıca bu gen polimorfizimi düşük protein ekspresyonuna yol açmasından dolayı intestinal bakterilere karşı kritik önem taşımaktadır (29). Öteyandan ise immünoregülatör genlerinde kolonik inflamasyona da etkili olabileceği düşünülmektedir (28).

2.3.4. İmmunolojik Faktörler

Gastrointestinal sistem normal şartlar altında “kontrol altındaki inflamasyon” halindedir. İmmün ve inflamatuvar fonksiyonları düzenlemek için sitokinler aracılığı ile sabit bir hücreler arası iletişim ağı vardır.

İnflamatuvar barsak hastalıklı bireylerde, proinflamatuvar sitokinlerin düşük seviyede ekspresyonunaya daretülätör veya anti-inflamatuvar sitokinlerin düşük seviyede ekspresyonuna bağlı olarak hemostaz bozulmuştur (29,35). İnflamatuvar bağırsak hastalarında CD4+ T lenfosit hücreleri mukozada, bunların salgılamış oldukları sitokinler de hem mukozada hem de periferik kanda yükselmiştir (28,31,36). Crohn hastalığında yardımcı T lenfositleri 1 (Th1) hücreleri aracılı etkilerin oluştuğu bilinirken ülseratif kolitte ise yardımcı T lenfositleri 2 (Th2) hücre profili vardır (31,37,38). Ülseratif kolitli hastalarda Th2 lenfositlerinin salgılamış olduğu IL-4, IL-5, IL-10 gibi proinflamatuvar sitokinlerin doku konsantrasyonlarının daha fazla olduğu gösterilmiştir (39).

Normal koşullarda besinlerden alınan toksinler, eksojen kaynaklı Sallmonella, Shigella gibi patojen bakteriler veya endojen flora bakterileri özellikle bakterioid suşları inflamasyon cevabını başlatabilecek bakterilerdir. Normal koşulde bulunan barsak lümeni bu yabancı antijenlere karşı bariyer işlevi görür ve inflamasyon baskılanır. İnflamatuvar bağırsak hastalarında inflamasyon kaskadının regülasyonunda defeket olduğu düşünölmektedir (31). Bunun sonucu olarak da inflamasyon baskılanamayıp artarak sürer ve barsak dokusunda hasar oluşur.

2.4. Kolitte Laboratuvar

Ülseratif kolitte anormal laboratuvar verileri hastalık için spesifik olmasada hastalığın sistemik tutulum seviyesini belirler. Hastalığın hafif seyrettiği dönemde hematokrit, sedimantasyon ve albumin düzeyi normaldir (32). Hastalığın aktivitesinin arttığı ağır vakalarda sedimantasyon yüksekliği, Fe eksikliği, düşük hemoglobin seviyesi, anemi, lökositoz, trombositoz ve CRP (C-reaktif protein) yüksekliği gözlenir (28,31,40,41). Protein kaybettiren bir hastalık olduğu için serumda albumin seviyesi düşer (özellikle pankolitte) (28,31). Ağır vakalarda ise hipokalemi gelişir (31). Hastalıkta sklerozan kolanjit gelişmiş ise: alkalen fosfataz (ALP), gama glutamil transpeptidazda (GGTP) ve biliribunde artış gözlenir (31). Son zamanlarda iki serolojik belirteç ülseratif kolit ve crohn hastalığı için anlamlı bulunmuştur. Bunlar perinökleer antinötrofil sitoplazmik antikor (p(ANCA)) ülseratif kolitte, anti Saccharomyces cerevisiae antikor (ASCA) ise crohn hastalığında daha yüksek oranlarda pozitif bulunmuştur (28,31). Aktif ülseratif kolitli hastaların dışkısının makroskobik araştırılmasında ya tümüyle kırmızı kandan oluşmuş metaryal ya da taze kan, mukus ve püyle karışmış az miktarda dışkı parçaları görülür. Mikroskobik araştırmada ise bol lökosit ve eritrosit bulunur. Ayırıcı tanı açısından dışkı Entoameoba histolytica trofozoidleri ve kistleri,

Echericia coli, Sallmonella, Shigella incelenmelidir. ÜK gaita kültüründe Clostridium difficile toksini negatiftir. Gaita Cytomegalovirüs (CMV) ve Herpes simplex virüsleri açısından da dikkatli araştırmalar yapılmalıdır (31,40,41).

Ülseratif kolit tanısını koymada faydalanılan en önemli yöntemlerden biri de endoskopik incelemedir. Endoskopik inceleme ile mukozal lezyonları tanımak, histopatolojik inceleme için biyopsi almak, ülseratif koliti crohn hastalığından ayırmak ve hastalığın tuttuğu bölgeleri saptamak mümkündür (40,41). Ülseratif kolitin erken dönemindeki endoskopik bulgular arasında; mukozada kapiller damarların görülmemesi, ödem, hiperimi ve dokunmakla kanama (irrabilite) sayılabilir (34,40,41). Hastalığın ciddiyeti ve inflamasyon artıkça mukoza yüzeyinde ekzidasyon, granüller tarzda engebeli görünüm, kendiliğinden spontan kanamalar, toplu iğne ülserleri belirlenirken daha ağır olgularda ise daha yoğun ve yaygın ülserler bulunur ve bu alanlarda inflamatuvar pseudopoliplere de rastlamak mümkündür (40,41). Hastalarda ülseratif kolitte kolonun tutulum yerini saptamak için kolonoskopik incelemeden yararlanır. Kolonoskobik inceleme sırasında tutulum olan ve olmayan bölgelerden biyopsi numuneleri alınmalıdır ve kanser ve displazi yönünden incelenmelidir (40).

Hastalıkta endoskopinin yanı sıra radyolojik tetkiklerden de yararlanır. Ağır ataklarla takip eden ülseratif kolitte ayakta çekilen düz karın grafisi kolon lümeninde bulunan gazların durumu, kolon duvarının kalınlığı ve transvers kolondaki lümenin çapı hakkında bilgi verir. Düz karın grafisi hastalığın iki ana komplikasyonu olan toksik megakolon ve perforasyon tanısında yardımcı olur. Kolon çapının 6 cm'den fazla ölçülmesi toksik megakolonu gösterirken, diyafram altında bulunan serbest hava perforasyonu gösterir (28,31,40,41,42). Diğer radyolojik yöntemler ise baryum lavmanı ve baryumlu kolon grafisidir. Baryum lavmanı ile mukozal değişikler saptanabilir (31). Baryumlu kolon grafisi darlıklar sebebiyle kolonoskobik araştırmanın yapılamadığı olaylarda uygulanır. Kolon grafisinde mukoza yüzeyinde granüler görünüm, küçük ülserlere ait dikensi çıkıntılar, poliploid lezyonlar görülürken, daha ileri safhalarda haustra kaybı, lümen çapında daralma, kolonun kısalması ve kurşun boru manzarası gözlenir (27,31,40).

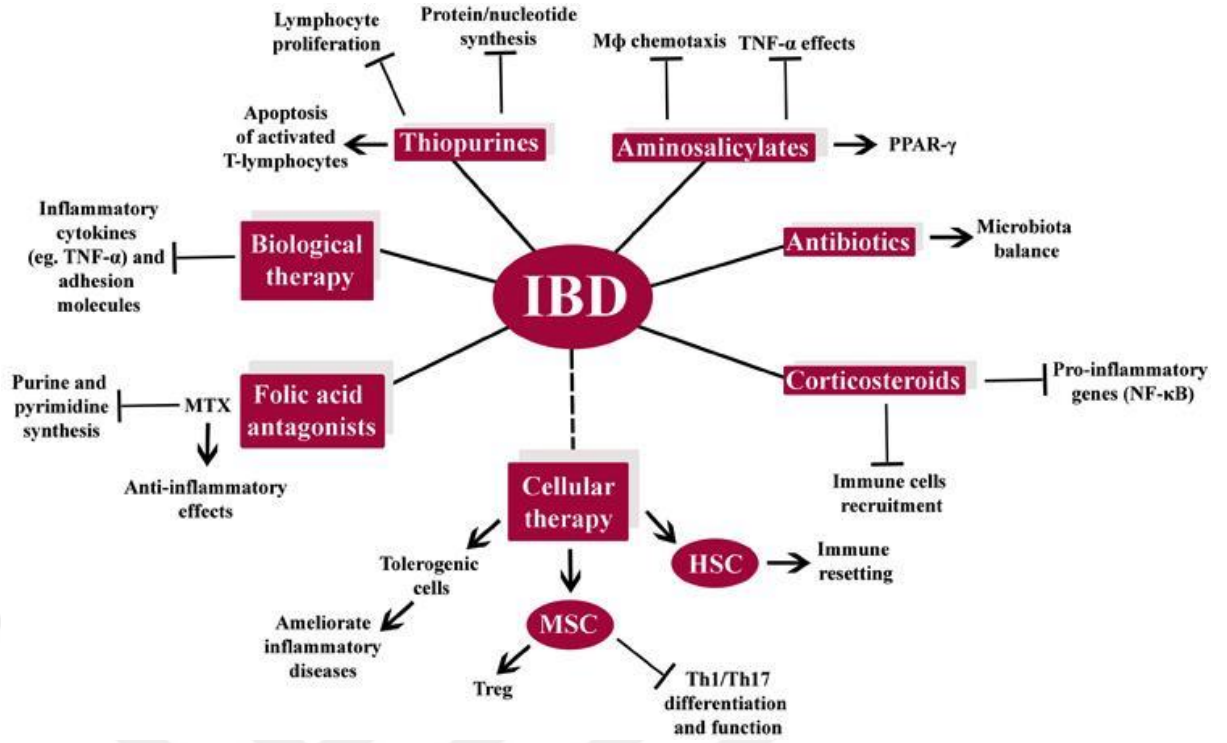
Histopatolik bulgular ülseratif kolitin alevlenme ve remisyon dönemlerinde farklılıklar gösterir. Etkili olduğu dönemde mukozada yaygın lenfosit ve plazma hücre infiltrasyonu ile birlikte kapillerlerde konjesyon mevcuttur. Kript lümeninde nötrofil polimorfları görülür, bunlar kript abselerini oluşturur. Kript abseleri ülseratif kolit için spesifik olmasada dikkat çekicidir. Kriptlerin tahrip olması mukozada ülserlere neden olur. Hastalığın etkili olduğu döneminde bu ülserler submukozaya kadar iner. Kriptlerde goblet

hücreleri kaybolur, distorsiyon ve dallanmalar görülür. Hastalık etkinliğini kaybettiğinde kript abseleri geriler, goblet hücreleri tekrar görünür ancak kriptlerin distorsiyonu düzelmez, bazı kriptler tamamen yok olurken bazılarında dallanmalarında kısalma gözlenir (27,28,40). Ülseratif kolit intestinal ve ekstraintestinal komplikasyonlara sahiptir (31). İntestinal komplikasyonların en önemlileri: Toksik megakolon, perforasyon, striktür, masif kanama, adenokarsinomlar, ender olarak darlık, abse, pseudopolipler sayılabilir (31,34,41).

2.5. Kolit Tedavisi

Ülseratif kolitli hastanın tedavisi hastalığın klinik derecesi ve tutulum yerine göre değişkenlik gösterir (40). Medikal tedavideki ana hedef akut atakların azaltılması, nükslerin önlenmesi ve hastalığın remisyona sokulması ve de remisyonun devamlılığının sağlanmasıdır (34,40,43). Günümüzde halen hastalığı tamamen iyileştirici ve yenilenmesini engelleyen tedavi bulunamamıştır (43). Bunun nedeni hastalığın kesin etkeninin tam olarak saptanamamış olmasıdır.

Ülseratif kolit tedavisinde en çok kullanılan ilaçlar arasında aminosalisilatlar ve kortikosteroidlerdir. Bu ilaçlar uygulanarak yapılan tedavilerde olumlu yanıt alınamayan hastalarda güçlü immünomodülatör olan siklosporin kullanılmaktadır (40,42). Hastalık tedavisinde ayrıca antibiyotikler, nutrisiyonel tedaviler, destekleyici bitkisel tedaviler ve probiyotikler kullanılmaktadır (42) ve alternatif tedaviye yönelik incelemeler halen devam etmektedir. İlaçlar oral, parenteral veya rektal lavman biçiminde uygulanır (43). İlaç tedavisinin yetersiz kaldığı durumlarda cerrahi tedaviye yönelinmektedir (40).



Şekil 6. Kolit Tedavisi (44)

2.6. Deneysel Kolit Modeli

Ülseratif kolitin yol açtığı etmen kesin olarak bilinmediğinden hastalıkta kullanılan tedaviler etkeni ortadan kaldırmaya yönelik değilde daha çok inflamasyonu engellemeye yöneliktir. Bu hastalığın kesin tedavisi ve etkenin araştırılması için birçok deneysel araştırmalar yapılmaktadır. Bu nedenle yapılan deneysel araştırmalarda kullanılmak üzere farklı deneysel kolit modelleri geliştirilmiştir. Deneysel modellerin morfolojik değişiklikler, inflamasyon ve semptomlar açısından insandaki kolite benzemesi hedeflenmiştir (43,45,46). Deneysel kolit için kullanılan hayvan modelleri; spontan modeller, ekzojen ajanlarla indüklenen modeller, genleri hedefleyerek oluşturulan modeller ve immün defisitli hayvanlara özel hücre popülasyonlarının nakledildiği transfer modelleri olmak üzere 4 grupta toplanır. Bu modeller akut veya kronik intestinal inflamasyon için kullanılabilir; ancak hiç biri insandaki inflamatuvar bağırsak hastalığını tam olarak temsil etmez.

Spontan modellere örnek olarak köpekler, domuzlar, atlar ve sığırlarda spontan olarak oluşan kolit lezyonları bildirilmekle birlikte bunlardan hiç biri daha sonraki araştırmalarda hayvan modeli olarak kullanılamamışlardır. Doğal olarak mevcut olan ve insandaki inflamatuvar hastalığa benzerliği ile dikkat çeken fakat pahalı bir model olmasından dolayı üzerinde fazla çalışma yapılamayan yeni dünya primatlarından *Saguinus oedipus* (ipek

maymunu) ve jüvenil makak maymunlarıdır. S. oedipusun hastalığı sulfasalazin tedavisine olumlu cevap vermektedir. Tekrar aynı tür ile yapılan çalışmalar ülseratif kolitin otoimmün bir etiyojisi olduğunu destekler haldedir. Fakat pratik olmayan bu model ile çok düşük sayıda araştırma yapılabilmektedir (43,47,48).

Ekzojen ajanlarla oluşturulan kolit modellerine carrageenan (kırmızı deniz yosunu ekstratı) modeli, peptidoglikan- polisakkarit (PG-PS) modeli, dekstran sodyum sülfat (DDS) modeli bakterilerle indüklenen modele örnektir. Carrageenan modelinde kobayların içme suyuna degrade olarak verilen carrageenan solüsyonu ile histolojik açıdan ülseratif kolite benzeyen bir kolit modeli elde edilmiş böylece gram negatif anareob bakterilerin bu lezyonların gelişiminde görev aldığı gözlenmiştir. Diğer bir bakteriyal modelde peptidoglikan- polisakkarit kompleksi içeren streptokok hücre duvarı fragmanlarının bağırsak duvarına direk enjeksiyonudur. Bu model ratlarda uzun süreli granülatöz inflamasyona sebep olur ve steril ratlarda sistemik immün yanıt aktivasyonuna yol açtığından bakterilerin GİS immün sistem modülasyonuna etkisini araştırmak açısından iyi bir modeldir (45,47).

Asetik asit (AA), dekstran sodyum sülfat (DDS) ve trinitrobenzensülfonik asit (TNBS) gibi kimyasal ajanlardaki indüklenen kolit modelleri geliştirilmiştir. Bu kimyasallar kronikleşebilecek bir inflamatuvar reaksiyonu başlatma etkisine sahiptirler. İntrakolonik olarak AA ve TNBS/etenol verilmesi veya içme suyuna DDS eklenmesiyle oluşan hasarlar için aynı mekanizma ve histolojik olaylar geçerlidir (45). Asetik asit modeli inflamatuvar bağırsak hastalığının akut kolit modelidir. Uygulamada kolit oluşturmak için pH:2.5 , %4'lük asetik asitten 1 mL intrarektal yoldan verilmesi ile oluşturulur. Kolonik inflamasyon hızlı bir şekilde gelişir. 2.günde maksimum iken 4.günden itibaren inflamasyon gerilemeye başlar (49).

DDS ile yapılan kolit modelinde de kronik bir hastalık modeli ortaya koyar. Ratlarda kolonik inflamasyon %3 'lük dextran sülfat solüsyonu (DDS) ile beş günlük bir beslenme sonrasında oluşturulur. Kolit esnasında rejenerasyon süresi haftalar aldığı için kronik iyileşme ve bozulan rejenerasyon mekanizmasını araştırmada kullanılabilecek bir modeldir (45,49).

Diğer bir kronik modelde TNBS modelidir. Burada kolonik hasar, bariyer kırıcı etanol ve TNBS karışımının intrarektal verilmesi ile oluşturulur. Uygulamada kolit oluşturmak için trinitrobenzene sülfonik asit'in (%50 etanol içinde 30 mg TNBS olacak şekilde) intrarektal verilmesi gereklidir (45,49).

İmmün modeller immün sisteme yapılan müdahaleler yoluyla oluşturulmaktadır. Dinitroklorobenzen (DNCB) kolit modeli ile kobay kolonunda lokal, gecikmiş tip

hipersensitivite reaksiyonu sonucu oluşan ve T lenfosit bağımlı immün bir kolit modeli geliştirilir. Kobaylara 3 gün süre ile dinitroklorobenzene (DNCB, 50 µL, %2.5 etanol solüsyonu) ile cilt sensitizasyonu uygulanır. 10günlük aranın sonunda 3 gün süre ile intrarektal yoldan 1 mL % 1 'lik DNCB verilerek daha önce tarif edildiği biçimde kolit modeli oluşturulur (49). DNBC verildiğinde oluşan ülserasyon, kript abseleri ve granülosit infiltrasyonu ÜK'daki tabloya benzemektedir (47).

Genetik yöntemlerle oluşturulan modellerde IL-2, IL-10 ve bazı T hücre reseptörlerini kodlayan genlere yönelik delesyonlarla ratlarda spontan kronik intestinal inflamasyon oluşturulmuştur. HLA-B27 modeli ve insan β-2 mikroglobulin genlerinin ratlarda ekspresyonu ile oluşturulan transgenik hayvan modelinde genlere müdahale ile oluşturulan modellerdendir (45).

Bir modelin kullanılabilir olabilmesi için çeşitli hayvan türlerinde kolay uygulanabilir ve yenilenebilir olması, tahmin edilebilen bir inflamasyon gelişim sürecine sahip olması ve oluşturduğu klinik tablonun terapötik yanıt ve inflamatuvar mediyatör profili açısından inflamatuvar bağırsak hastalığı ile benzerlik göstermesi gerekmektedir (45).

Oluşturulan deneysel kolit modelleri çok sayıda olmakla birlikte insandaki ülseratif kolit morfolojisine tam olarak benzememektedir. Kolon immünolojik hasar modeli dikkate alınarak TNBS modeli geliştirilmiştir. Bu model insandaki inflamatuvar bağırsak hastalığında klinik ve histopatolojik yönden uygunluk sağladığı için kronik kolon inflamasyonunun etiopatolojisini açığa çıkarmakta oldukça uygulanabilir bir modeldir (43).

2.7. Serbest Radikaller

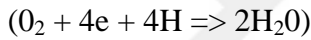
En dış orbitalde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron taşıyan atom veya moleküle serbest radikal denir. Son orbitadaki bu eşleşmemiş elektrona bağlı olarak, bu atom veya molekül reaktif olup diğer moleküller ile reaksiyona girme eğilimindedir (50-53).

Oksijen, dış orbitalde 2 tane eşleşmemiş elektronu ile biyolojik sistemlerdeki önemli bir serbest radikaldir. Oksijen ile reaksiyona giren moleküllerin oluşturduğu serbest radikaller de biyolojik sistemde önemli bir yere sahiptir (53) (Tablo 5).

Tablo 5. Reaktif oksijen türleri (53)

| Radikaller | Radikal olmayanlar |
|--|--|
| Süperoksid anyon radikali (O ₂ ⁻) | Hidrojen peroksid (H ₂ O ₂) |
| Hidroksil (HO [·]) | Singlet oksijen (*O ₂) |
| Peroksi(ROO [·]) | Ozon (O ₃) |
| Alkoksil (RO [·]) | Hipokloröz asit (HOCl) |
| Nitrik oksit(NO [·]) | Lipit hidroperoksid (LOOH) |
| Semikinonon radikali (HQ [·]) | Peroksinitrit (ONOO [·]) |
| Hemoproteine bağlı serbest radikaller | Azot dioksit (NO ₂) |
| Organik radikaller (R [·]) | N-halojenli aminler (R-NH-X) |
| Organik peroksid radikali (RCOO [·]) | Hipohalöz asid (HOX) |

Normal koşullar altında mitokondrial elektron transport sisteminde oksijene dört elektron eklenerek suya (H₂O) indirgenir.



Ancak IRH durumunda sadece bir elektron (e) transferi ile tek değerli indirgenme olur ve oldukça reaktif serbest oksijen radikalleri (SOR) meydana gelir. Bunlar süperoksid anyonu (O₂⁻), hidrojen peroksid (H₂O₂), hipoklorit asit (HOCl) ve hidroksi (OH[·]) radikalidir. Yapılan çalışmalarda serbest oksijen radikallerinin reperfüzyonun ilk birkaç dakikası içinde en fazla üretildiği dolayısıyla reperfüzyon hasarının en fazla erken dönemde olduğu gösterilmiştir (54).

Moleküler oksijen her aşamada indirgenerek yukarıda tanımlanan reaktif oksijen metabolitlerinin oluşumuna yol açar. O₂ tek başına hücre yıkımına neden olan reaksiyonları başlatabildiği gibi, esas olarak daha reaktif oksijen radikallerinin oluşumuna yol açarak hücre toksisitesinde rol oynamaktadır.

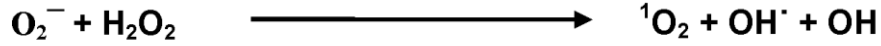
Bu türler arasında en sık karşılaşılanlar ise:

2.7.1. Süperoksid radikali (O₂⁻)

Zayıf reaktif bir serbest radikal olan süperoksid anyonu moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu meydana gelir. Süperoksid oluşumu özellikle mitokondri iç zarındaki solunum zincirinde elektrondan zengin aerobik ortamda spontan olarak meydana gelir. Süperoksid radikali ksantin oksidaz ve bir grup flavoenzimler tarafından

oluşturulmaktadır. Diğer süperoksit üreten enzimler lipooksijenaz ve siklooksijenazdır. Fagositik hücrelerin NADPH bağımlı oksidaz enzim kompleksi fazla miktarda süperoksit radikali oluşturmaktadır. İki molekül süperoksit molekülü süperoksid dismutaz (SOD) tarafından hızla hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşür (52).

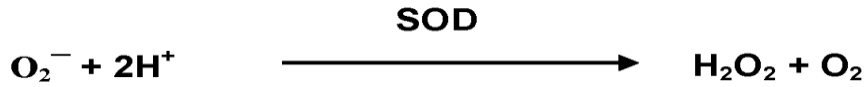
1. H_2O_2 ile tepkimeye girerek hidroksil radikali (OH^\cdot) ve singlet oksijen (1O_2) oluşturabilir.



2. Hidroksil radikali ile tepkimeye girerek singlet oksijen yapımına neden olur.



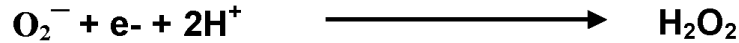
Serbest radikallere karşı organizmanın uzun süreli korumasız kalması bu maddelerin düşük konsantrasyonlarının bile biyolojik açıdan önemli moleküllerin tahribatı ile sonuçlanır ve sonuçta DNA' da mutasyona, doku tahribatına ve hastalıklara yol açar.



2.7.2. Hidrojen peroksit

Hidrojen peroksit iki yol ile oluşur

1- Oksijenin iki elektronla indirgenmesi sonucu H_2O_2 ortaya çıkar.



2-Biyolojik sistemlerde sıklıkla görülen süperoksidin üretimi yoluyla oluşmaktadır ve böylece iki süperoksid anyon radikali birbiriyle, hidrojen peroksit ve oksijeni verecek şekilde reaksiyona girerler (55).



Süperoksit radikallerinin temizlendiği bu tepkimeye dismutasyon tepkimesi denir. Bu reaksiyon SOD tarafından veya spontan olarak oluşabilir. H₂O₂ bir serbest radikal değildir, fakat biyolojik membranlara kolaylıkla girebilmesinden dolayı oldukça önemlidir. Nötrofil fagozomlarında bulunan myeloperoksidaz enzimiyle çok reaktif serbest oksijen radikali olan HOCl oluşumuna sebep olur.

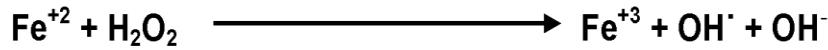


H₂O₂ geçiş metallerinin varlığında en önemli serbest oksijen radikali (SOR) olan OH' radikalinin oluşumunu sağlar. H₂O₂'nin diğer önemli bir görevi de hücre içi sinyal molekülü olarak rol almasıdır. H₂O₂ oluşuktan sonra katalaz, glutatyon peroksidaz ve peroksiredoksinler adında üç enzim sistemi tarafından uzaklaştırılır (56).

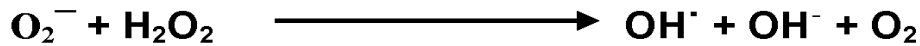
2.7.3. Hidroksil radikali (OH')

(OH') biyolojik sistemlere diğer SOR' den daha fazla hasar veren, biyomoleküllerle reaksiyona girebilen güçlü bir radikaldir. Oluşması için ortamda geçiş metalleri gereklidir (56).

Demir (Fe) katalizli - Haber Weiss reaksiyonu (Fenton Reaksiyonu)



Katalize olmayan Haber Weiss reaksiyonunda ise, süperoksidin direk olarak hidrojen peroksitle reaksiyona girmesidir.



OH' radikali canlı hücrelerde bulunan bütün moleküllerle reaksiyona girebilmektedir. Lipit peroksidasyonunu başlatabilir, DNA iplikçiklerinde kırılmalara neden olabilir ve hemen her organik molekülü, ayırım yapmadan okside edebilir (52,55).

2.7.4. Singlet oksijen

Enerji absorpsiyonu ile oksijenin paylaşılmamış dış elektronlarını değiştirerek aynı veya farklı orbitale yerleşebilirler. Uyarılmış haldeki bu oksijene singlet oksijen denir. Reaktif olmayan ancak reaktif oksijen radikallerinden biri olan singlet oksijen DNA, RNA, proteinler, lipitler ve sterollerini kapsayan çok sayıda biyolojik hedeflerle reaksiyona girerek hücrede zararlı etkilere sebep olur (57,58).

2.8. Serbest radikallerin biyolojik hedefleri

Serbest radikaller hücre ve dokularda birçok zarara yol açmaktadır. Bu zararlar şöyle sıralanabilir:

1. DNA'nın tahrip olması,
2. Nükleotit yapılı koenzimlerin yıkımı,
3. Lipid peroksidasyonu zar yapısı ve fonksiyonunun değişmesi,
4. Enzim aktivitelerinde ve lipit metabolizmasındaki değişiklikler,
5. Protein ve lipitlerle kovalan bağlantılar yapması,
6. Zar proteinlerinin tahribi, taşıma sistemlerinin bozulması,
7. Seroid ve yaş pigmenti denilen bazı maddelerin birikimi,
8. Proteinlerin tahrip olması ve protein döngüsünün artması,
9. Tiollere bağımlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulması, hücre ortamının tiol/disülfid oranının değişmesi,
10. Kolojen ve elastin gibi uzun ömürlü proteinlerdeki oksido-redüksiyon olaylarının bozulması kapillerlerde aterosklerotik değişikliklerin oluşması,
11. Mukopolisakkaritlerin yıkımı şeklinde özetlenebilir (59).

2.8.1. Membran lipidlerine etkileri

Lipid peroksidasyonunda, hücre membran fosfolipidlerindeki poliansatüre yağ asidi (PAYA) ile oksijen radikali, lipid hidroperoksitlerini oluşturmak için reaksiyona girer. Peroksidasyon şiddeti, lipidlerin doymamışlık derecesi ile orantılı olarak artar. PAYA' ların oksitlenmesi ile yağ asidi radikali oluşur. Buna oksijenin eklenmesi ile lipid peroksi radikali oluşur. Peroksi radikali zincir reaksiyonunun taşıyıcısıdır. Eğer E vitamini ve/veya erdoğain gibi bir antioksidan tarafından önlenmezse komşu PAYA moleküllerini okside eder (60).

Bu durumda yeni radikallerin ve toksik aldehitlerin oluşmasına neden olan lipid hidroperoksitleri meydana gelir. Lipid peroksidasyonu membran yapısına ve diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Membran geçirgenliği ve membran akışkanlığı ciddi şekilde etkilenir. Lipid peroksitlerinin yıkımından oluşan ürünlerden biri malondialdehittir (MDA). Bu, protein ve fosfolipidlerle çapraz bağ ve polimerizasyon yaparak özelliklerinin kaybolmasını sağlar.

MDA; deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir. Hücrenin her tarafına dağılarak, özellikle sülfidril içeren enzimleri inaktive eder. Nükleik asitlerle etkileşmeye girerek genetik şifrede mutasyona yol açar. Sonuç olarak iyon transport bozuklukları, enzim aktivite değişiklikleri, hücre bileşenlerinin agregasyonu gibi değişiklikler ortaya çıkabilir (61,62).

Membranda lipid peroksidasyonu sonucu:

- a- Membran transport sistemleri bozulur,
- b- Hücre içi ve hücre dışı iyon dengeleri bozulur,
- c- Hücre içi kalsiyum konsantrasyonu artar ve buna bağlı olarak proteazlar aktive olur,
- d- Hücre içi organellerde oluşan lipid peroksidasyonu ve litik enzimlerin salgılanmasına bağlı hücre hasarı gelişir.

2.8.2. Proteinlere etkileri

Proteinlerin serbest radikallerden ne derecede etkileneceği aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, sistein gibi aminoasitler

kolaylıkla etkilenirler. Çünkü doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksektir. Etkileşim proteinlerin spesifik bölgeleri üzerinde yoğunlaşmışsa hücrenin canlılığını olumsuz yönde etkileyebilir (52).

2.8.3. Nükleik asit ve DNA'ya etkileri

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyon ve ölüme yol açarlar. DNA serbest radikallerden kolayca etkilenir. Çünkü hidroksil radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girebilir. Nötrofillerden kaynaklanan H₂O₂, membranlardan kolayca geçip hücre nükleusuna ulaşarak DNA hasarı, hücre disfonksiyonu ve ölüme yol açabilir (59).

2.8.4. Karbonhidratlara etki

Özellikle monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelir. Bir okzoaldehit olan glikozil, DNA ve RNA arasında çapraz bağ oluşturma özelliğinden dolayı antimitotik etki gösterir. Yine süperoksit ve hidrojen peroksinin in vitro olarak hyaluronik asidi parçaladıkları gösterilmiştir (62).

2.9. Antioksidan savunma mekanizmaları

Serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı organizmada koruyucu mekanizmalar vardır. Bu mekanizmalardan bir kısmı serbest radikal oluşumunu, bir kısmı ise oluşmuş serbest radikallerin zararlı etkilerini önlemektedir. Bu işlevleri yapan maddelerin tümüne birden genel olarak antioksidanlar denir. Antioksidan maddeler, serbest radikal oluşumunu engelleyerek, oluştuklarında onları yok ederek, radikalleri kendilerine bağlayıp reaksiyon zincirini kırarak, okside olarak zarar görmüş hücresel yapıları onararak etki gösterirler (59,63,64) (Tablo 6).

Tablo 6. Antioksidan Türleri (63)

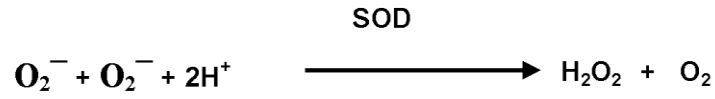
| Enzimatik Antioksidanlar | Enzimatik olmayan antioksidanlar |
|--|----------------------------------|
| Primer: | 1-Vitamin E |
| 1-Süperoksit dismutaz | 2-Vitamin C |
| 2-Glutatyon peroksidaz | 3-Flavonoidler |
| 3-Glutatyon transferaz | 4-Butillenmiş hidroksianizol |
| 4-Katalaz | 5-Butillenmiş hidroksitoluen |
| Sekonder: | 6-Ebselen |
| 1-NADPH-Kinon oksidoredüktaz | 7-P-karoten |
| 2-Glutatyon S-transferaz | 8-Ürat |
| 3-Epoksit hidrolaz | 9-Seruloplazmin |
| 4-Glukronil transferaz | 10-Transferrin |
| 5-Sulfonil transferaz | 11-Albumin |
| 6-Glutatyon redüktaz | 12-Haptogloblin |
| 7-Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz | 13-Likopen |
| 8-6-fosfoglukonat dehidrojenaz | 14-Metallotiyonein |
| 9-İzositrat dehidrojenaz | 15-Bilirubin |
| 10-Okside glutatyon ve konjugat taşıyıcıları | 16-Ubikinon |
| | 17-Deferoksamin |
| | 18-Melatonin |

2.9.1.Enzimatik Antioksidanlar

2.9.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz (SOD), süperoksit radikalini hidrojen perokside dönüştüren dismutasyon reaksiyonunda görevli metalloprotein yapısında enzimdir. Süperoksitler, radikal tepkimeleri başlatarak hidroksil radikali, singlet oksijen ve organik radikallerin oluşumuna neden olurlar. Radikal zincir tepkimelerinin başlaması ile birlikte reaktif ve toksik etkili radikallerin yapımı SOD tarafından engellenir. Serbest radikallere karşı organizmada ilk savunma SOD enzimiyle gerçekleşir. Organizmada oksidan stresin arttığı durumlarda SOD aktivitesi artarak koruyucu etkinliği sürdürmeye çalışır. Özellikle diğer enzimatik radikal temizleyicilerin aktivitelerinde azalma söz konusu olduğunda SOD aktivitesinde artma

gösterilmiştir. SOD, katalaz ve glutatyon peroksidazdan farklı olarak serbest radikali substrat olarak kullanır. Süperoksitin hidrojen perokside dönüşümü reaksiyonunu katalizler.

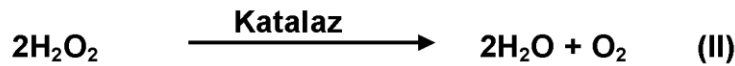


Süperoksit dismutaz, bu reaksiyonda hem oksidan hem de redüktan olarak hareket eder. Oksijen radikalleriyle oluşan hasara karşı SOD, katalaz ve glutatyon enzim sistemiyle birlikte çalışan bir savunma mekanizmasıdır. Böylece oluşan hidrojen peroksit, katalaz veya glutatyon peroksidaz enzimleri tarafından su ve oksijene indirgenmektedir. Peroksit radikalinin dismutasyonu ile oluşan hidrojen peroksit doku için biyolojik avantaj sağlar.

2.9.1.2. Katalaz

Katalaz (CAT), tüm hücre tiplerinde değişik konsantrasyonlarda bulunan dört tane hem grubu içeren bir hemoproteindir. Hidrojen peroksidi moleküler oksijen ve suya katalizler (65).

Hidrojen peroksidin; düşük hızlarda üretildiği durumlarda peroksidatik reaksiyon (I) ile, yüksek hızda üretildiği durumlarda ise katalitik reaksiyon (II) ile etki gösterir.



Daha çok peroksizomlarda lokalizedir. Katalaz'ın indirgeyici aktivitesi hidrojen peroksit ile metil, etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerine etki etmez. Kan, kemik iliği, mukoz membranlar, karaciğer ve böbreklerde yüksek miktarda bulunmaktadır (65-69).

2.9.1.3. Glutatyon Peroksidaz

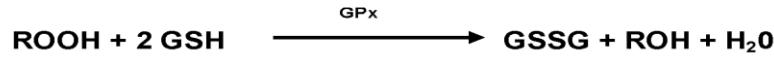
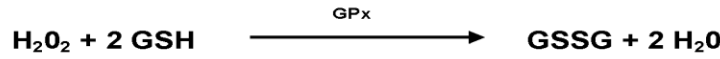
İlk olarak 1957 yılında Mills tarafından memeli eritrositlerinde gösterilmiştir. Bu sitozolik enzim tetramerik dört selenyum atomu ihtiva etmektedir. Glutatyon peroksidaz (GPx); H₂O₂ ve organik hidroperoksitlerin detoksifikasyonunu sağlayarak hücre membran

lipidlerini oksidatif hasara karşı korumaktadır. Özellikle eritrositlerin membran bütünlüğünün sağlanmasında görev yapmaktadır (69,70). GPx enzimi iki farklı kategoride ele alınmaktadır;

Selenyuma bağımlı GPx: Bu sitozolik enzim, monomerik yapıda selenyum ihtiva etmektedir. Özellikle eritrositlerde bulunan glutatyon peroksidaz selenyuma bağımlı olarak görev yapmaktadır

Selenyumdan bağımsız GPx: Diğer dokularda olmakla birlikte özellikle karaciğer mitokondrilerinde aktivitede bulunmaktadır.

GPx aşağıda belirtilen reaksiyon basamaklarında rol almaktadır:



Antioksidan etkinliği kanıtlanmış olan vitamin E'nin özellikle membranlarda sınırlı olduğu durumlarda GPx, membranları peroksidasyona karşı korumaktadır.

Fagositik hücrelerde GPx'in önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GPx solunum patlaması sırasında, serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmelerini engellemektedir. GPx aktivitesi düşük olan makrofajlarda, zimosanla başlatılan solunum patlamasını takiben, hidrojen peroksid salınışının arttığı gösterilmiştir. Eritrositlerde de oksidan strese karşı en etkili antioksidan olan GPx'in aktivitesindeki bir azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına neden olmaktadır (71,72).

2.9.1.4. Glutatyon redüktaz

Glutatyon redüktaz (GR), bir flavin enzimidir ve koenzimi NADPH ve prostetik grubu FAD' dir. Hem sitozol hem de mitokondride bulunmaktadır. Hidroksiperoksitlerin redükte olması ile meydana gelen oksitlenmiş glutatyon (GSSG), glutatyon redüktazın katalizlediği reaksiyon ile tekrar glutatyon'a (GSH) dönüşmektedir:

Okside glutatyon hücreyi antioksidanlara karşı koruyamaz. Okside glutatyon, tiol içeren proteinlerin konformasyonu ve aktivitesi üzerine zararlı etkili prooksidan bir madde olduğu için bu okside formun ileride kullanılmak üzere tekrar, deposu sınırlı olan GSH'a

dönüştürülmesi gerekmektedir. Hücre, elektron kaynağı olarak NADPH'ı kullanan glutatyon redüktazın katalizlediği bir reaksiyon ile indirgenmiş glutatyonu tekrar oluşturur. NADPH, hidrojen peroksidin indirgenmesinde indirekt olarak elektronları sağlar. Oluşan NADP⁺ ise Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz enzimi yardımıyla NADPH' a dönüştürülür (53).



2.9.1.5. Mitokondriyal sitokrom oksidaz

Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz, aşağıdaki reaksiyonla süperoksidi detoksifiye eden enzimdir.



Bu reaksiyon, fizyolojik şartlarda sürekli cereyan eden normal bir reaksiyon olup, bu yolla yakıt maddelerinin oksidasyonu tamamlanır ve bol miktarda enerji üretimi sağlanır (73-75).

2.9.2. Enzimatik olmayan endojen antioksidanlar

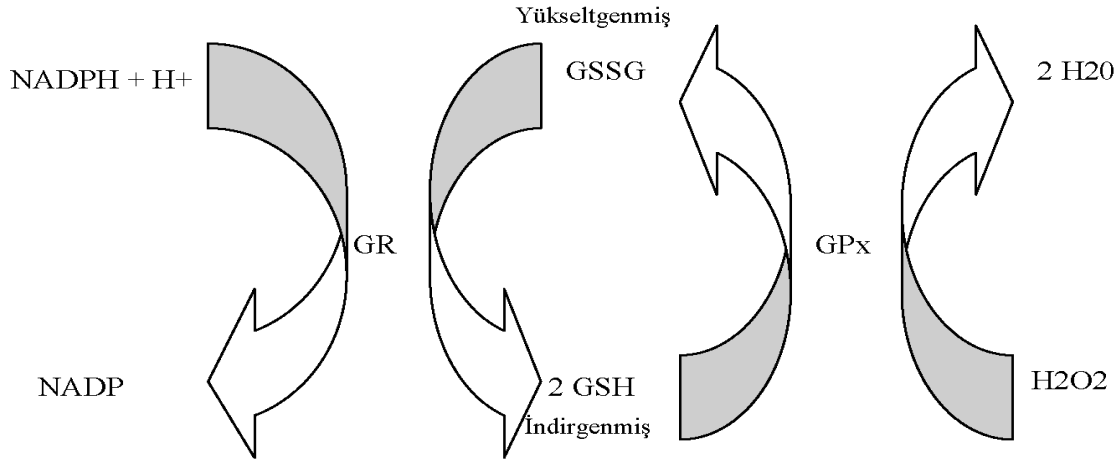
Katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimler reaktif hidroksil türlerinin oluşturdukları zararlı etkilere karşı sınırlı ve direkt koruma sağlayabilirler. Bununla birlikte enzimatik olmayan antioksidanlar direk reaksiyona girerek oksidanları daha az zararlı ve daha stabil türevlere dönüştürebilirler.

2.9.2.1. Glutatyon

Tripeptit yapıdaki bu antioksidan glutamik asit, sistein ve glisin aminoasitlerinden oluşmaktadır. Hemen hemen tüm hücrelerde bulunmakta ve antioksidan olarak metabolik faaliyetler sırasında çok önemli rol oynamaktadır. İndirgenmiş glutatyon sentezi (Adenozin trifosfat) ATP 'nin de kullanıldığı iki basamaklı bir reaksiyonla oluşmaktadır (76,77).

İndirgenmiş glutatyon, GPx ve GR gibi ksenobiyotiklerin, karsinojenlerin, serbest radikallerin ve lipopolisakkaridler gibi endojen ve eksojen zararlı bileşiklerin detoksifikasyonunda önemli rol oynayan çok önemli bir antioksidan olarak bilinmektedir. İndirgenmiş glutatyonun peroksitlerle ve disüflitlerle GPx enzimi varlığında reaksiyonu

sonucu GSSG (okside glutatyon) oluşmaktadır. Oksitlenmiş glutatyon konsantrasyonunda artış, oksidatif stresin bir göstergesi olmaktadır. Okside glutatyon, tiol içeren proteinlerin konformasyonu ve aktivitesi üzerine zararlı etkileri olan prooksidan bir madde olduğu için hızla redüklenmesi gerekmektedir. Glutatyon redüktaz enzimi NADPH varlığında GSSG'yi GSH'na redüklemektedir (56) (Şekil 7).



Şekil 7. GSH redoks döngüsü (56)

Hidrojen peroksit miktarının yükselmesi GPx aktivitesinde bir artışa yol açmaktadır. Bunun sonucu olarak başlıca çözünen redoks-aktif kofaktör, indirgenmiş şekilden okside şekle dönüşmektedir. Bu değişikliklere sitozolik Ca^{+2} konsantrasyonunun artışı eşlik ederek oksidan baskı ile ilişkili hücre hasarına yol açmaktadır.

2.9.2.2. C Vitamini (Askorbik Asit)

Güçlü bir indirgeyici ajan ve antioksidan olup süperoksit, peroksit ve hidroksil radikalleri ile reaksiyona girerek bir ara ürün olan semidehidroaskorbat yoluyla metaboliti dehidro askorbik asiti oluştururlar. Membran içindeki ve ekstraselüler dokulardaki lipid peroksidasyonunu önlerler.

2.9.2.3. E Vitamini (Alfa-tokoferol)

Lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu serbest radikal temizleyicilerindendir. E vitamini zincir kırıcı bir antioksidan olup, her bir E vitamini molekülü iki oksidasyon zincirini durdurabilir. Aynı zamanda singlet oksijenin kuvvetli bir tutucusudur. Ayrıca hidroksil

radikali, peroksi radikali ve süperoksitle direkt olarak reaksiyona girebilirler. Okside olan E vitamini, parçalanmadan önce askorbik asit ve glutatyon tarafından tokoferole geri çevrilebilir (78).

2.9.2.4. Beta karoten

A vitamini ön maddesi olan beta karoten, etkili bir singlet oksijen ve radikal tutucu antioksidanlardandır (75).

2.9.2.5. Melatonin

Pineal bezden salgılanan direkt radikal temizleyici, indirekt olarak da antioksidan enzim düzeylerini artıran ve nitrik oksit sentetaz gibi preoksidatif enzimleri baskılayan antioksidan bir hormondur (75).

2.9.2.6. Ürik asit (Ürat)

Ürik asit, ksantin oksidazın oksipürünleri (ksantin, hipoksantin gibi) oksitlemesi ile oluşur. İnsan ve gelişmiş primatlarda pürin metablozmasının son ürünüdür. Ürat, fizyolojik koşullarda singlet oksijen, hipoklorid ve hidroksil radikali gibi reaktif bileşikler baskılar, fakat süperoksit radikali ile doğrudan reaksiyona girmez, peroksit kaynaklı lipid peroksidasyonuna karşı korur. Bu da ürik asidin antioksidan etkilerinin olduğunu göstergesidir (79).

2.9.2.7. Bilirubin

Hem katabolizmasının son ürünü olan bilirubin aynı zamanda singlet oksijen, peroksinitrit ve hipoklorik asit gibi reaktif oksijen ve nitrojen türevlerini baskılar, ayrıca peroksil radikallerine karşı hidrojen donörü olarak davranarak lipid peroksidasyonunun zincir devam ettirici radikalini de etkisiz hale getirir. Bu arada biliverdin ise bilirubine göre daha etkili biçimde peroksil radikallerini baskılar (80). Yine plazmadaki ürik asit ve sistin, seruloplazmin ve transferrin radikal tutucu etkiye sahip diğer moleküllerdir (52,53).

2.9.3. Eksojen Antioksidanlar

A-Enzim inhibitörleri: Pterin aldehit, allopurinol, oksipurinol, folik asit, tungsten, NADPH oksidaz inhibitörleri (non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar, adenzin, lokal anestetikler, kalsiyum kanal blokerleri).

B-Non-enzimatik serbest radikal toplayıcıları: Dimetilsülfoksit, mannitol.

C-Demir-redoks döngüsü inhibitörleri: Desferroksamin, serüloplazmin.

D-Nötrofil adezyon inhibitörleri

E-Gıda antioksidanları: Butylated hydroxytoluene, propylgalate, butylated hydroxyanisole, sodyum benzoat, ethoxyquin (81).

2.10. Koenzim Q10'un Tarihçesi ve Tanımı

Koenzim Q10 ilk kez 1957 yılında Dr. Frederick Crane tarafından Winconsin U.S.A.'da sığır kalbinin mitokondrisinden izole edilmiştir. Aynı yılda İngilterede profesör Morton rat ciğerinde vitamin A ile aynı yapıda KoQ10'i bulmuştur. Profesör Morton (ubiquitous quinon) her yerde hazır kinonlar manasını taşıyan Ubiquinon adını vermiştir. 1958 yılında profesör Karl Folkers ve yardımcısı Merck KoQ10'nin kimyasal yapısını bulmuşlardır: 2,3 dimetoksi-5- metil-6 dekaprenil benzoquinon ve bunu ilk kez fermentasyonla sentezlemişlerdir. 1960'ların ortalarında Japonyadaki profesör Yamamura KoQ7'yi ilk defa bir insan hastalığında konjestif kalp yetmezliğinde kullanmıştır. 1966'da Mellors ve Tappel KoQ6'nın antioksidan etkisini bulmuşlardır. 1972'de Gian Paolo ve Profesör Karl Folkers KoQ10'in insan kalp hastalığındaki etkisini yayınlamışlardır. 1970'lerin ortalarında Japon teknolojisi saf KoQ10'i klinik çalışmalarda kullanılmak üzere elde etmiştir. 1978'de Peter Mitchell KoQ10'nin biyolojik enerji transferindeki rolünü kanıtlamasıyla Nobel ödülü almıştır (82).

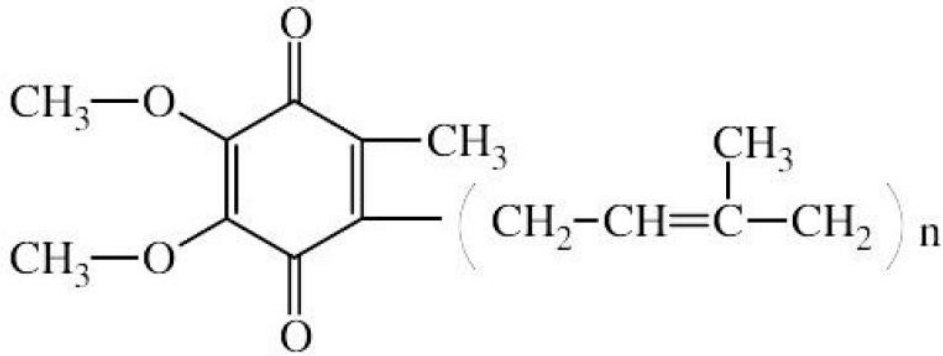
Koenzim Q10 veya diğer ismiyle Ubiquinon vitamin veya vitamin benzeri bir bileşiktir. Vitaminler yiyeceklerde doğal olarak bulunur ve bazen vücutta da sentezlenirler. Koenzim Q10 da değişik yiyeceklerde çok küçük miktarlarda bulunur ve de vücutta bütün dokularda sentezlenir. Koenzim Q10'nun biyosentezi tirozin aminoasitinden olur ve en az sekiz vitamine ve birçok eser elemente ihtiyaç duyar (83).

Koenzimler fonksiyonlarına göre büyük ve kompleks enzimlerin kofaktörleridirler. Koenzim Q10 hücrede üç mitokondiyal enzimin kofaktörüdür (Kompleks 1, 2 ve 3).

Mitokondriyal enzimler fosforilasyon yolunda yüksek enerjili fosfat, adenzin trifosfat oluşması ve diğer hücrel fonksiyonlar için gereklidir. Quinonların elektron ve proton transfer fonksiyonu tüm canlı formlar için çok önemli bir gereksinimdir; ubiquinon hayvanların mitokondrilerinde, plastokinon bitkilerin kloroplastlarında ve menakinon bakterilerde bulunan biyoenerjetiklerden biridir. “ Biyoenerjetikler” terimi biyokimyada hücrel enerji eldesini tanımlamak için kullanılmaktadır. Bunlar serbest radikal kimyasıyla ilişkilidir ve bunlardan biri olan KoQ10 potansiyel bir antioksidandır (83).

2.10.1. Koenzim Q10'un Yapısı ve Biyosentezi

Koenzim Q (Ko Q) insan dahil birçok organizma tarafından sentezlenir. Bir vitamin değildir fakat yapısı vitamin K ile benzerlik gösterir. Kimyasal formülü 2,3- dimetoksi- 5 –metil- 6 multiprenil -1,4- benzokinon' dur (84) (Şekil 8).

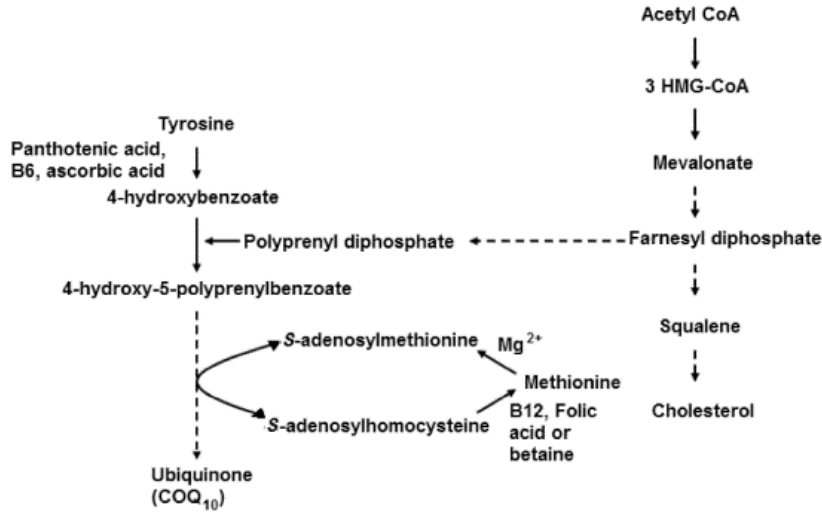


Şekil 8. Koenzim Q10 Yapısı (84)

Koenzim Q da bir kinondur fakat vitamin K'dan bileşik benzen halkasına 2 metoksi grubunun substitüsyonu ile ayrılır. Bu yapıya "Ubikinon" denir. Memelilerin ubiquinonları tipik olarak yan zincirlerinde 10 adet izoprenil grubu içerir.

Koenzim Q solunum zincirinde görevi olan, yağda eriyebilir bir elektron ve proton taşıyıcısıdır. Ayrıca serbest radikallerle ara ürün olarak işlev alırlar ve "elektron redüksiyon" reaksiyonuna maruz kalır. Stabil karakterli olmayan serbest radikaller ubiquinondan gelen bir elektronla stabil hale gelir. Koenzim Q bu özelliğiyle önemli bir antioksidandır.

Yapısındaki kinon grubu Koenzim Q'ya elektron taşıyıcısı görevini kazandırır, yüksek hidrofobik özelliğe sahip isopren yan zinciri ise Koenzim Q'ya hücrelerin lipitten zengin bölgelerini kuşatmasına yardımcı olur (85) (Şekil 9).



Şekil 9. Koenzim Q10 Biyosentezi (85)

2.10.2. Koenzim Q10'nun Antioksidan Fonksiyonu

Koenzim Q'nun en çok bilenen fonksiyonları mitokondriyel elektron transfer sistemindeki fonksiyonu ve antioksidan işlevidir. Bunun ek olarak da membranlarda elektron taşıyıcısı, hücre membranlarının yapısında yer alması gibi birçok fonksiyonu vardır (Tablo 7) (85)

Tablo 7. Koenzim Q10 Fonksiyonları (85)

| |
|---|
| 1 – Mitokondrial Solunum Zincirinde elektron taşıyıcısı |
| 2 - Plazma Membran Redoks Sistemi |
| 3 – Antioksidan fonksiyonu |
| 4 – Mitokondrial UCP(Uncoupling Protein) Aktivasyonu |
| 5 – Mitokondriyal PTP (permeability transition pores)'ye etkisi |
| 6 – Lenfosit ve monositler üzerine etkisi |
| 7 – Endotelial fonksiyonu |
| 8 – Hücre sinyali ve gen ifadesine etkisi |

Koenzim Q, golgi, lizozom, mikrozom, peroksizom ve hücre membranı olmak üzere bir çok membranda bulunur. Membranlarda lipid peroksidasyonunu engelleyen antioksidan özelliği vardır (83). Koenzim Q membranlarda doymamış lipid zincirlerine yakın olarak bulunur. Bunun sebebi serbest radikal çöpcülüğü yapmaktır. Hücre membranlarındaki Koenzim Q'nun büyük bir kısmı ubikinol (KoQH₂) şeklindedir ve Koenzim Q'nun redükte formu olan ubikinol (KoQH₂) çok etkili bir antioksidan olabilir (86). Koenzim-QH₂ çoğu

subselüler membranlarda lipid peroksidasyonunu önleme yeteneğine sahiptir. Hücrenin, tüm intraselüler bölgelerinde Koenzim Q'yu redükte tutmak için etkili sistemler mevcuttur (85). Bu işlem üç adet enzim sayesinde gerçekleşmektedir.

Bunlar,

- (1) NADH sitokrom-b5 redüktaz,
- (2) NADH/NADPH oksidoredüktaz (DT diaforaz)
- (3) NADPH KoQ redüktazdır.

Endomembrandaki 1 ve 3. redüktazlar özellikle, bir radikal ile reaksiyon sonucu oluşan herhangi bir semikinonun bir elektron ile tekrar redüklenmesi için önemlidir. DT Diaforaz herhangi bir kinonu ara madde olmadan iki elektron transferi ile direk redükleyebilir (86).

KoQH₂, başlama işlemini ve lipid peroksil radikallerinin (LOO) oluşumunu engelleyerek görev alır, aynı zamanda Vitamin E'de bu radikalleri bastırır. KoQH₂ ubisemikinon ve H₂O₂ oluşumu ile başlangıç perferil radikalini redükler. LOO'yu direk olarak da ortadan kaldıracaktır. Ayrıca ubiquinol alfa-tokoferoksil radikalinden Vitamin E'yi yeniden üretebilir. Askorbat varlığında, suda çözünebilen radikal başlatıcısı ile fosfotidilkolin lipozomları okside edildiğinde, alfa-tokoferol ve KoQ antioksidanları sırası ile askorbat-KoQ-alfa tokoferol şeklinde tüketilir. Lipitte çözünen bir radikal başlatıcısı kullanılıncaya KoQ-askorbat-alfa tokoferol şeklinde tüketilir. Bundan dolayı, alfa-tokoferol her iki durumda da verimli yedeklenir ve bu kinetik veri alfa-tokoferoksil radikal formunun KoH₂ tarafından redüklendiğini gösterir. KoQH₂ tarafından sağlanan alfa-tokoferolün bu yedekleyici etkisi ayrıca düşük dansiteli lipoproteinlerde (LDL) de gözlenir. KoQH₂'nin antioksidan etkisi α -tokoferol varlığına bağlı değildir. Alfa-tokoferol noksanlığında KoQ içeren submitokondrial partiküller lipid peroksidasyonundan korunur (85).

Membran proteinlerinin oksidasyonu da KoQH₂ tarafından önlenir (85). Selenyum ve alfa-tokoferol'un besinsel yetersizliği sonucu oluşan oksidatif stres durumunda, membranlardaki KoQ miktarında yüksek bir artış gözlenir. Aynı zamanda membranlarda bulunan DT diaforaz miktarı belirgin olarak artar. Peroksizomal uyarıcı tarafından uyarılmış alfa-tokoferol düşüşü, KoQ miktarındaki büyük bir artışla birlikte gözlenir. KoQ'nun antioksidan etkisini göstermek için KoQ yetersiz maya kullanılmış ve KoQ yetersiz mayada daha fazla lipid peroksid formasyonu gözlenmiştir. Yaşlı insanlarda deride KoQ oluşmasının sağlanması ile serbest radikallerin bertaraf edildiği gösterilmiştir. Direk antioksidan radikal çöpeçülüğü yanında, kinol tokoferol radikallerini de kurtarabilir. Membranlarda KoQ yetersizliğinde tokoferolün yenilenmesi çok yavaş olur (86).

Tablo 8. Omurgalılarda Koenzim Q10 çeşitleri (84)

| Hayvan | Doku | Esas KoQ çeşidi | KoQ miktarı (µmol/g) |
|----------------|------------|----------------------------------|----------------------|
| İnsan | Kalp | Q ₁₀ | 0.063 W |
| Sığır | Kalp | Q ₁₀ | 0.085 W |
| Sığır | Karaciğer | Q ₁₀ | 0.040 W |
| Sığır | Böbrek | Q ₁₀ | 0.018 W |
| Domuz | Kalp | Q ₁₀ | 0.085 W |
| Domuz | Karaciğer | Q ₁₀ | 0.034 W |
| Kuzu (3günlük) | Kalp | Q ₁₀ | 0.20 W |
| Kuzu (3günlük) | Bacak kası | Q ₁₀ | 0.06 W |
| At | Kalp | Q ₁₀ | - |
| Rat | Kalp | Q ₁₀ , Q ₉ | 0.14 W |
| Fare | Hepsi | Q ₉ | 0.023 W |
| Tavuk | Kalp | Q ₁₀ | 0.075 W |
| Tavuk | Bacak kası | Q ₁₀ | 0.028 W |
| Kurbağa | Kalp | Q ₁₀ | 0.023 W |
| Kurbağa | Bacak kası | Q ₁₀ | 0.011 W |

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Deney Hayvanları

Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurulu onayı (12.07.2016 tarih ve 01 sayılı kararı) alınarak Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı tarafından, KSÜ Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmalar standart deneysel hayvan çalışmalarına uygun olarak yapıldı ve KSÜ bireysel araştırma fonunun desteği ile gerçekleştirildi. Deneylerde kullanılan toplam 24 adet erkek Wistar-albino cinsi rat KSÜ Tıp Fakültesi Deney hayvanları barınağından alındı. Ratlar 200-220 gram ağırlığında ve 4-5 aylıktı. Ratlar $21\pm 1^{\circ}$ C oda sıcaklığında 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık periyodunda tutularak standart rat yemi ve su verilerek beslendi.

3.2. Deney Grupları

Bu çalışma 200-220 gr ağırlığında 24 adet erkek Wistar-albino cinsi rat üç gruba ayrılarak (sham grubu; n=8, kolit grubu; n=8, kolit + koenzim Q10 uygulanan grup; n=8) gerçekleştirildi.

Tüm gruplardaki her bir rat Ketamin ile anestezi uygulandıktan sonra operasyona başlandı.

Grup 1 (Kontrol): İntraperitoneal (İP) yolla sadece serum fizyolojik 1 ml (%0,9 NaCl) verildi. Deney bitiminden 24 saat sonra ratlar sakrifiye edildi.

Grup 2 (Kolit+SF): Kolit grubundaki ratları 30° trendelenburg pozisyonuna getirilerek 8 mm'lik kateter, rektal yoldan 6 cm ileriye uzanacak şekilde yerleştirilen ve ratlara 1 ml, pH 2.4, % 4'lük asetik asit intrarektal (İR) olarak uygulanan ve eş zamanlı olarak İP yoldan 1 ml serum fizyolojik (nötr pH'da % 0.9'luk NaCl) verildi. Deney bitiminden 24 saat sonra ratlar sakrifiye edildi.

Grup 3 (Kolit+ Koenzim Q10): Kolit grubundaki ratları 30° trendelenburg pozisyonuna getirilerek 8 mm'lik kateter, rektal yoldan 6 cm ileriye uzanacak şekilde yerleştirilen ve ratlara 1 ml, pH 2.4, % 4'lük asetik asit intrarektal (İR) olarak uygulanan ve eş zamanlı olarak İP yoldan 1 ml koenzim Q10 (10mg/ml/kg^{-1} dozunda koenzim Q10 soya yağı içinde çözülecek) verildi. Deney bitiminden 24 saat sonra ratlar sakrifiye edildi.



Resim 1. Deneysel Kolit İşlemi Sonrası Bağırsak Doku Alımı Hazırlığı



Resim 2. Deneysel Kolit Sonrası Bağırsak Doku Alımı

3.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler

| | |
|---|-------|
| - 1,1,3,3 tetrametoksipropan | Sigma |
| - Bakır sülfat $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | Sigma |
| - 2-[2-Tiyobarbitürik asit] TBA | Merck |
| - Etilendiamin tetraasetik asit Na_2EDTA | Sigma |
| - Disodyum hidrojen fosfat $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ | Merck |
| - Sodyum dihidrojen monofosfat NaH_2PO_4 | Merck |
| - Dipotasyum hidrojen fosfat K_2HPO_4 | Merck |
| - Potasyum dihidrojen fosfat KH_2PO_4 | Merck |
| - Folin-Ciocalteu Fenol ayıracı | Sigma |
| - Glutasyon GSH | Sigma |
| - Hidrojen peroksit H_2O_2 | Merck |
| - Lauril sülfat SDS | Sigma |
| - n-Butanol | Merck |
| - Piridin | Merck |
| - Sodyum hidroksit NaOH | Merck |
| - Sodyum karbonat Na_2CO_3 | Merck |
| - Sodyum klorür NaCl | Merck |
| - Sodyum potasyum tartarat Na-K tartarat | Sigma |
| - Tris baz | Sigma |
| - Tris hidroklorit Tris-HCl | Sigma |
| - β -Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat β -NADPH | Sigma |
| - Hidroklorik asit HCl | Merck |
| - Formaldehit HCHO | Sigma |
| - Etanol $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ | Sigma |
| - Asetik Asit CH_3COOH | Sigma |
| - Ksantin | Sigma |
| - CAPS | Sigma |
| - Ksantin oksidaz | Sigma |
| - Iodonitrotetrazolium klorür INT | Sigma |

3.4. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

| | |
|--|-------------------|
| - Derin Dondurucu | Samsung |
| - pH metre | Hanna Instruments |
| - Hassas Terazî | Radwag |
| - UV Spektrofotometre | Shimadzu |
| - Buz Makinesi | Scotsman |
| - Distile su cihazı | Merck |
| - Manyetik Karıştırıcı | Mtops |
| - Cam Kalemi | |
| - Fotoğraf makinesi | |
| - Hayvan Kafesi | |
| - Homojenizatör düzeneği | |
| - Kronometre | |
| - Lam | |
| - Lamel | |
| - Mezür (25 mL, 50 mL, 100 mL, 250 mL, 500 mL) | |
| - Mikroskop | |
| - Operasyon Takımı | |
| - Otomatik pipet, pastör pipeti | |
| - Soğutmalı santrifüj | Hettich |
| -Su Banyosu | |
| -Vorteks | |

3.5. Deneysel Kolit Modeli

Çalışma KSÜ Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Ratlar laboratuara getirildi ve tek tek tartılarak her birine intraperitoneal olarak 60 mg/kg dozunda ketamin hidroklorid (Ketalar flakon, Eczacıbaşı Türkiye) verilerek anestezi sağlandı. Anesteziyi takiben kolit grubundaki ratlar 30° trendelenburg pozisyonuna getirildi ve 8 mm'lik kateter, rektal yoldan 6 cm ileriye uzanacak şekilde yerleştirildi ve ratlara 1 mL, pH 2.4, % 4'lük asetik asit intrarektal (İR) olarak uygulandı ve eş zamanlı olarak İP yoldan 1 mL serum fizyolojik (nötr pH'da % 0.9'luk NaCl) verildi.

İlaç verdiğimiz grupta (Kolit+ koenzim Q10) ratlar 30° trendelenburg pozisyonuna getirildi 8 mm'lik kateter, rektal yoldan 6 cm ileriye uzanacak şekilde yerleştirildi ve ratlara 1 mL, pH 2.4, % 4'lük asetik asit intrarektal (İR) olarak uygulanarak ve eş zamanlı olarak İP yoldan 1 mL koenzim Q10 (10 mg/ml/kg⁻¹ dozunda koenzim Q10 soya yağı içinde çözülerek) verildi. Bu şekilde kolit ve tedavi grupların etkileri kontrol ile karşılaştırılarak saptandı.

Deney sonunda, çıkarılan kolon dokusu iki eşit parçaya ayrılarak histopatolojik incelemeler ve biyokimyasal incelemeler için uygun koşullarda saklandı. Histopatolojik değerlendirme Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında, biyokimyasal değerlendirmeler ise KSÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında yapıldı.

3.6. Homojenat Hazırlama

Dokuların homojenize işlemine geçmeden önce dokulara 1 gr 9 hacim (hacim/ağırlık) %1,15 KCl çözünme sağlamak amacıyla eklendi. Dokular 16.000 devir/dakika hızda 3 dk boyunca homojenize edildi. Enzim aktive kaybını önlemek amacıyla örnekler buz dolu küvete yerleştirildi. Daha sonra homojenatlar +4 °C'de 14000rpm'de 30 dakika santrifüj edildi ve üstteki süpernatantlar alındı ve ependorf tüplere ayrıldı bu ayrılan süpernatantlardan protein ve MDA, NO, 3-NT düzeyleri ile SOD, CAT ve GSH enzim aktive ölçümleri spektrofotometrik yol ile yapıldı.

3.7. Protein Düzeyinin Tayini

Bu metot proteinlerin içerdiği trozin ve triptofan rezidülerinin fosfotungustik – fosfomolibdik asit ile verdiği renk reaksiyonunun spektrofotometrik yöntemle 750 nm'deki absorban ölçümüne dayanır (87).

Ayırıklar

1. A çözeltisi:

%2 Na₂CO₃ 2 g hazırlanır

0,1 N NaOH ile 100 ml'ye tamamlanır.

2. B Çözeltisi: B₁ ve B₂ çözeltilerinden oluşur.

a) B1 Çözeltisi:

% 1 CuSO₄.5H₂O 1g hazırlanır

Saf suyla 100 ml'ye tamamlanır.

b) B2 Çözeltisi:

%2 Na-K tartarat 2g hazırlanır

Saf suyla 100 ml'ye tamamlanır.

3. C Çözeltisi(Günlük hazırlanır)

50 ml A + 1 ml B (0,5 ml B₁+0,5 ml B₂) karıştırılır.

4. D Çözeltisi (Günlük hazırlanır)

Folin Cioacaltea 1: 1,5 (v/v) oranında saf su ile sulandırılır.

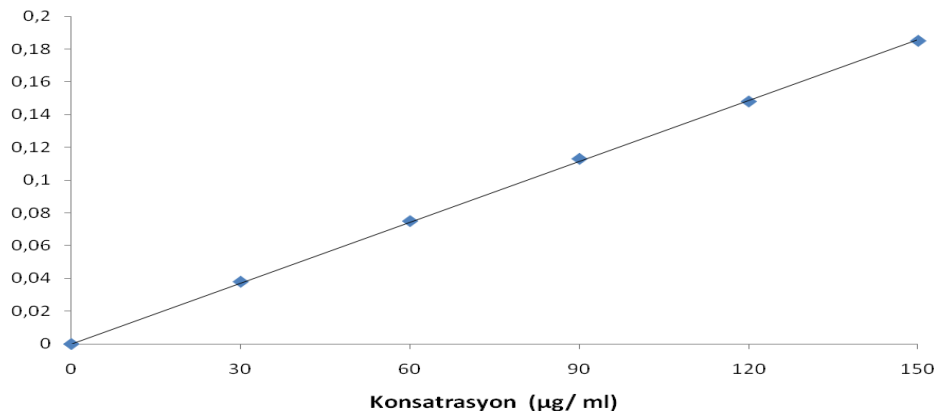
Standart Eğrinin çizimi

Stok standart için 0,3 g/dl bovin albumin hazırlanır. Hazırlanan stok standarttan 5 ml alınıp 100 ml 'ye serum fizyolojik ile tamamlandığında 150 µg/ml konsantrasyon elde edilir. Bundan seri sulandırma ile 150, 120, 90, 60, 30 µg/ml' lik konsantrasyonlar elde edilerek 750 nm'de verdikleri absorpsiyonlar kaydedilir. Bu verilere göre konsantrasyon-absorpsiyon eğrisi çizilir ve her numune ölçümünde standart eğri tekrarlanır (şekil 10) .

Tablo 9. Protein standart eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı (87)

| Tüp no | Kör | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|-----------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Konsantrasyon (µg/ml) | 0 | 30 | 60 | 90 | 120 | 150 |
| Standart bovin albumin (ml) | - | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 |
| Serum fizyolojik (ml) | 0.3 | - | - | - | - | - |
| C Çözeltisi (ml) | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 15 dakika oda ısısında bekletilir | | | | | | |
| D Çözeltisi (ml) | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 |

Oda ısısında 30 dakika bekletilir ve 750 nm'de köre karşı okunur.



Şekil 10. Protein standart eğrisi (87)

Doku Örnek Çalışması

Kolon dokularından hazırlanan süpernatantta protein tayinini yapmak için, süpernatant 1:50 oranında serum fizyolojik ile sulandırılır ve protein tayini yapılır. Bunun için üç tüp alınır ve çözeltiler aşağıdaki şekilde tüplere konular (Tablo 10).

Tablo 10. Doku örneğinde protein tayini için tüplerin hazırlanışı (87)

| | Kör (ml) | Standart (ml) | Örnek (ml) |
|-----------------------------------|----------|---------------|------------|
| Serum fizyolojik | 0.3 | - | - |
| Standart | - | 0.3 | - |
| Süpernatant | - | - | 0.3 |
| C Çözeltisi | 3 | 3 | 3 |
| 15 dakika oda ısısında bekletilir | | | |
| D Çözeltisi | 0.3 | 0.3 | 0.3 |

Oda ısısında 30 dakika bekletilir ve 750 nm’de köre karşı okunur.

Hesaplanması

Doku örneğinin absorbansı standartın absorbansı ile karşılaştırılarak veya doğrudan standart eğrisinden değerlendirilir ve dilüsyon katsayısı ile çarpılarak sonuç verilir (87).

3.8. Malondialdehit (MDA) Düzeyinin Tayini

Aerobik şartlarda pH 3.40’de tiyobarbitürik asit (TBA) ile örneğin 90-95 C°’de inkübasyonu sonucu oluşan lipit peroksidasyonunun sekonder ürünü olan MDA’nın TBA ile pembe renkli kompleks oluşturma esasına dayanır. Oluşan bu renk şiddeti ortamdaki MDA konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. 532 nm’de spektrofotometrik olarak değerlendirilir (88).

Ayırıcılar

1. SDS %8,1’lik

Sodyum Dodesil Sülfat (SDS)

2. Asetik Asit %20’lik (pH 3,5)

3. Tiyobarbitürik Asit (TBA) %0.8 lik

4. N-Butanol/Piridin Çözeltisi (14/1)(v/v)

5. Stok Standart

1.1.3.3 tetramethoksiopropan (yoğunluk =0.99 g/ml)

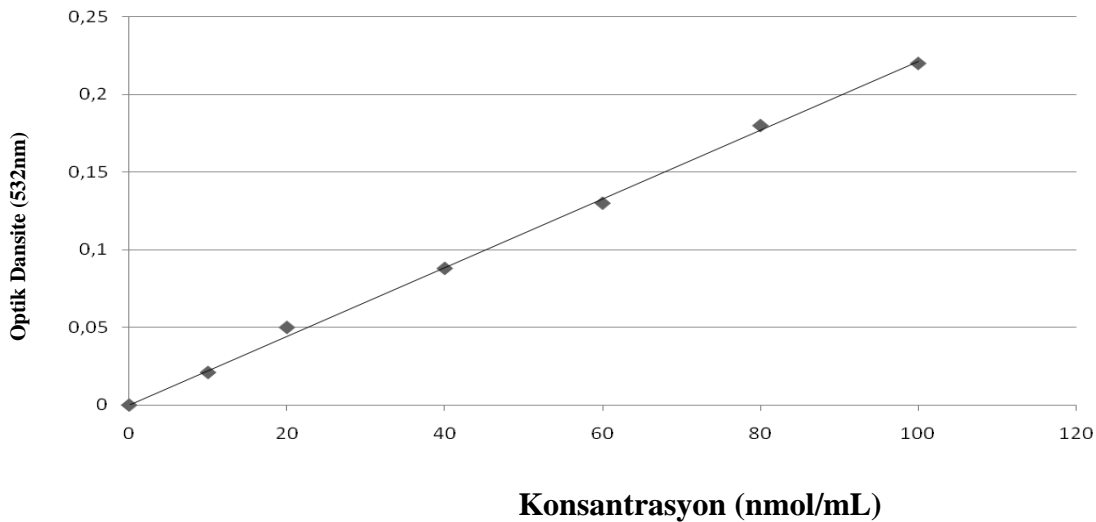
Standart Eğri Çizimi

Standart eğri çizimi yapılırken stok standarttan 6,6 µl alınıp 100 ml'ye saf su ile tamamlanarak günlük standart hazırlanır. Daha sonra 10, 20, 40, 60, 80 ve 100 nmol/ml konsantrasyonunda çalışma standartları hazırlanır. Ayraçlar tüplere aşağıda belirtildiği şekilde ilave edilirler (Tablo 11).

Tablo 11. MDA standart eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı (88)

| Tüp No. | 0 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|--|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Konsantrasyon(nmol/ml) | | 100 | 80 | 60 | 40 | 20 | 10 |
| Standart(ml) | - | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| SDS (ml) | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| Asetik Asit (ml) | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 1.5 |
| TBA(ml) | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 1.5 |
| Saf su (ml) | 0.8 | 0.7 | 0.7 | 0.7 | 0.7 | 0.7 | 0.7 |
| Vorteksle karıştırılır.60 dk 90 C''de inkübe edildikten sonra musluk suyu altında soğutulur. | | | | | | | |
| Saf su(ml) | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| N-Butanol/Piridin | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 |
| Vorteksle karıştırılır.4000 rpm 'de 10 dakika santrifüj edilir. | | | | | | | |

Tüpler N-Butanol /Piridin ilavesinden sonra iyice karıştırılır. Daha sonra 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir, üstteki organik kısım (üst faz) alınarak 532 nm'de absorbans fotometrik olarak okunur ve standart eğri grafiği çizilir (Şekil 11).



Şekil 11. MDA (Malondialdehit) standart eğrisi grafiği (88)

Dokuda MDA düzeyinin tayini için örnek çalışması yapılırken de yukarıdaki tabloda verildiği gibi tüpler belirli hacimde hazırlanır, doku örneği alınır ve MDA tayini yapılır. Ayrıntılı bilgi Tablo 12’de gösterilmiştir.

Tablo 12. Dokuda MDA düzeyinin tayini için tüplerin hazırlanışı (88)

| | Örnek | Standart | Kör |
|--|--------|----------|--------|
| Homojenat(Örnek) | 0.1 ml | - | - |
| Standart | - | 0.1 ml | - |
| %8.1 SDS | 0.2 ml | 0.2 ml | 0.2 ml |
| %20 Asetik Asit | 1.5 ml | 1.5 ml | 1.5 ml |
| %0.8 TBA (sulu) | 1.5 ml | 1.5 ml | 1.5 ml |
| Saf su (ml) | 0.7 ml | 0.7 ml | 0.8 ml |
| Vorteksle karıştırılır.60 dk 90 C°’de inkübe edildikten sonra musluk suyu altında soğutulur. | | | |
| Saf su (ml) | 1 ml | 1 ml | 1 ml |
| N-Butanol/Piridin (v:v 15/1 oranında) | 5 ml | 5 ml | 5 ml |

Tüpler N-Butanol /Piridin ilavesinden sonra iyice karıştırılır. Daha sonra 4000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilir, üstteki organik kısım (üst faz) alınarak 532 nm’de absorbans fotometrik olarak okunur. Sonuç standart eğrisinden değerlendirilir (88).

Hesaplanması

nmol/ml olarak ölçülen MDA düzeyi nmol/mg protein olarak verilmiştir.

$$\text{MDA Düzeyi (nmol/mg protein)} = \frac{\text{MDA değeri (nmol/ml)}}{\text{protein (mg/ml)}}$$

$$\text{MDA Düzeyi (nmol/gr doku)} = \frac{\text{MDA değeri (nmol/ml)} \times \text{süpernatant (hacim/ağırlık)}}{\text{doku ağırlığı (gr)}}$$

3.9. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivite Tayini

Süperoksit dismutaz, oksidatif enerji üretimi sırasında oluşan toksik süperoksit radikallerinin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dismutasyonunu hızlandırır. Bu yöntem, ksantin ve ksantin oksidaz kullanılarak oluşturulan süperoksit radikallerinin, 2-[4-iyodofenil]-3-[4-nitrofenol]-5-feniltetrazolium klorid (piyodonitrotetra zolium viyolet: INT) ile meydana getirdiği kırmızı renkli formazan boyasının 505 nm dalga boyunda verdiği optik dansitenin (OD) okunması esasına dayanmaktadır. Örnekte bulunan SOD, süperoksit radikallerini ortamdaki uzaklaştırarak 2 numaralı formazan reaksiyonunu inhibe eder. Sonuçta oluşan kırmızı rengin OD'si SOD yokluğunda oluşan renge göre azalır, buaradaki farkın belirlenmesiyle de SOD aktivitesi ölçülür (89).

Ayrıçalar

1. CAPS Tamponu (3-sikloheksilamino)-1-propan sülfonik asit) (pH:10.2)

| | |
|---------------|-----------|
| 50.00 mM CAPS | 1.1065 gr |
| 0.94 mM EDTA | 0,035 gr |
| Doymuş NaOH | 11.1 µl |

Saf su ile 100 ml 'ye tamamlanır.

2. Substrat Karışımı

| | |
|-----------------|------------|
| 0.05 mM Ksantin | 0.00152 gr |
| INT | 0.00253 gr |

Bu karışım CAPS tamponuyla 100 ml'ye tamamlanır.

3. 80 Ü/L Ksantin oksidaz

| | |
|----------------------|---------|
| 50 Ü Ksantin oksidaz | 3.04 µl |
|----------------------|---------|

Saf su ile 1 ml'ye tamamlanır.

4. 0.01 MFosfat tamponu (pH:7 ayarlanır)

| | |
|----------------------------------|----------|
| Na ₂ PO ₄ | 54.91 mg |
| NaH ₂ PO ₄ | 3.58 mg |

Saf su ile 100 ml 'ye tamamlanır.

5. Standart (S6): 5,6 Ü/ml SOD içeren Ransod kitinin standardıdır.

Standart Eğri Çizimi

Liyofilize (hızlı dondurulmuş, mikroorganizma içermeyen, steril) olarak hazırlanmış SOD standardı 10 ml bidistile su ile sulandırılır. Standart eğri çiziminde kullanılacak olan diğer SOD derişimleri fosfat tamponuyla Tablo 13'deki gibi hazırlanır. 2-8 °C 'de saklandığında 2 hafta süreyle dayanıklıdır.

Tablo 13. SOD standart eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı (89)

| Kullanılacak Standartlar | Standart Solüsyonun Hacmi | M Fosfat Tamponunun Hacmi | SOD derişimi (Ü/ml) |
|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------|
| S5 | 6 ml S6 | 5 ml | 2.8 |
| S4 | 5 ml S5 | 5 ml | 1.4 |
| S3 | 5 ml S4 | 5 ml | 0.7 |
| S2 | 3 ml S3 | 5 ml | 0.23 |

S1: Kör (fosfat tamponu)

Yöntem de; süperoksit dismutaz aktive tayini yapılırken, kolon doku hücrelerinden hazırlanan süpernatantlar %30 ile %60 arasında % inhibisyon aralığı olacak şekilde 0.01 M fosfat tamponu ile 1:65 (640 mikrolitre tampon,10 mikrolitre örnek) oranında sulandırılır ve aktivite tayini yapılır.

Tablo 14. SOD standart eğri çizimi için kuvars küvetlerin hazırlanışı (89)

| | Kör (µl) | Standart(µl) |
|------------------------------|----------|--------------|
| Standart | - | 25 |
| 0.01 M Fosfat Tamponu | 25 | - |
| Substrat Karışımı | 850 | 850 |
| Küvetler iyice karıştırılır. | | |
| Ksantin oksidaz | 125 | 125 |

Ksantin oksidaz eklendikten sonra tekrar karıştırılır 30 saniye sonra çalışma körünün ve standardın 37 °C'de, 505 nm dalga boyunda havaya karşı başlangıç absorbanları (A₁) okunur. Aynı anda kronometre çalıştırılarak 3 dakika sonra son absorbanları (A₂) tekrar okunur.

Hesaplama

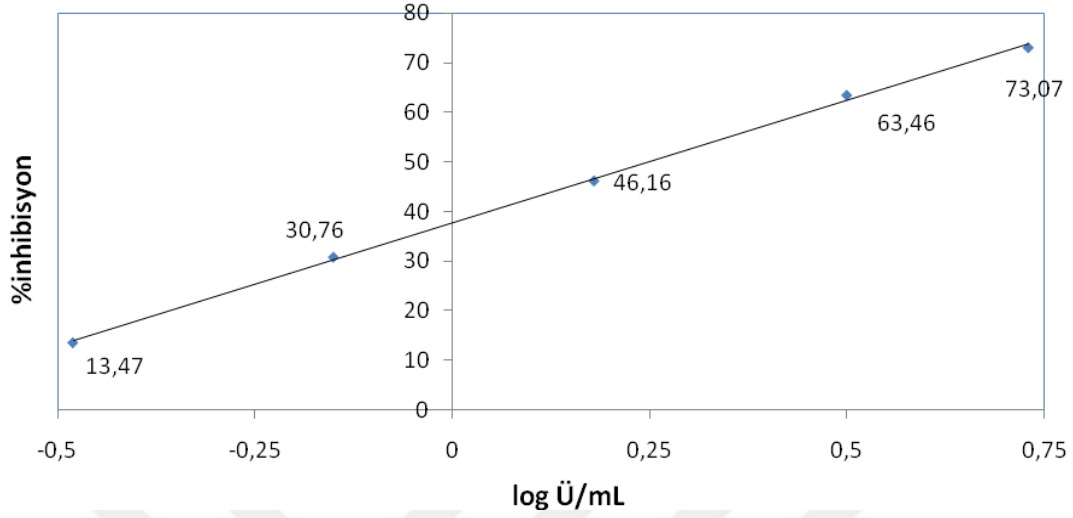
Çalışma körü SOD içermediği için inhibisyona uğramamış reaksiyon olarak kabul edilir ve değeri %100 olarak alınır. Tüm standartlar için % inhibisyon değeri bunlara ait çalışma körüyle oranlanarak hesaplama yapılır.

$$\Delta A/\text{dak. standart} = A_2 - A_1 / 3 \text{ dakika}$$

$$\% \text{ inhibisyon standart} = 100 - \frac{\Delta A/\text{dak. standart} \times 100}{\Delta A \text{ çalışma körü}}$$

$$\Delta A \text{ çalışma körü}$$

Hesaplama yapıldıktan sonra x yatay eksenine SOD derişimlerinin (Ü/ml) logaritmik dönüşüm değerleri, Y (dikey) eksenine standartlara ait % inhibisyon değeri yazılarak standart eğri elde edilir (Şekil 12).



Şekil 12. SOD standart eğrisi (89)

Örnek Çalışması

Tablo 15. Dokuda SOD aktivite tayini için kuvars tüplerin hazırlanışı (89)

| | Kör (µl) | Standart(µl) |
|------------------------------|----------|--------------|
| Standart | - | 25 |
| 0.01 M Fosfat Tamponu | 25 | - |
| Substrat Karışımı | 850 | 850 |
| Küvetler iyice karıştırılır. | | |
| Ksantin oksidaz | 125 | 125 |

Tüpler tekrar karıştırıldıktan 30 saniye sonra 37°C’de, 505 nm dalga boyunda havaya karşı başlangıç absorbans(A1) okunur. 3 dakika sonra absorbans (A2) tekrar okunur.

Hesaplama:

$$\Delta A/\text{dak. standart} = A_2 - A_1 / 3 \text{ dakika}$$

$$\% \text{ inhibisyon standart} = 100 - \frac{\Delta A/\text{dak. standart} \times 100}{\Delta A \text{ çalışma körü}}$$

$$\Delta A \text{ çalışma körü}$$

Örneğe ait hesaplanan yüzde inhibisyon değerine karşılık gelen SOD değeri standart eğri kullanılarak bulunur. Ü/ml biriminden ölçülen SOD aktivitesi Ü/mg protein birimi olarak verilmiştir (89).

$$\text{SOD spesifik aktivitesi}(\text{Ü/mg protein}) = \frac{\text{SOD aktivitesi}(\text{Ü/ml})}{\text{Protein (mg/ml)}}$$

3.10. Redükte Glutasyon Tayini

Prensip: 5, 5'-ditiyo-bis [2-nitrobenzoik asit] (DTNB), sülfidril bileşikleri tarafından redükte edilmiş bir disülfid bileşigidir. Oldukça sarı renkli anyon oluşturur. GSH madde miktarı bu sarı bileşigin 412 nm dalga boyunda optik dansitesi saptanarak değerlendirilir (90).

Ayırıklar:

1. Çöktürücü Çözelti

Glasiyel metafosforik asit 1.67g

Disodyum EDTA 0.20g

NaCl 30.0g

Saf su ile 100 mL'ye tamamlanır.

2.0.3 M Na₂HPO₄

Na₂HPO₄ 42.59g

Saf su ile 100mL'ye tamamlanır.

3. DTNB Çözeltisi

DTNB 20.0 mg

%1'lik sodyum sitrat ile 100 mL'ye tamamlanır

Yöntem(90):

| | Kör(mL) | Örnek(mL) |
|-----------|---------|-----------|
| Homojenat | - | 2 |
| Saf Su | 2 | - |
| Çöktürücü | 3 | 3 |

5 dk bekletilerek, örnek filtre kağıdından süzölmüştür.

| | | |
|--|---|---|
| Süzüntü | 2 | 2 |
| 0.3 M Na ₂ HPO ₄ | 8 | 8 |

412 nm'de köre karşı okunmuştur. (OD₁). Tüplere:

| | | |
|------------|---|---|
| %0.02 DTNB | 1 | 1 |
|------------|---|---|

İlave edilmiş ve 412 nm'de köre karşı okunmuştur.(OD₂)

Hesaplama:

Glutasyon derişimi $\mu\text{mol/mg}$ protein biriminden hesaplanır.

$$C / 1000 = (OD_2 - OD_1) / 13600 \times E_1 \times 5/2 \times 1/2$$

$$C (\mu\text{mol/mg protein}) = (OD_2 - OD_1) \times 0.092 / \text{Protein (mg/mL)}$$

13600: GSH ile DTNB etkileşimi sırasında oluşan sarı rengin molar ekstinksiyon katsayısı

E_1 : Eni 6 nm'den büyük olan bant kullanılırsa hem ışık yolu hem de bant genişliği farklarını düzelten bir türev ekstinksiyon katsayısı kullanılır. Bizim kullandığımız 2 nm'dir. Hesaplamalarda E_1 kullanılmamıştır (90).

C : mmol glutasyon

OD₁ : DTNB ilave edilmeden önce 412 nm dalga boyunda ölçülecek optik dansite

OD₂ : DTNB ilave edildikten sonra 412 nm dalga boyunda ölçülecek optik dansite

1000: mmol'e dönüşüm katsayısı

3.11. Katalaz (CAT) Aktivite Tayini

Katalaz, H₂O₂' nin yıkımını katalize eder. H₂O₂' nin CAT tarafından yıkım hızı, H₂O₂'nin 230 nm'de ışığı absorbe etmesinden yararlanılarak spektrofotometrik olarak ölçülebilir (90).

Ayırıklar

1. 1M Tris-HCl, 5mM Na₂ EDTA tamponu, pH 8.0

| | |
|----------------------|-----------|
| Tris-Baz | 5.358 gr |
| Tris-HCl | 8,787 gr |
| Na ₂ EDTA | 0.1461 gr |

Saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.

2. 1 M Fosfat tamponu, pH 7.0

| | |
|---------------------------------|----------|
| K ₂ HPO ₄ | 6.723 gr |
| KH ₂ PO ₄ | 8.344 gr |

Saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.

3. 10 mM H₂O₂

%30' luk peroksitten 10 µl alınır ve 9.990 µl saf suyla tamamlanır.

4. Etanol (%95'lik)

Yöntem

Katalaz aktivite tayini için, doku süpernatanı 1:50 oranında saf su ile sulandırılır ve 1 ml'sine 20 µl saf etanol ilave edilir, karıştırılır ve aktivite tayini yapana kadar tüplerin ağzı kapalı bekletilir. Deneye başlamadan önce, günlük olarak hazırlanan 10 mM H₂O₂ konsantrasyonunun doğru ayarlanıp ayarlanmadığı fosfat tamponu ile kontrol edilir. Bunun için fosfat tamponu 1:10 oranında saf su ile sulandırılabilir. Ayarlanma yapılırken 1ml'lik küvete 900 µl saf su 100 µl fosfat tamponu koyulur karıştırılır ve bu karışımın 900 µl' 230 nm'de fotometrik olarak okunur OD₁ olarak kaydedilir. Daha sonra aynı küvete hazırladığımız 10 mM 'lık peroksitten (H₂O₂) 100 µl koyulur ve tekrar okuma yapılır absorbans değeri

OD₂olarak kaydedilir. OD₂-OD₁= 0.071 olmalıdır. Bu değer bulunduktan sonra hazırlanan peroksidin konsatrasyonu tam 10 mM'dır denilir ve deneye Tablo 16'da gösterildiği gibi başlanır.

Tablo 16. Dokuda CAT aktivite tayini için kuvars küvetlerinin hazırlanışı (90)

| | Kör (µl) | Numune (µl) |
|--|----------|-------------|
| 1M Tris-HCl, 5mM Na ₂ EDTA tamponu,pH 8.0 | 50 | 50 |
| 10 mM H ₂ O ₂ | - | 900 |
| Saf su | 930 | 30 |
| 37 °C'de 10 dakika inkübe edilir. | | |
| Örnek (sulandırılmış) | 20 | 20 |

Tüpler 37 °C'de 10 dakika inkübe edildikten sonra daha önce 1:50 oranında dilüe ettiğimiz örnekten 20 µl alınarak tüplere ilave edilir ve 230 nm'de 2,5 dakika kinetik okuma yapılır. Her numune teker teker çalışılarak kaydedilir.

Hesaplama

$$\text{CAT Aktivitesi (Ü/ml)} = \frac{\Delta\text{OD} \times V_T (1.0 \text{ ml})}{0.071 \times V_H (0.02 \text{ ml})}$$

ΔOD: Dakikadaki optik dansite değişimi

VH: Örnek hacmi

VT: Toplam hacim

0.071: 10mM H₂O₂ yıkım hızının verdiği OD değeridir.

Ü/ml biriminden ölçülen CAT aktivitesi örnekte saptanan protein değerine bölünerek dokudaki enzim spesifik aktivite sonucu Ü/mg protein biriminden verilir(90).

$$\text{CAT Spesifik Aktivitesi (Ü/mg protein)} = \frac{\text{CAT Değeri (Ü/ml)}}{\text{Protein (mg/ml)}}$$

3.12. NO (nitrit+nitrat) ölçüm yöntemi:

NO tayini: Cartos ve Wakid yöntemi kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçüldü (91).

Gerekli Ayıraçlar

1-Kadmiyum granülleri: 0.1mol/L H₂SO₄ içinde saklandığı sürece 9 ay stabildir.

2-Glisin-NaOH buffer: 7.5 g glisin bir miktar distile suda çözüldü. 2 mol/L NaOH çözeltisi ile pH'sı 9,7'ye ayarlandı. Bu çözelti 1 ay 0-8°C'de stabildir.

3-Sülfanilamid: 5 g sülfanilamid 3 mol/L sıcak HCl içinde çözülür ve daha sonra soğumaya bırakıldı. 1 yıl oda sıcaklığında stabil kalabilir.

4-N-Naphthylethylene diamine (NNDA): 50 g NNDA 250 ml distile su içinde çözüldü. 2 ay 0-8 °C'de stabildir.

5-Çinko sulfat (ZnSO₄): 75 mmol/L; 10.8 mg alınıp 500 ml'ye tamamlandı.

6-Bakır sulfat (CuSO₄): 5 mmol/L; 250 mg alınıp 200 ml'ye tamamlandı.

7-Sodyum hidroksit (NaOH): 55 mmol/L; 1.1 g alınıp 500 ml'ye tamamlandı.

8-Standartlar: NaNO₂ standardı 10 mmol/L'lik sodyum tetra borat çözeltisi içinde hazırlandı (69 mg NaNO₂, 380 mg borat (Na₂B₄O₇·10 H₂O) 100 ml içinde çözüldü).

9-KNO₃ standardı: 102 mg potasyum nitrat alınıp 10 mmol'lik 100 ml sodyumtetraborat içinde çözüldü.

DeneySEL İşlemler

Deproteinizasyon: Test tüpüne 0.5 ml distile su, 2 ml ZnSO₄, 2.5 mL NaOH ilave edilip 10 dk. oda ısısında beklettikten sonra 4000 g' de 20 dk. santrifüj edildi.

Kadmiyum granüllerinin aktivasyonu: Granüller 3 defa distile su ile yıkanır. 1-2 dk. içinde CuSO₄ içinde çalkalanarak bekletilip, 3 defa da Glisin-NaOH ile yıkanıp 10 dk. içinde kullanılmak üzere kurutma kağıdı ile kurutuldu.

Sonucun hesaplanması: KNO₃' ün 10 milimolarlık çözeltisinden 1; 5; 10; 25; 50; 75; 100; 200 milimolarlık seri dilüsyonlar hazırlanır ve numunelere uygulanan tüm işlemler standartlara da uygulandı.

1ml glisin-NaOHbuffer tüm tüplere konuldu. 1'er ml deproteinize numunelerden ve standartlardan alındı. 2.5 g tartılan ve aktivasyon işleminden geçirilen kadmiyumlardan tüm tüplerin üzerine konuldu. 90 dk. oda ısısında karıştırarak beklendi. Süre sonunda nitrit ölçümü için bu tüplerden 2'şer ml alınarak üzerine 1 ml sülfanilamid ve 1 ml NNDA ilave edildi. Karıştırılır ve 45 dk. beklendikten sonra 545 nm'de okuma yapıldı.

Direkt nitrit ölçümü: NaNO₂ standartlarını 1; 5; 10; 25; 50; 75; 100; 200 milimolarlık seri dilüsyonlar hazırlandı ve deproteinize numunelerden kadmiyum ile reaksiyona sokmadan direkt olarak 2'şer ml alınarak ayrı tüplere konuldu. Üzerine 1 ml sülfanilamid ve 1 ml NNDA eklendi. 45 dk. sonra 545 nm'de okuma yapıldı.

Nitrat aktivitesinin hesaplanması

Bulunan nitrat değerlerinden nitrit değerleri çıkarıldıktan sonra sulandırma faktörü olan 20 ile çarpılıp yine nitrat standardından elde edilen faktör ile çarptıktan sonra çıkan sonuç milimol/litre olarak hesaplanmış olur (91).

3.13. Nitrotirozin (3-NT) Düzeyi:

Rat barsak dokusunda 3-NTx düzeyleri ELISA cihazında ticari kit (Rat-3-Nitrotyrosine (NT) Elisa Kit, Cusabio) yardımıyla 450 nm'de ölçüldü. (Kit referans aralıkları 0.156 ng/ml-10ng/ml, sensitivitesi: 0.038 ng/ml).

3.14. Histopatolojik Değerlendirme

Histopatolojik inceleme için, dokular % 10' luk tamponlu nötral formaldehit solüsyonunda 24 saat fikse edildi. Örneklerin tümü doku takip cihazında rutin takibe alınarak parafin bloklar hazırlandı. Bu parafin bloklardan mikrotom ile her doku örneği için 5 µm'lik seri kesitler hazırlanarak Hematoksilen-Eozin (H&E) boyası ile boyandı. Çalışma, aynı patolog tarafından hangi doku örneğinin hangi gruba dahil olduğunu bilmeden ve doku örnekleri içinden rastgele seçim yapılarak gerçekleştirildi. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskobu ile histopatolojik incelemeye tabi tutuldu.

3.15. İstatistik

İstatiksel analizin yapılmasında SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 15.0 kullanıldı. Sonuçlarımız ortalama \pm standart sapma şeklinde verildi. Biyokimyasal verilerimizin değerlendirilmesinde ise gruplar arasındaki farkların incelenmesi için Non Parametrik Kruskal-Wallis testi, iki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde de Mann-Whitney U testi kullanıldı. Her iki test içinde $p < 0.05$ değeri istatiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Oksidatif/Nitrozatif Stres Biyobelirteç Sonuçları

Ratlarda oluşturulan kolit modeli her grupta 8 adet rat olmak üzere 3 grup ve toplamda 24 adet rat üzerinde çalışıldı. Deney süresince gruplarda herhangi bir kayıp yaşanmadı. Tüm gruplardaki ratlara ait kolon dokusunda oksidatif/nitrozatif stres biyobelirteçlerinin düzeyleri Tablo 17 ve Grafik 1-6'da verilmiştir.

Tablo 17. Oksidatif ve Nitrozatif Stres Biyobelirteçlerinin Düzeyleri

| | Kolit Grubu * | Tedavi Grubu** | Kontrol Grubu*** |
|------------------------------|----------------------|-----------------------|-------------------------|
| CAT (Ü/mg protein) | 11,35±4,65 | 18,02±6,03 | 26,22±9,85 |
| SOD (Ü/mg protein) | 30,50±12,73 | 49,20±19,06 | 55,13±21,27 |
| MDA (nmol/mg protein) | 8,08±2,67 | 6,61±1,98 | 3,12±1,05 |
| GSH (µmol/mg protein) | 0,031±0,010 | 0,048±0,016 | 0,053±0,019 |
| NO (µmol/g protein) | 10,01±4,48 | 8,31±3,10 | 4,08±1,87 |
| 3-NT (nmol/L) | 6,13±2,54 | 4,01±1,63 | 1,65±0,59 |

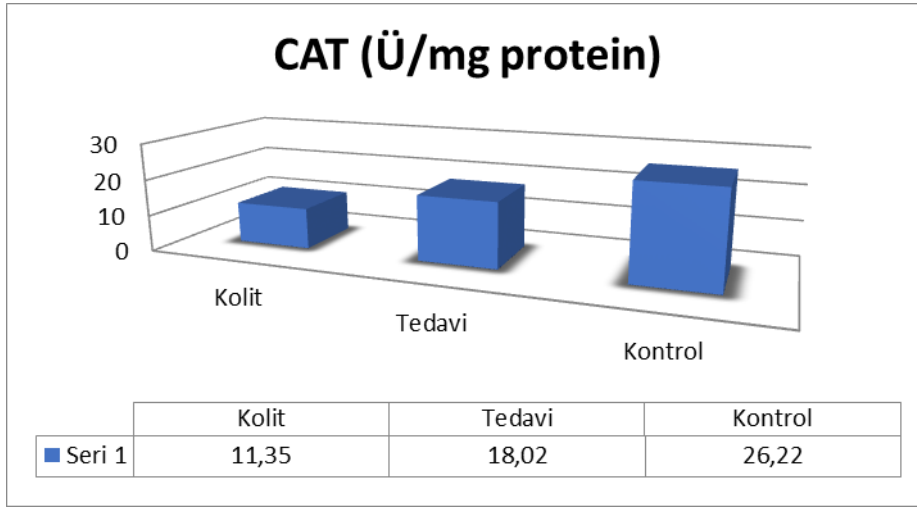
*,*** Kolit ile kontrol gruplarında CAT, SOD, MDA, GSH, NO ve 3-NT düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptandı ($p<0,05$) (Mann-Whitney U test).

**, * Tedavi ve kolit grupları arasında SOD ve GSH hariç CAT aktivitesi yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptanmadı ($p>0,05$) (Mann-Whitney U test)

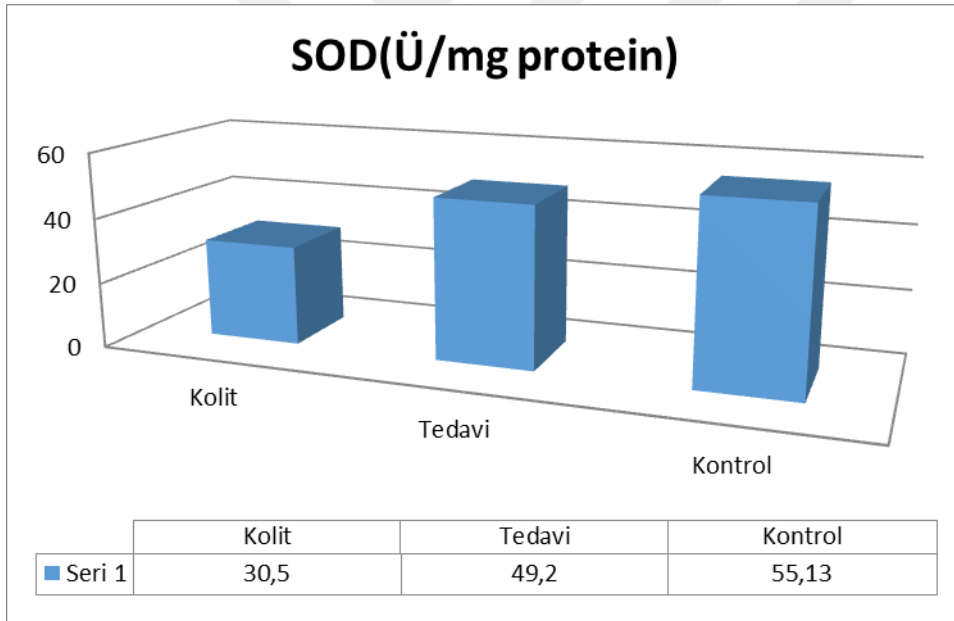
**, * Tedavi ve kolit grupları arasında MDA, NO ve 3-NT düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptanmadı ($p>0,05$) (Mann-Whitney U test)

***, ** Kontrol ve tedavi grupları arasında CAT, SOD, MDA, GSH, NO ve 3-NT düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptandı ($p<0,05$) (Mann-Whitney U test).

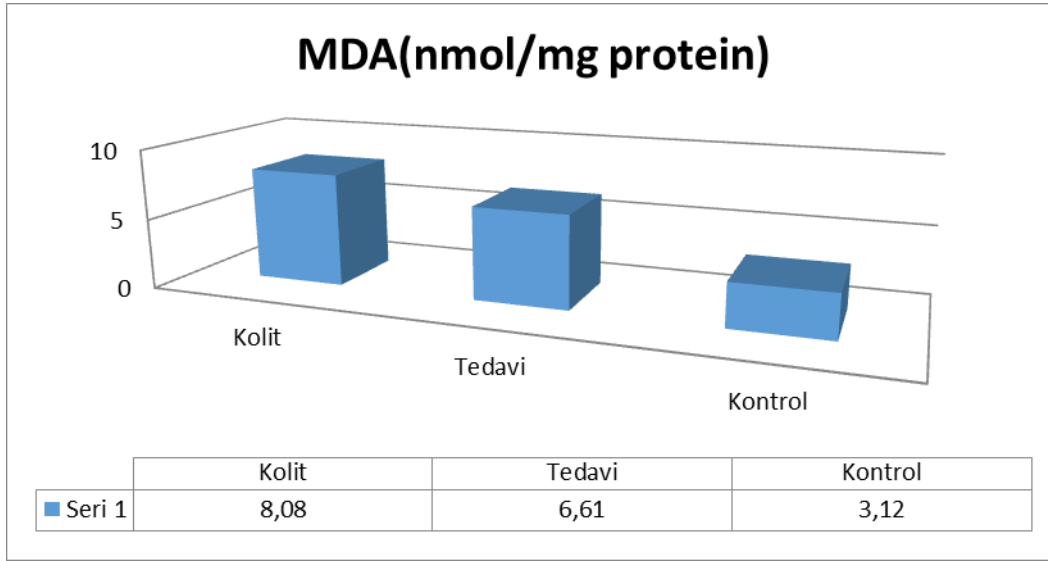
Grafik 1. Gruplar Arası CAT Aktivite Tayini



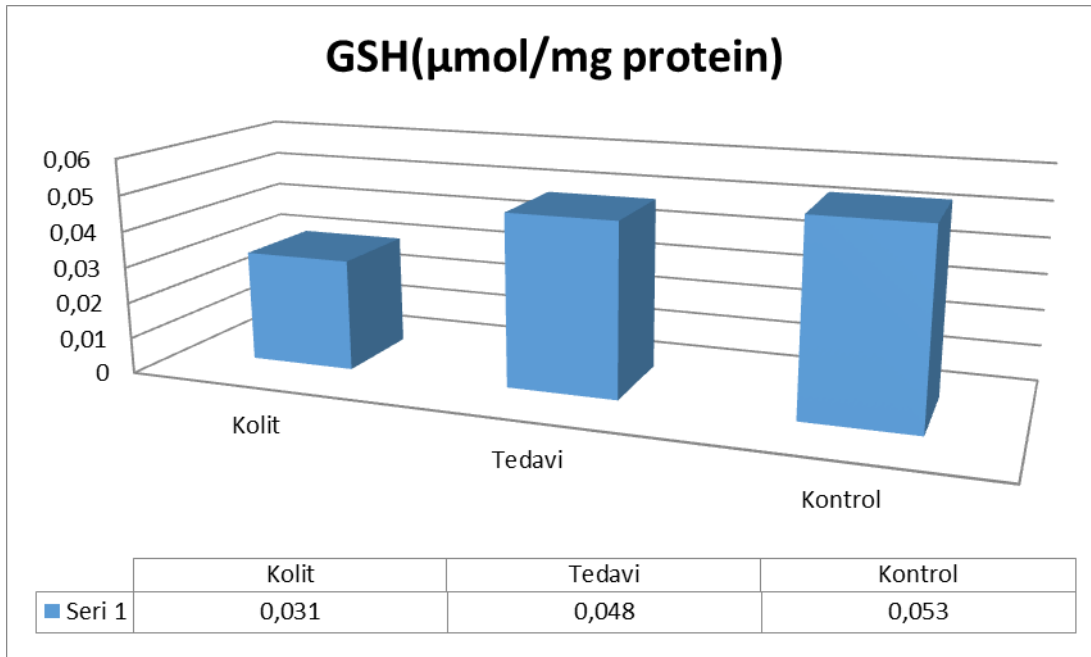
Grafik 2. Gruplar Arası SOD Aktivite Tayini



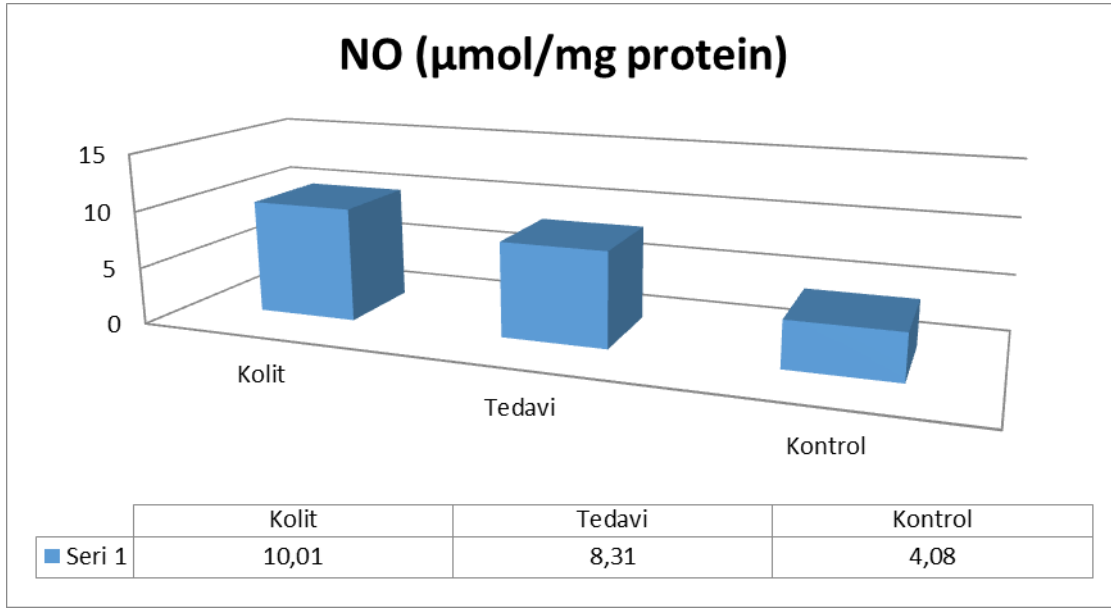
Grafik 3. Gruplar Arası MDA Düzeyleri



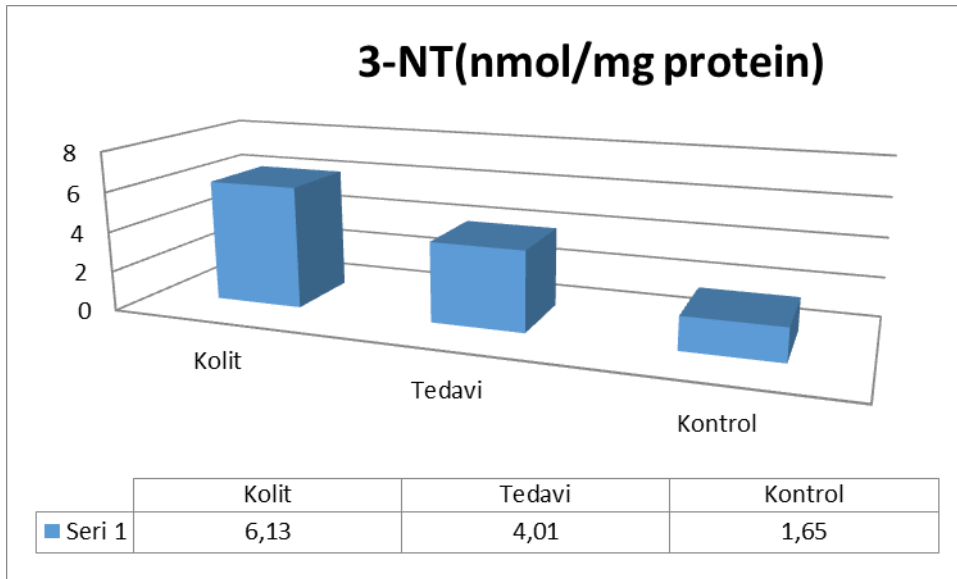
Grafik 4. Gruplar Arası GSH Düzeyleri



Grafik 5. Gruplar Arası NO Düzeyleri



Grafik 6. Gruplar Arası 3-NT Düzeyi



4.2.Histopatolojik Bulgular

4.2.1. Makroskopik Skorumlama Bulgular:

Kolonik mukozadaki makroskopik değişiklikler Campos tarafından tarif edildiği gibi 5 farklı şekilde sınıflandırıldı (92). Makroskopik morfoloji skorlamaları Tablo 18’de gösterilmiştir.

Tablo 18. Makroskopik Morfoloji Skorumlamaları (92).

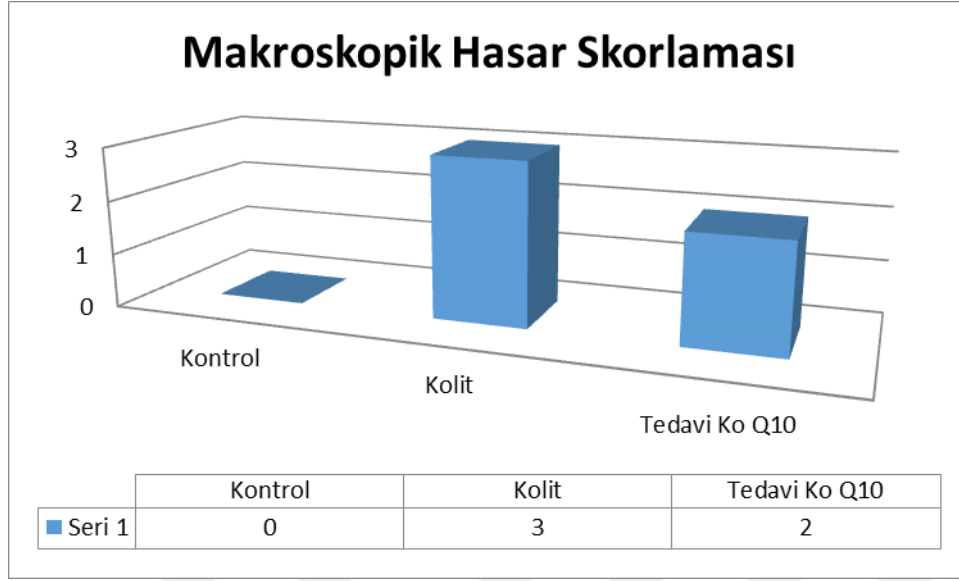
| DERECE | BULGU |
|--------|--|
| 0 | Korunmuş, normal görünümlü mukozal tabaka |
| 1 | Ödem konjesyon ve yüzeysel ülserasyon olmadan eritemli alanlar |
| 2 | Lineer yüzeysel ülserasyonlar (7–15mm); deprese olmuş eritematöz veya daha koyu mukoza görünümü, granüler zemin |
| 3 | Düzensiz zemin üzerinde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

Çalışmamızda, kolon dokusundaki makroskopik hasar skoru değerleri istatistiksel olarak medyan (minimum-maksimum) değer olarak ifade edildi. Asetik asit ile kolit oluşturulan grupta 3,0 (2,0-3,0) , kolit + 10 mg/kg/gün koenzim Q10 ile tedavi grubunda 2,0 (2,0-2,0 ve kontrol grubundaki değerlerin istatistik olarak birbirinden farklı olduğu saptanmıştır (p<0,05). Kolit grubunda belirgin düzeyde oluşmuş olan inflamasyon tedavi grubunda anlamlı şekilde azalmıştır. Tablo 19’da gruptaki makroskopik hasar skorları gösterilmiştir.

Tablo 19. Makroskopik Hasar Skorumlama Sonuçları

| Gruplar | Değerler |
|---------------|----------|
| Kontrol | 0±0 |
| Kolit | 3,0±1,2 |
| Tedavi Ko Q10 | 2,0±0,9 |

Grafik 7. Makroskopik Hasar Skorlama Grafiği



4.2.2. Mikroskopik Skorlama

Mukozanın makroskopik olarak değerlendirilmesinden sonra histolojik değerlendirmeler Yamamoto ve ark'nın uyguladığı şekilde yapıldı. Kısaca, parafin bloklar oluşturulduktan sonra alınan kesitler Hemotoksilen&Eozin ile boyanıp mikroskop altında incelendi. Kolonik mukozadaki mikroskobik değişiklikler 0–3 değerleri arasında derecelendirildi (93) (Tablo 20).

Tablo 20. Mikroskopik Skorlama (93)

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

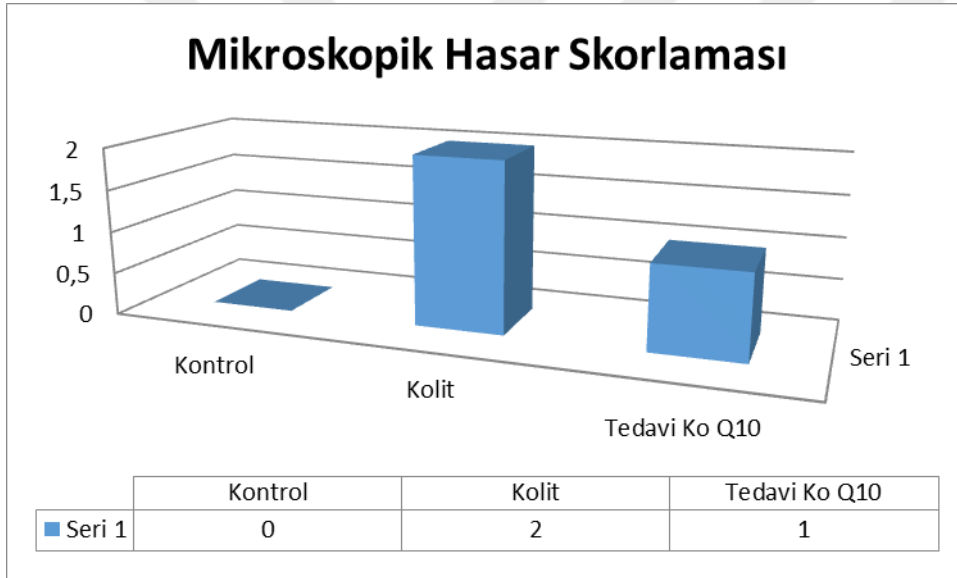
Çalışmamızda, kolon dokusundaki mikroskopik hasar skoru değerleri, istatistiksel olarak medyan (minimum-maksimum) değer olarak ifade edildi. Asetik asit ile kolit

oluşturulan grupta 2,0 (1,0-2,0), kolit + 10mg/kg/gün dozundaki tedavi grubunda 1,0 (1,0-0,0) ve kontrol grubunda 0,0 (0,0-0,0) olduğu gözlemlendi. Kolit, kontrol ve 10 mg/kg/gün dozundaki tedavi gruplarının istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğu saptanmıştır ($p<0,001$). Kolit ve 10 mg/kg/gün dozundaki tedavi grubunun ise istatistiksel olarak birbirinden farklı olmadığı saptanmıştır (Tablo 21).

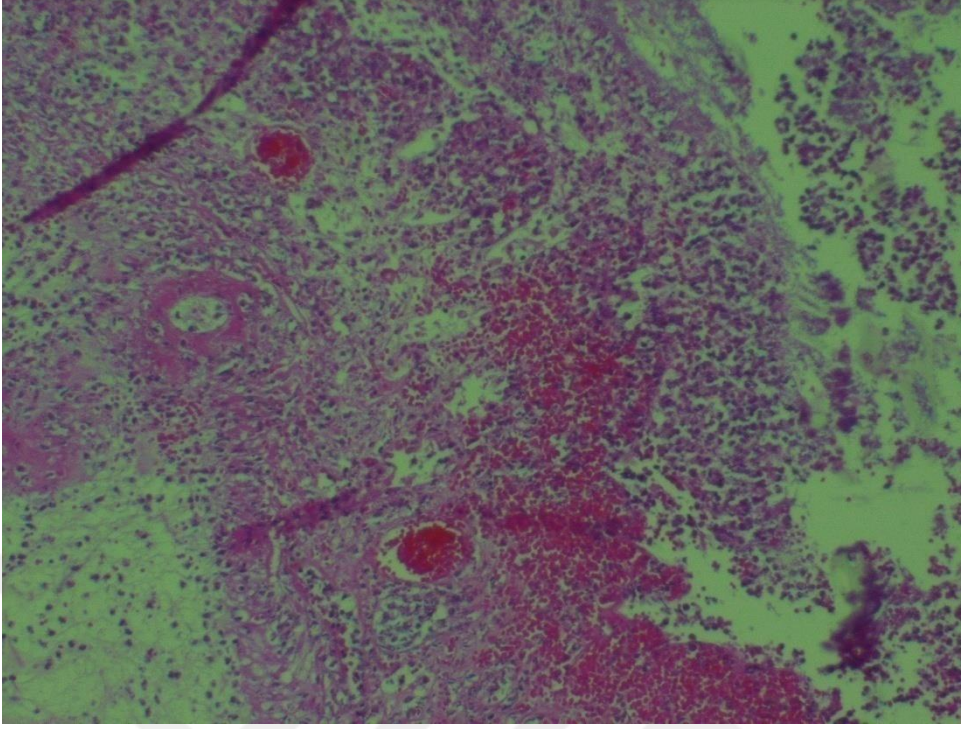
Tablo 21. Mikroskopik Hasar Skorumları

| Gruplar | Değerler |
|---------------|----------|
| Kontrol | 0±0 |
| Kolit | 2,0±0,8 |
| Tedavi Ko Q10 | 1,0±0,3 |

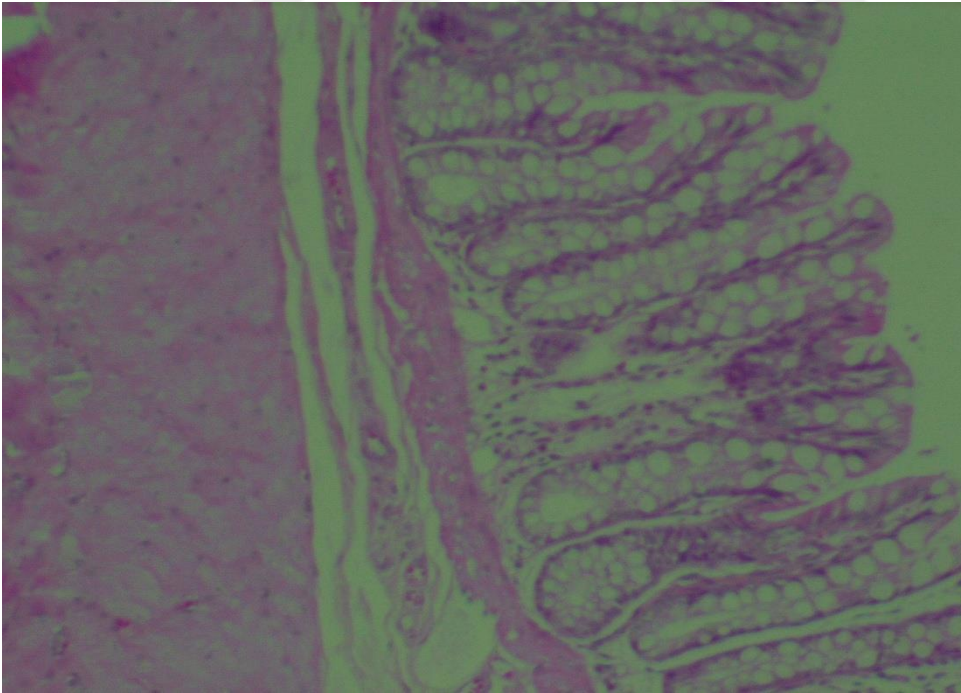
Grafik 8. Mikroskopik Hasar Skorumları Grafiği



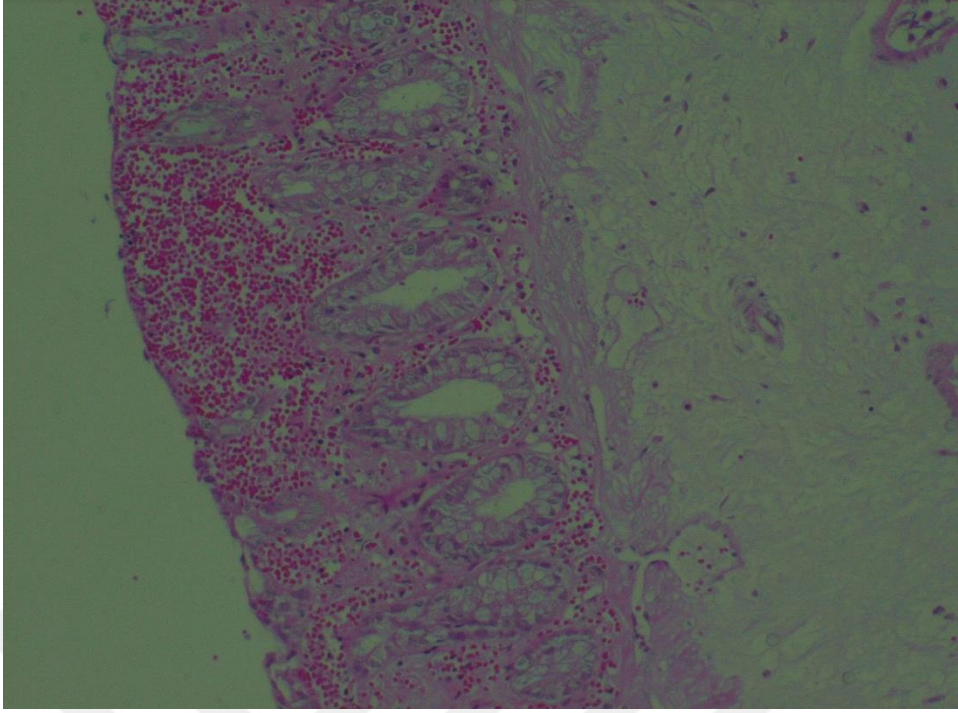
Gruplardan histopatolojik görünümler



Resim 3. Kolit Grubuna Ait Histopatolojik Değişiklikler: Belirgin Epitelyal Ülserasyon, Kript apseleri, Monosit ve Nötrofil Düzeylerinde Belirgin Artış



Resim 4. Kontrol Grubuna Ait Histopatolojik Görüntü: Normal Epitel ve Kript Görünümü



Resim 5. Tedavi Grubuna Ait Histopatolojik Görüntü: Multipl Epitel Hücre Kaybı, Epitelyal Düzleşme, Kriptit Oluşumu Orta Düzeyde, Monosit ve Nötrofil İnfiltrasyonu

5. TARTIŞMA

Kolit kalın bağırsağın iç yüzeyini döşeyen tabakanın iltihaplanması olarak ifade edilir. Mukozada iltihaba ve kanayan yaralara yol açan, hastanın yaşam kalitesini ciddi ölçüde etkileyen bir hastalıktır. Çalışmamız da asetik asit ile oluşturduğumuz akut kolit modelinde Koenzim Q10'un koruyucu etkisinin ortaya konulması amaçlamıştır.

Tüm hücrelerde ve membranlarda bulunan, mitokondriyal solunum zincirinin bir üyesi olan Koenzim Q, hücre metabolizması için son derece önemli fonksiyonlara sahip olup, membran yapısının ve fosfolipid tabakasının korunmasında olduğu gibi antioksidan etkisi olan bir moleküldür. Kardiyovasküler hastalıklar, dejeneratif kas hastalıkları, kanserler, diabetes mellitus ve nörodejeneratif hastalıklar başta olmak üzere birçok patofizyolojik olayda Koenzim Q düzeyleri değişiklik göstermekte ve bu durumun sağlık veya hastalık ile ilişkilendirilmesi önem arz etmektedir. Geçmişteki ve günümüzdeki çalışmalar daha çok insanlar üzerinde yoğunlaşmıştır. Bugün koenzim Q10 klinik kullanıma geçen ajanlar arasında yer almaktadır (94,95)

Hücre kültürü modellerinde yapılan çalışmada lipofilik antioksidan olan Koenzim Q'nun, Alzheimer hastalığında görülen amiloid peptid oluşumunu, nekroz ve apoptozisi geciktirdiği ve hücrelerin proliferasyon yeteneğinin yenilendiği tespit edilmiştir (96).

Hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda Koenzim Q10'un, artan oksidatif strese etkili olduğu düşünüldüğü, kas zayıflığı, atrofi ve spastisite ile karakterize amyotrofik lateral sklerozun (ALS) tedavisinde etkili olabileceği görülmüştür (97).

Huntington hastalığı (HD) psikiyatrik belirtiler, hareket bozuklukları ve ilerleyici demans ile karakterize kalıtsal nörodejeneratif bir bozukluktur. Hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda Koenzim Q10 uygulamalarının bu hastalıkta görülen beyin lezyon büyüklüğünü azalttığı belirlenmiştir (98).

Parkinson hastalığı (PD) titremeler, muskuler sertlik ve yavaş hareketler ile karakterize nörodejeneratif bir hastalıktır. Parkinson hastalarında gerçekleştirilen Koenzim Q10 uygulamalarından sonra bilişsel işlevlerin azalmasında gecikme ve nörokoruyucu etki görülmüştür (99).

Kalp, karaciğer ile birlikte yüksek konsantrasyonda Koenzim Q içeren bir organdır. Oksidatif stres, kardiyovasküler hastalıkların patofizyolojisinde önemli rol oynar. İskemik kalp hastalığı ve düşük plazma koenzim Q10 düzeyleri arasında ilişki bulunmaktadır (100). İnsanlar ve hayvanlarda kalp yetmezliği ile hipertansiyon hastalarının tedavi sürecinde tek başına veya terapötik ilaçlar ile birlikte koenzim Q10 takviyesi yapılmasının yararlı etkileri olduğu görülmüştür (100,101). Pulmoner arteriyel hipertansiyonlu (PAH) hastalarda koenzim

Q uygulamasının mitokondriyal fonksiyonu geliştirerek hastalık sürecine olumlu etki edeceği ileri sürülmüştür (96). Aterosklerotik kardiyovasküler hastalığı, kronik hemodiyaliz hastalarında mortalitenin önemli bir nedenidir. Plazma koenzim Q10 seviyelerindeki anormal değişimlerin, hemodiyaliz hastalarında endotelial disfonksiyonun gelişimine olanak sağlayabileceği ve subklinik kardiyovasküler risk değerlendirilmesinde belirteç olarak kullanılabilmesi belirtilmiştir (102).

Hepatosellüler karsinoma, günümüzde en çok karşılaşılan kanser tiplerinden biridir ve vücutta şekillenen reaktif oksijen ve azot türleri ile mücadelede vücut tarafından üretilen antioksidanlar yeterli olamamaktadır. Ratlarda yapılan bir çalışmada deneysel olarak hepatosellüler karsinoma oluşturularak koenzim Q10 uygulaması yapılmış ve serum oksidatif parametrelerinin ve karaciğerin histopatolojik olarak değerlendirilmesi sonucunda, koenzim Q10 uygulamasının hepatosellüler karsinoma üzerine önemli terapötik etkisi olduğu tespit edilmiştir (103). Meme, akciğer ve pankreas kanseri bulunan hastalarda plazma koenzim Q10 düzeylerinin anormal derecede düşük olduğu bulunmuştur. Melanomalı hastalarda plazma koenzim Q10 düzeylerinin metastazın önceden belirlenmesinde kullanılabilmesi ve melanomanın ilerleme riskini tahminde güçlü bir prognostik faktör olduğu belirtilmiştir (104).

Akut hepatik hasar oluşturulan ratlarda lipid peroksidasyonunun arttığı, serum aspartat amino transferaz (AST) ve katalaz aktivitesi ile TNF-alfa (tümör nekroz faktör) ve NADH oksidaz (NOX) değerlerinin düştüğü tespit edilmiştir. Koenzim Q10 uygulamasının akut hepatotoksisite üzerine koruyucu etkisi olduğu ve karaciğerlerin histokimyasal incelenmesinde iyileşme gözlemlendiği bildirilmiştir (105).

Canlıların hayatsal ve biyokimyasal fonksiyonlarını sürdürebilmesi için, oksidanlar ve antioksidanlar arasında sürekli olarak kontrol edilmesi gereken bir denge söz konusudur. Bu dengenin oksidanlar lehine bozulması, oksidatif hasara sebep olmaktadır (106). Oksidatif stresin İBH patogenezi üzerinde etkin rolü olduğu aydınlatılmıştır (107). İBH hastalarında olan oksidatif strese bağlı hasar yalnızca bağırsak mukozası ile sınırlı kalmayıp, aynı zamanda periferik kan lökositlerini de etkilemektedir (108,109). Aktive nötrofillerin dolaşımdan ayrılarak akut inflamasyonda bağırsağın mukoza ve submukozasına girer, bağırsağın hasarlanmasına katkıda bulunabilen lipid mediatörleri, laktoferrin proteazlar, reaktif oksijen ve nitrojen türevlerinin aşırı üretimine neden olur (110). Bu oksidan moleküllerinin aşırı üretilmesi sonucunda hücre içerisinde antioksidanlar oksidan molekülleri yeterince yok edemez ve 'oksidatif stres' adı verilen durum ortaya çıkar ve kontrolsüz lipid peroksidasyonuna neden olur. Poliansatüre yağ asitlerinin oksidasyonu, MDA gibi aldehidleri de içeren kompleks karışımların oluşmasıyla ilişkilidir. MDA, sıklıkla lipid peroksit

seviyesinin ölçümünde kullanılır. Oksidanlar içinde en çok bilinen aldehit, MDA olup, bir dokuda düzeyinin artması lipid peroksidasyon seviyesini yansıtmaktadır ve hasarlı dokunun bir belirteci olarak göz önüne alınmaktadır. Kurutaş ve arkadaşlarının çalışmalarında ise asetik asit ile oluşturulmuş kolit modelinde NAC'nin uygulanmasının organizmayı lipid peroksidasyonunu zararlı etkilerinden koruduklarını saptamışlardır (111). Kaya ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise, lavman şeklinde verilen glutaminin, kolitin yaptığı morfolojik hasarın ciddiyetini azalttığı, kolon mukozasında lipid peroksidasyonunu düzelttiği ve mukozal absorpsiyon kapasitesine hasar vermediği saptanmıştır (112). Ratlar üzerinde yapılan diğer bir çalışmada ise, kolit oluşturulan grubun, sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli düzeyde artmış total oksidan seviyesi olduğu ortaya konmuştur (106). Yine kolit modeli oluşturulan ratlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada, kolit grubunun, sağlam kontrol grubuna kıyasla daha yüksek MDA düzeyine sahip olduğu, ancak aradaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirtilmiştir (113). Yapmış olduğumuz çalışmada da, MDA seviyelerine bakıldığında, kolit grubunda MDA seviyeleri, kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olarak daha yüksek saptandı. Koenzim Q10 verilen grupta, MDA seviyesi, kolit grubuna göre, düşüş olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi. Asetik asit ile oluşturulan kolit modelinde MDA düzeyinin kontrol değerlerine ulaşması için Koenzim Q10 tedavisinin doz ya da sürenin artırılması ile mümkün olabileceği düşünülmektedir.

Asetik asit, deneysel kolit modeli oluşturmak için kullanılan anlamlı ajanlar arasındadır. Asetik asitin kolit patogenezinde, reaktif oksijen türlerinin artışına neden olması ve bu oluşan oksijen radikallerinin antioksidan düzeyinin azaltması görev alabilir (114,115). Reaktifoksijen radikalleri; DNA, lipid, protein, karbonhidrat gibi biyolojik moleküllerin hasarına neden olan bir dizi zincir reaksiyonunu aktifler ve böylece biyomoleküller, dokularda fizyolojik fonksiyonlarını yitirebilirler (115). Sonuç olarak, hücrelerde geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz hasar oluşabilir. Serbest radikallerin yapabileceği bu hücresel hasar; karaciğer (116), beyin (117), kolon (118) ve derinin (118) çeşitli hastalıklarının patofizyolojisinde rol alabilir. Verilen antioksidan tedavi ile kalın barsaktaki bu oksidan denge bozukluğunun kontrol edilmesinin mümkün olduğu görülmüştür. Daha önce yapılan çalışmalarda; deneysel kolit modelinde vitamin E, selenyum ve trimetazidin gibi antioksidanların yararlı etkileri gösterilmiştir (119,120). Yakın zamanda yapılan benzer çalışmalarda da, antioksidan özellikteki L glutamin, melatonin, askorbik asit ve NAC'ın kolit tablosundaki oksidatif stresi azalttığı saptanmıştır (121,122).

SOD, superoksit anyon radikalinin dismutasyonunu katalizleyen enzim sınıfındadır ve oksiradikallere karşı primer koruyucu rolü üstlenir. SOD hücredeki başlıca reaktif oksijen türlerinden süperoksit için önemli bir antioksidandır. Aynı zamanda SOD, endojen olarak oluşturulan süperoksit radikallerinin toksik etkilerinden hücreleri koruyan bir grup metalloenzimdir. Bu nedenle yapılan çalışmalar daha çok SOD aktiviteleri ile alakalıdır. Bizim çalışmamızda kolit grubunda kontrole kıyasla SOD aktivitesinde belirgin bir azalmanın olması; kolit hasarının hücre içinde süperoksit anyon radikallerini arttırdığı ve SOD enziminin inhibisyonuna neden olduğunu düşündürmektedir. Buna ek olarak, çalışmamızda kolit hasarına karşı koenzim Q10 tedavisi verilen grupta SOD enzim aktivitesinin arttığı gözlenmiştir. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Koenzim Q10'nun doz ya da süresini artırarak kolitli barsak hücresi içinde süperoksit anyon radikalinin düzeyini azaltarak SOD aktivitesini arttıracığı düşünülmektedir.

CAT esas olarak peroksidazlarda daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunmaktadır. Yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Karaciğer ve eritrositlerde en yüksek affiniteye sahiptir. Başlıca etkisi H_2O_2 'yi su ve moleküler oksijene parçalamaktadır. SOD aracılığıyla oluşmuş H_2O_2 bir radikal olmamasına karşın en reaktif SOR (serbest oksijen radikali) olan OH- radikalinin öncüsüdür. Bu sebeple birçok SOR'dan daha fazla oksidatif hasara yol açar. Çalışmamızda kolit modeli ve tedavi grubunda CAT aktivitesinde, kontrol grubuna göre önemli azalma görülürken, koenzim Q10 tedavisi ile bu önem arz eden düşüş azalma eğilimi göstermiştir (123). Kolit grubunda hücre içerisinde yüksek oranda üretilen H_2O_2 'in CAT'ın aktivitesini azalttığı düşünülmektedir. Dolayısıyla SOD ve CAT'ın kombine etkisi göze çarpmaktadır. Tedavi grubunda koenzim Q10 tedavisinin koruyucu etkisi ile CAT aktivitesinin arttığı düşünülmektedir. Bu sonuç koenzim Q10 tedavisi ile antiinflamatuvar CAT düzeylerinin arttığını düşündürmektedir. Üstelik kolit grubu ile tedavi grubu kıyaslandığında anlamlı bir fark saptanmıştır. Tedavi grubunda CAT aktivitesinin artışı koenzim Q10'nun antioksidan aktiviteye sahip olduğu göstermektedir.

GSH en önemli hücre içi antioksidandır. Çalışmamızda kolit grubunda GSH düzeyi kontrol grubuna göre azalmıştır. Sido ve ark. (124) Crohn hastalarında kolonik mukozada total GSH düzeyi ve GSH sentezinde yer alan enzim aktivitelerinde düşüş olduğunu, bu düşüşün asıl sebebinin inflame bölgede daha bariz olduğunu ortaya koymuşlardır. Bizim çalışmamızda da kolit grubunda GSH düzeyinin azalması yukardaki çalışmaları destekler niteliktedir.

NO inflame kolondaki düz kas hücrelerinde ve makrofajlarda bulunur (125). Mukozal inflamasyon salınan inflamatuvar medyatörler aracılığıyla uyarılabilir. Nitrik oksit sentezi

uyararak NO salınımını artırır ve kolonik dilatasyona sebep olur. Ülseratif kolitli hastaların kolonik mukozalarındaki benzer şekilde kolitli hayvan modellerinde indüklenabilir nitrik oksit sentetaz (iNOS) ekspresyonunda artış tespit edilmiştir (126). Cao ve arkadaşlarının in vitro çalışmasında ülseratif kolitli hastaların mukozal hücrelerinin kontrol gruplarına göre ciddi oranda daha fazla H₂O₂, IL-1 β ve NO salgıladıkları gösterilmiştir (127). Akgün ve ark. (125), doku NO düzeylerinin 2 gün süreli NAC (20 mg/kg/gün) uygulaması ile artarken, 7 günlük uzun dönem NAC (100 mg/kg/gün) kullanımı ile azaldığını ortaya koymuşlardır. Ebrahimi ve ark. (128) 4 gün süreyle uygulanan 160 mg/kg/gün ve 240 mg/kg/gün NAC dozlarının doku NO seviyesini düşüğünü ortaya koymuşlardır. Çalışmamızda kolit grubunda kontrole kıyasla NO düzeyinde artış saptanmıştır. NO üretimindeki artışın, spesifik olarak bir hastalığı göstermemesine rağmen inflamatuvar sitokinlerin ve diğer medyatörlerin açığa çıktığı ve immün olarak aktif bir dönemin göstergesi olabilir. Ayrıca asetik asit ile oluşturulan deneysel kolit modelinde koenzim Q10 ile bu hastalığın tedavisi için umut verici gelişme olarak görülebilir.

Kolit, inflamasyon gibi birçok patolojik olayda hücre içi kalsiyum konsantrasyonu artarak NO ve süperoksitin simultane olarak salıverilmesine yol açar. Makrofajlar ve nötrofiller stimüle edildiklerinde NO ve süperoksiti salıvererek peroksinitrit oluşumuna neden olabildikleri gibi, NO ve süperoksit farklı hücrelerden salıverilip peroksinitrit oluşturabilirler. Peroksinitrit proteinlerdeki veya serbest halde ki tirozinin fenolik halkasına nitro grubu ekleyerek 3-NT oluşturur. Bu reaksiyon spontan olarak oluşabileceği gibi, geçiş metalleri, SOD, CO₂ ve myeloperoksidaz tarafından katalize edilir (129). Nitrit oksit ve hipokloröz asit reaksiyon ürünleri gibi ajanların peroksinitritten bağımsız olarak 3-NT oluşturabildiklerinin bildirilmesine karşın, biyolojik sistemlerde oluşan 3-NT'in yaygın olarak oluşabilen peroksinitrit'den dolayı olması ve peroksinitrit oluşumunu yansıtmaması daha olasıdır (130). Hem NO'nun hem de süperoksitin konsantrasyonunun arttığı ve/veya özellikle SOD aktivitesinin düşük olduğu kolit gibi patolojik olaylarda peroksinitrit oluşumu belirgin olarak artar (130). Aylin ve ark. (131), asetik asit ile oluşturulan deneysel kolit modelinde kolit grubu ile NAC-1 ve NAC-2 tedavi grubunun 3-NT düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığını saptamışlardır. Çalışmamızda kolit'de 3-NT düzeylerinin artması, kolit hasarında peroksinitritin oluştuğunu göstermektedir.

Tez çalışmamızda kolit grubundaki ratların hepsinde makroskobik hasar gözlemlendi. Ayrıca mikroskobik hasarlanma bulguları olan epitelyal hücre kaybı, kript absesi ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu oluşmayan denek yoktu. Bulgularımız kolit modelinin başarıyla gerçekleştiğini göstermektedir. Koenzim Q10 tedavi gruplarındaki ratların

makroskobik hasar bulguları sunucu ile Koenzim Q10, tedavi grubunda hasar derecesini azalttığı, ancak tamamen düzelme gözlenmediği, mikroskobik bulgularımızın sonucunda ise tedavi grubuna uygulanan 10 mg/kg doz Koenzim Q10 'un etkisinin hafif derecede olduğunu gösterdi.

Sonuç olarak literatürde İBH hastalarının bağışıklık hücreleri, oksidan ve antioksidan sistemlerinin detaylı bir şekilde değerlendirilmediği, bu mekanizmaların henüz net olarak çözümlenmediği ve daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğu ortaya konulmuştur .



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Deneyssel olarak % 4'lük asetik asit ile oluşturulan kolit modelinde araştırılan koenzim Q10'nun etkileri incelenmiş ve aşağıdaki sonuçlar ortaya konmuştur:

1. % 4'lük asetik asit ile deneyssel olarak anlamlı şekilde kolit oluşumu sağlanmıştır.
2. Histopatolojik incelemede kolit grubunda belirgin epitelyal ülserasyon, kript abseleri, monosit ve nötrofil düzeylerinde belirgin artış gözlenirken tedavi grubunda bu bulguların daha hafif düzeyde olduğu gözlemlendi.
3. Kolit grubunda kontrol ve tedavi gruplarına göre MDA, NO, 3-NT düzeyleri artarken CAT, SOD ve GSH düzeyleri anlamlı olarak azalmıştır ($p<0.05$).

Sonuç olarak, deneyssel kolit modelinde, oluşan serbest oksijen ve nitrojen radikallerinin etkisini önlemek amacıyla verilen koenzim Q10'nun olumlu etkileri olduğu, histopatolojik ve biyokimyasal olarak düzelme sağladığı gözlemlendi.

7. KAYNAKLAR

1. Goldman L. Cecil Textbook of Medicine, 22 ed. İstanbul, Güneş Kitabevi, 2006, s 861.
2. Loftus EV Jr. Clinical Epidemiology of inf bowel disincidence, prevalance and enviromental influences. Gastroenterology 2004; 126:1504-1517
3. Morita N, Toki S, Hirohashi T, Minoda T, Ogawa K, Kono S. İncidence andprevalance of ulcerative colitis in Japan. J Gastroenterol; 1995; 30:1-4
4. Lee YM, Fock K, See SJ, Ng TM, Khor C, Teo EK. Racial differences inthe prevalance of ulcerative colitis and Crohns disease in Singapore. JGastroenterol Hepatol. 2000;15:622-25
5. Barnett M, Fraser A. Animal Models of Colitis: Lessons Learned, and Their Relevance to the Clinic. Ulcerative Colitis Treatments, Special Populations and the Future (O'Connor M, ed) First edition. New Zealand, Intech. 161-180, 2011.
6. Elson CO, Sartor RB, Tennyson GS et al. Experimental models of inflammatory bowel disease. Gastroenterology 109: 1344-1367, 1995.
7. Kaymakoğlu S. İnflamatuvar Barsak Hastalıkları. Gastroenterohepatoloji, Nobel Tıp Kitabevi; İstanbul, 2001, s 189-211.
8. Boztaş G. İnflamatuvar Barsak Hastalıkları; Klinik, Tanı, Tıbbi Ve Cerrahi Tedavi Endikasyonları, İçinde: Kolon Rektum Ve Anal Bölge Hastalıkları, Eds: Alemderoğlu K, Akçal T, Buğra D, Türk Kolon Ve Rektum Cerrahisi Derneği, Tasarım Ofset, İstanbul, 2003, s 577-588.
9. [http://www.nettedavi.com/SayfaDetay/Inflamatuvar İltihabi-bagirsak-hastaliklari-IBH/160/](http://www.nettedavi.com/SayfaDetay/Inflamatuvar%20iltihabi-bagirsak-hastaliklari-IBH/160/)
10. Hanauer SB. Inflammatory Bowel Disease: epidemiology, pathogenesis and therapeutic opportunities. Inflammatory Bowel Diseases2006;12 Suppl 1:S3-9.
11. Podolsky, D.K., Inflammatory bowel disease. N Engl J Med, 2002. 347(6): p. 417-29.
12. Sutherland L, Singleton J, Sessions J, et al. Double blind, placebo controlled trial of metronidazole in Crohn's disease. Gut1991; 32:1071-1075.
13. Rutgeerts P. Medical therapy of inflammatory bowel disease. Digestion1998; 59: 453-69.
14. Tysk, C., et al., Colonic glycoproteins in monozygotic twins with inflammatory bowel disease. Gastroenterology, 1991. 100(2): p. 419-23.
15. Greenstein, A.J., et al., Outcome of toxic dilatation in ulcerative and Crohn'scolitis. J Clin Gastroenterol, 1985. 7(2): p. 137-43.
16. Keighley, M.,Acute fulminating colitis and emergency colectomy. Surgery of the anus, rectum and colon., ed. W.N. Keighley MRB. 1993, London. 1379-97.

17. Ekblom, A., et al., Ulcerative colitis and colorectal cancer. A population-based study. *N Engl J Med*, 1990. 323(18): p. 1228-33.62.
18. Loftus EV Jr, Schoenfeld P, Sandborn WJ. The epidemiology and natural history of Crohn's disease in population based cohorts from North America; a systematic review. *Gastroenterology*. 2004 May;126 (6):1504-17.
19. 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.
20. <http://oncofertility.northwestern.edu/resources/inflammatory-bowel-disease-ibd>
21. Sartor RB. Pathogenesis and immune mechanism of chronic inflammatory bowel diseases. *Am J Gastroenterol*. 1997;92:5-11
22. <https://www.slideserve.com/vadin/lt-hab-barsak-hastalıkları>
23. 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.
24. Ardizzone S, Bianchi Porro G. Biologic therapy for inflammatory bowel disease. *Drugs*. 2005;65:2253-2286.
25. Sands BE. Therapy of Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology*. 2000;118:68-82.
26. <http://slideplayer.biz.tr/slide/2781333/>
27. Cello JP, Schneiderman DJ. Ulcerative Colitis. In: *Gastrointestinal Disease; Pathophysiology, Diagnosis, Management*. Seleisenger MH, Fordtran JS, 4th ed, W.B. Saunders Company Philadelphia, (1989); p.1435-1473.
28. Freidman S, Blumerg RS. Inflammatory Bowel Disease. In: *Harrison's Principles of Internal Medicine*. Eds: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, 15th ed, Mc Graw-Hill, New York, (2001).p.1679-1692.
29. Lukas M, Bortlik M, Maratka Z. What is the origin of ulcerative colitis? Still more questions than answers. *Postgrad Med J*, (2006).82(972):620-5. Review
30. Aytekin H. Ratlarda Asetik Asit'in İndüklediği Kolit Üzerine Alfa-Tokoferolün Etkisi. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Uzmanlık Tezi, İstanbul (2001).
31. Uzunismail H. İnflamatuar Barsak Hastalığı İBH. İçinde: İç Hastalıkları. Eds: Yazıcı H, Hamuryudan V, Sonsuz A, İstanbul Medical Yayıncılık, İstanbul, (2005).s.819-827.
32. Kozuch PL, Hanauer SB. Treatment of inflammatory bowel disease: a review of medical therapy. *World J Gastroenterol*, (Review) (2008) 14(3):354-77.

33. Bozbaş A. İnflamatuvar Barsak Hastalıklarının Aktivitesinde Eozinofil'in Rolü. M.Ü. Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji Bilim Dalı, Uzmanlık Tezi, İstanbul, (2004).
34. Kayhan B. Ülseratif Kolit. İçinde: Gastroenteroloji. Eds: Telatar H, Şimşek H, Medicamet Basım Yayım, Ankara,(1993). Cilt 1, s.349-466.
35. Carpenter CCJ, Griggs RC, Loscalzo J. (Eds), Cecil Essentials of Medicine. Cecil Essentials of Medicine Türkçesi 5th ed, Çeviri Editörü: Çavuşoğlu H, Yüce Reklam Yayım Dağıtım A.ş. ve Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti., İstanbul,(2002).s.345-350.
36. Bailón E, Camuesco D, Nieto A, Concha A, Fernández de Arriba A, Román J, Ramis I, Merlos M, Zarzuelo A, Gálvez J, Comalada M. The intestinal anti-inflammatory effects of the novel agent UR-1505 in the TNBS model of rat colitis are mediated by T-lymphocyte inhibition. *Biochem Pharmacol*,(2007). 74(10):1496-506.
37. Neuman MG. Signaling for inflammation and repair in inflammatory bowel disease. *Rom J Gastroenterol*,(2004). (Review) 13(4):309-16.
38. Oktar BK, Alican İ. İnflamatuvar barsak hastalıklarının etyopatogenezinde olası mekanizmalar ve mediyatörler. *Türkiye Tıp Dergisi*,(2000). 7(3):155-161.Derleme.
39. Şenel N. Ratların Periodontal Dokularında Radyoterapi ile Oluşan Serbest Radikal ve Siyalik Asit Düzeylerinin Belirlenmesi ile Bioflavonoid ve Polifenollerin (ENOANT) Koruyucu Etkisinin Araştırılması. İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul, (2005).
40. Boztaş G. İnflamatuvar Barsak Hastalıkları; Klinik, Tanı, Tıbbi Ve Cerrahi Tedavi İndikasyonları. İçinde: Kolon Rektum Ve Anal Bölge Hastalıkları. Eds: Alemderoğlu K, Akçal T, Buğra D, Türk Kolon Ve Rektum Cerrahisi Derneği, Tasarım Ofset, İstanbul,(2003); s.577-588.
41. Freidman SL, McQuid KR, Grendel JH. (Eds), Current. Gastroenteroloji Tanı ve Tedavi, Çeviri Editörleri: Sivri B, Gönen Ö, Güneş Kitapevi, İstanbul,(2007). s.121-129.
42. Oktay E. İnflamatuvar Barsak Hastalıkları: Etyopatogenez, Semptomatoloji, Tanı Ve Komplikasyonlar. İçinde: Gastrointestinal Sistem Hastalıkları. Eds: Göksoy E, UzunismailH, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi No:23,İstanbul,(2001).s.199-234.
43. Şerbetçioğlu A. Deneysel Kolitite G glutamin Kortikosteroid Ve Melatoninin Terapötik Etkilerinin Karşılaştırılması. M.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul (2004).
44. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X2015000200096

45. İşman ÇA. Deneysel Hipotroidizimin Ratda Trinitrobenzen Sulfonoik Asit (TNBS) İle Oluşturulan Kolit Modelinde Hasar Parametrelerinin Etkisi. M.Ü. Tıp Fakültesi, Fizyoloji Ana Bilim Dalı, Uzmanlık Tezi, İstanbul,(2002).
46. Zheng L, Gao ZQ, Wang SX. A chronic ulcerative colitis model in rats. World J Gastroenterol,(2000);6(1):150-152.
47. Yavuz Y. Deneysel Kolit Modelinde Antioksidan Tedavinin Yeri. M.Ü. Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı, Uzmanlık Tezi, İstanbul. (1997).
48. Yılmaz F. Deneysel Kolitte Metilen Mavisini, Mesalazin Ve Mizoprostolün Protektif Etkileri Gülhane Askeri Tıp Akademisi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Ankara (2000).
49. Yılmaz OC. Deneysel Kolit Modelinde Etil Pirüvat Uygulamasının Sonuçları. Sağlık Bakanlığı Ankara Numune Eğitim Ve Araştırma Hastanesi 2. Genel Cerrahi Kliniği,Uzmanlık Tezi, Ankara, (2006).
50. DeLa Cruz JP, Seden G, Carmona JA, Sanchez DeLa Cuesta F. In vitro effects of propofol on tissular oxidative stress in the rat.A Analg. 1998;87:1141-6.
51. Engelhard K, Werner C, Reeker W, Lu H, Mielke L, Kochs E. Desflurane and isoflurane improve neurological outcome after incomplete global ischemia in rats. British Journal of Anaesthesia1999,83: 415-421.
52. Zhang Y, Micheal G, Irwin M, Tak MW. Remifentanil preconditioning protects against ischemic injury in the intact rat heart. Anaesthesiology 2000;101:918-23.
53. Johnson MH, Lee SH. Computed tomography of acute cerebral trauma. RCNA 1992; 30: 325- 352.
54. Young Y, Menon DK, Tisavipat N, Matta BF, Jones JG. Propofol neuroprotection in a rat model of ischemia reperfusion injury. Eur J Anaesthesiology1997;14:320-326
55. Benedek A, Moricz K, Juranyi Z, Gigler G, Levay G, Harsing LG et al. Use of TTC staining for the evaluation of tissue injury in the early phases of reperfusion after focal cerebral ischemia in rats. Brain Research 2006;1116:159-165.
56. Okada Y, Copeland BR, Fitridge R. Fibrin contributes to microvascular obstructions and parenchymal changes during early focal cerebral ischemia and reperfusion. Stroke1994; 25(9): 1847- 1854
57. Neblina FL, Toledo AH, Pereyña LHT. Molecular biology of apoptosis in ischemia reperfusion.Journal of Investigative Surgery 2005;18:335-350.

58. Kukreja R, Hess ML: The oxygen free radical system: from equations through membrane-protein interactions to cardiovascular injury and protection. *Cardiovasc Res* 1992; 26:641-55.
59. Zhang Y, CHEN Z, Girwin M, Wong T. Remifentanyl mimics cardioprotective effects of ischemic preconditioning via protein kinase c activation in open chest of rats. *Acta Pharmacology* 2005;200:446-500.
60. Noel AA, Hobson RW, Duran WN. Platelet- Activating Factor and Nitric Oxide mediate microvascular permeability in ischemia-reperfusion injury. *Microvascular Research* 1996, 52;
61. Sugawara T, Fujimura M, Noshita N, Whan G, Saito A, Hayashi T, et al. Neuronal death/survival signaling pathways in cerebral ischemia. *The American Society for Experimental NeuroTherapeutics* 2004; 1: 17-25.
62. Xiong Li-ze. Neuroanesthesia and neuroprotection: where are we now? *Chinese Medical Journal* 2006; 119(11):883-886.
63. Murell GA, Francis MJ and Bromley L, Modulation of fibroblast proliferation by oxygen free radicals, *Biochem J*.1990, 265(3): 659 -665
64. Day INM, Thopson RJ. Levels of immunoreactive aldolase C, creatine kinase-BB, neuronal and nonneuronal enolase and 14-3-2 protein in circulating human blood cells. *Clin Chem Acta* 1984; 136: 219-228
65. Sun Z, Wang X, Deng X, Lasson A, Soltesz V, Borjesson A et al. Beneficial effects of lexipafant, a PAF antagonist on gut barrier dysfunction caused by intestinal ischemia and reperfusion in rats. *Dig Surg* 2000. 17;1: 57-65 (Abstract).
66. Hoffmann WE, Thomas C, Albrecht RF. The effect of halotane and isoflurane on neurological outcome following incomplete cerebral ischemia in the rat. *Anesth, Analg.* 1993;76(2):279-83.
67. Donald S, Marangos P J, Athanasios PZ, Brightman M. Goodwin F K. Brain enolases as specific markers of neuronal and glial cells. *Science*,1978;199:313-314.
68. Guzel A, Er U, Tatli M, Aluçlu U, Özkan Ü, Düzenli Y et al. Serum neuron-specific enolase as a predictor of short-term outcome and its correlation with Glasgow Coma Scale in traumatic brain injury. *Neurosurg Rev.* 2008; 31: 439-445.
69. Sanders R, Daqing MA, Maze M. Anaesthesia induced neuroprotection. *Best Practice and Research C Anaesthesiology* 2005;1:461-47.
70. Kristin E, Werner C, Eberspacher E, Pape M, Stegemen U, Kellermann K et al. Influence of propofol on neuronal damage and apoptotic factors after incomplete cerebral ischemia and reperfusion in rats. *Anesthesiology* 2004;101:912-7.

71. Nakazwa H, Genka C, Fujyshima M, Pathological aspects of active oxygens/free radicals, *Jpn J Physiol.*1996, 46(1): 15 -32
72. Nauta RJ, Tsimoyiannis E. The role of calcium channel entry blockers in experimental ischemia-reperfusion-induced liver injury, *Ann. Surg.*1991; 213(2): 137 -142)
73. DeGracia DJ, Kumar R, Owen C, Krause G, White BC. Molecular pathways of protein synthesis inhibition during brain reperfusion.*Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 2002;22:127-141.
74. Jianping S. Ischemia, reperfusion and no-reflow phenomenon. Svenson LG, Crawford ES; *Cardiovascular and Vascular Disease of the Aorta*, Philadelphia. WB Saunders Company 1997.
75. Daqing Ma, Hossain M, Rajakumaraswamy N, Franks NP, Maze M. Combination of xenon and isoflurane produces a synergistic protective effect against oxygen-glucose deprivation injury in a neuronal-glial co-culture model. *Anesthesiology* 2003;99:748-51.
76. Ventura C, Spurgeon H, Lakatta EG, Guarnieri C, Capogrossi MC. Kappa and delta opioid receptor stimulation affects cardiac myocyte function and Ca release from an intracellular pool in myocytes and neurons. *Circ. Res.* 1992;70:66-81.
77. Marangos PJ, Champbell IC, Godvin FK. Structural and functional properties of neuron specific protein (NSP) from rat, cat and human brain. *J Neurochem* 1977; 28:1097-1107.
78. Rodys J A, Taylor CB, Timperley W R. Enolase isoenzymes as diagnostic markers. *Neuropathol Appl Neurobiol*,1984; 11:1-6.
79. Cruz J.P, Zanca A, Carmona J.A, Cuesta F. The effect of propofol on oxidative stress in platelets from surgical patients.*Anesth.Analg.* 1999;89:1050-5.
80. Coselli JS, Büket S, Djukanovic B. Aortic Arch Operation: Current Treatment and Results. *Ann Thorac Surg* 1995; 59:19-27.
81. Wong TM, Lee AY, Tai KK. Effects of drugs interacting with opioid receptors during normal perfusion or ischemia and reperfusion in the isolated rat heart: An attempt to identify cardiac opioid receptor subtype(s) involved in arrhythmogenesis *J Mol Cell Cardiol.*1990; 22:1167-75.
82. Nohl, H., Andrey, V.K., Stainek, K., Gille, L. The Multiple Functions of Coenzyme Q, *Bioorganic Chemistry*, (2001) 29(1): 1-13.
83. Kawamukai, M. (2002). Biosynthesis, Bioproduction and Novel Roles of Ubiquinone *J Biosci & Bioeng*; 94(6): 511-517.
84. Crane, F.L.The Coenzyme Q Group (Ubiquinones), *Progress in the Chemistry of Fats and other Lipids*; (1964) 7(2):267-289.

85. Turunen, M., Olsson, J., Dallner, G. (2004). Metabolism and function of coenzyme Q, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*; 1660(1-2):171-199.
86. Crane, F.L., (2001). Biochemical Functions of Coenzyme Q10, *Journal of the American College of Nutrition*; 20(6): 591–598.
87. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-75.
88. Ohkawa H, Ohishi N, Tagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95: 351–358.
89. Fridovich I. Superoxide dismutase. *Adv Enzymol* 1974;41:35–97.
90. Beutler E . Red Cell Metabolism. A Manual of Biochemical Methods . 2nd ed. New York : Grune and Stratton Inc ; 1984 : 68 – 70.
91. Cortas NK, Wakid NW. Determination inorganic nitrate in serum and urine by kinetic cadmium-reduction method. *ClinChem* 1990; 36: 1440-1443.
92. Campos, F.G., et al., [Technical and histological standardization of experimental colitis with trinitrobenzenosulfonic acid (TNBS)]. *Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo*, 1997. 52(4): p. 180-6.
93. Yamamoto, M., et al., IL-6 is required for the development of Th1 cell-mediated murine colitis. *J Immunol*, 2000. 164(9): p. 4878-82.
94. Aslan E. Sıçan *grasilis* kas fleplerinde iskemi reperfüzyon hasarının önlenmesinde sistemik apokinin uygulamasının etkinliğinin araştırılması (Deneysel Çalışma). *Tıpta Uzmanlık Tezi*, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim dalı, 2014, Ankara
95. Wang WZ, Fang XH, Stephenson LL, Baynosa RC, Khiabani KT, Zamboni WA. Microcirculatory effects of melatonin in rat skeletal muscle after prolonged ischemia. *J Pineal Res* 2005, 39: 57-65.
96. Sharp J, Farha S, Park MM, Comhair SA, Lundgrin EL, Tang WH, Bongard RD, Merker MP, Erzurum SC, 2014. Coenzyme Q supplementation in pulmonary arterial hypertension. *Redox Biology*, 2, 884-891.
97. Galpern WR, Cudkowicz ME. 2007. Coenzyme Q treatment of neurodegenerative diseases of aging. *Mitochondrion*, Suppl 7, 146-153.

98. Kasparova S, Sumbalova Z, Bystricky P, Kucharska J, Liptaj T, Mlynarik V, Gvozdjakova A. 2006. Effect of coenzyme Q10 and vitamin E on brain energy metabolism in the animal model of Huntington's disease. *Neurochemistry International*, 48, 93-99.
99. Li Z, Wang P, Yu Z, Cong Y, Sun H, Zhang J, Zhang J, Sun C, Zhang Y, Ju X. 2015. The effect of creatine and coenzyme q10 combination therapy on mild cognitive impairment in Parkinson's disease. *European Neurology*, 73, 205-211.
100. McCarty MF., 1999. Coenzyme Q versus hypertension: does CoQ decrease endothelial superoxide generation? *Medical Hypotheses*, 53, 300-304.
101. Pepe S., Marasco SF., Haas SJ., Sheeran FL., Krum H., Rosenfeldt FL., 2007. Coenzyme Q10 in cardiovascular disease. *Mitochondrion*, 7S , 154- 167.
102. Macunluoglu B., Kaya Y., Atakan A., Ari E., Kaspar C., Demir H., Alp HH., Asicioglu E., Kedrah AE., 2013. Serum coenzyme Q10 levels are associated with coronary flow reserve in hemodialysis patients. *Hemodialysis International*, 17, 339- 345.
103. Fouad AA., Al-Mulhim AS., Jresat I., 2013. The rapеutic effect of coenzyme Q10 against experimentally-induced hepatocellular carcinoma in rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 35, 100-108.
104. Rusciani L., Proietti I., Rusciani A., Paradisi A., Sbordoni G., Alfano C., Panunzi S., De Gaetano A., Lippa S., 2006. Low plasma coenzyme Q10 levels as an independent prognostic factor for melanoma progression. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 54, 234-241.
105. Fouad AA., Jresat I., 2012. Hepatoprotective effect of coenzyme Q10 in rats with acetaminophen toxicity. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 33, 158-167.
106. Özgün E, Özgün G, Eskiocak S ve ark. Deneysel kolitte L-karnitinin serum paraoksonaz, arilesteraz ve laktonaz aktivitelerine ve oksidatif duruma etkisi. *Türk Biyokimya Dergisi* 38 (2): 145–153, 2013.
107. Iborra M, Moret I, Rausell F et al. Role of oxidative stress and antioxidant enzymes in Crohn's disease. *Biochem Soc Trans* 39(4): 1102-6, 2011.
108. Kruidenier L, Kuiper I, Van Duijn W et al. Imbalanced secondary mucosal antioxidant response in inflammatory bowel disease. *J Pathol* 201: 17–27, 2003.
109. Dódorico A. Reduced plasma antioxidant concentrations and increased oxidative DNA damage in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 36: 1289–1294, 2001.

110. Matsuda H, Fujiyama Y, Andoh A et al. Characterization of antibody responses against rectal mucosa-associated bacterial flora in patients with ulcerative colitis. *J Gastroenterol Hepatol*15: 61-8, 2000.
111. Kurutas EB, Cetinkaya A, Bulbuloglu E, Kantarceken B. Effects of antioxidant therapy on leukocyte myeloperoxidase and Cu/Zn-superoxide dismutase and plasma malondialdehyde levels in experimental colitis. *Mediators Inflamm.* 2005 Dec 14;2005(6):390-4.
112. Kaya E, Ceylan A, Kara N, Güven H, Yildiz L. The effect of L-glutamine on mucosal healing in experimental colitis is superior to short-chain fatty acids. *Turk J Gastroenterol.* 2007 Jun;18(2):89-94.
113. Yıldız G. Trinitrobenzen sülfonik asit (tnbs) ile oluşturulan deneysel kolit modelinde resveratrol'ün antioksidan metabolizmaya etkileri. Doktora tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Biyokimya Anabilim Dalı, 2013.
114. Bitiren M, Karakilcik AZ, Zerin M, Ozardali I, Selek S, Nazligül Y et al. Protective effects of selenium and vitamin E combination on experimental colitis in blood plasma and colon rats. *Biol Trace Elem Res.* 2012; 136(1):87-95
115. Pravda J. Radical induction theory of ulcerative colitis. *World J Gastroenterol.*2005; 11:2371-84
116. Gumral N, Naziroglu M, Koyu A, Ongel K, Celik O, Saygin M et al. Effects of selenium and L-carnitine on oxidative stress in blood of rat induced by 2.45-GHz radiation from wireless devices. *Biol Trace Elem Res.* 2009;132(1-3):153-63
117. Naziroglu M. Role of selenium on calcium signaling and oxidative stress-induced molecular pathways in epilepsy. *Neurochem Res.* 2009; 34(12):2181-91
118. Kökçam I, Naziroglu M. Effects of vitamin E supplementation on blood antioxidants levels in patients with Behcet's disease. *Clin Biochem.* 2002; 35(8):633-9
119. Kurulay F, Yıldız C, Ozutemiz O, Islekel H, Caliskan S, Bingol B et al. Effects of trimetazidine on acetic acid-induced colitis in female Swiss rats.
120. Ademoğlu E, Erbil YB, Tam B, Barbaros U, Ilhan E, Olgac V et al. Do vitamin E and selenium have beneficial effects on trinitrobenzenesulfonic acid-induced experimental colitis. *Dig Dis Sci.* 2004; 49:102-108
121. Choudhary S, Keshevarzian A. Novel antioxidants zolimid and AEOL 11201 ameliorate colitis in rats. *Dig Dis Sci.* 2001; 46
122. Cetinkaya A, Bulbuloglu E, Kurutas EB, Ciralik H, Kantarceken B, Buyukbese MA. Beneficial effects of N-Acetylcysteine on acetic-induced colitis in rats. *Tohoku J Exp Med.* 2005; 206(2):131-9.

123. Kuralay F, Yildiz C, Ozutemiz O, Islekel H, Caliskan S, Bingol B, Ozkal S. (2003). Effects of trimetazidine on acetic acid-induced colitis in female Swiss rats. *J Toxicol Environ Health A*, 66: 169-79.
124. Sido B, Hack V, Hochlehnert A, Lipps H, Herfarth C, Dröge W. Impairment of intestinal glutathione synthesis in patients with inflammatory bowel disease. *Gut*. 1998 Apr;42(4):485-92.
125. Sheth SG, LaMont JT. Toxic megacolon. *Lancet* 1998;351:509-13. 2007 Jun;18(2):89-94.
126. Lundberg S, Holst M, Hellstrom PM. Expression of iNOS mRNA associated with suppression of colonic contraction in rat colitis. *Acta Physiol* 2006;187:489-94.
127. Campos, F.G., et al., [Technical and histological standardization of experimental colitis with trinitrobenzenosulfonic acid (TNBS)]. *Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo*, 1997. 52(4): p. 180-6.
128. Ebrahimi F, Esmaily H, Baeri M, Mohammadirad A, Fallah S, Abdollahi M. Molecular evidences on the benefit of N-acetylcysteine in experimental colitis. *Cent Eur J Biol* 2008; 3: 135-42.
129. Sampson LE, Chaplin DJ. The influence of oxygen and carbon dioxide tension on the production of TNF alpha by activated macrophages. *Br J Cancer Suppl*. 1996 Jul;27:S133-5.
130. Royall JA, Kooy NW, Beckman JS. Nitric oxide-related oxidants in acute lung injury. *New Horiz*. 1995 Feb;3(1):113-22. Review.
131. Yılmaz A, Asetik Asit İle Kolit Geliştirilmiş Ratlarda N-Asetil Sisteinin Protein Oksidasyonu Üzerine Etkisi, 2009, Yüksek Lisans Tezi.

8. ŐEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

| | |
|--|----|
| Şekil 1. İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları..... | 2 |
| Şekil 2. İBH'in Epidemiyolojisi..... | 7 |
| Şekil 3. İBH'in Etyolojisi..... | 8 |
| Şekil 4. TH1 ve TH2 aracılı sitokin profilleri ve immun yanıtları..... | 9 |
| Şekil 5. İBH'in Patogenizi..... | 10 |
| Şekil 6. Kolit tedavisi..... | 15 |
| Şekil 7. GSH Redoks Döngüsü..... | 28 |
| Şekil 8. Koenzim Q10'un Yapısı..... | 31 |
| Şekil 9. Koenzim Q10 Biyosentezi..... | 32 |
| Şekil 10. Protein Std Eğrisi..... | 40 |
| Şekil 11. MDA Std Eğrisi..... | 42 |
| Şekil 12. SOD Std Eğrisi..... | 46 |

9. TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa No

| | |
|--|-----------|
| Tablo 1. Crohn Hastalığı Klinik Belirtileri..... | 4 |
| Tablo 2. Crohn Hastalığı EİS Tutulumu ve Görülme Sıklığı..... | 4 |
| Tablo 3. Ülseratif Kolit Hastalığının Klinik Belirtileri..... | 5 |
| Tablo 4. Ülseratif Kolit ‘de EİS Tutulumu | 6 |
| Tablo 5. Reaktif Oksijen Türleri..... | 18 |
| Tablo 6. Antioksidan Türleri..... | 24 |
| Tablo 7. Koenzim Q10’ Fonksiyonları..... | 32 |
| Tablo 8. Omurgalılarda Koenzim Q10 Çeşitleri..... | 34 |
| Tablo 9. Protein Std Eğri Çizimi İçin Tüplerin Hazırlanışı..... | 40 |
| Tablo 10. Dokuda örneğinde protein Tayini İçin Tüplerin Hazırlanışı..... | 41 |
| Tablo 11. MDA Std Eğrisi Çizimi İçin Tüplerin Hazırlanışı..... | 42 |
| Tablo 12. Dokuda MDA Düzeyinin Tayini İçin Tüplerin Hazırlanışı..... | 43 |
| Tablo 13. SOD Standart Eğri Çizimi İçin Tüplerin Hazırlanışı..... | 45 |
| Tablo 14. SOD Standart Eğri Çizimi İçin Kuvars Küvetlerin Hazırlanışı..... | 45 |
| Tablo 15. Dokuda SOD Aktivite Tayini İçin Kuvars Küvetlerin Hazırlanışı..... | 46 |
| Tablo 16. Dokuda CAT Aktivite Tayinin İçin Kuvars Küvetlerin Hazırlanışı..... | 50 |
| Tablo 17. Oksidatif ve Nitrozatif Stres Biyobelirteçlerinin Düzeyleri..... | 53 |
| Tablo 18. Makroskopik Morfoloji Skorlamaları..... | 57 |
| Tablo 19. Makroskopik Hasar Skorlama Sonuçları..... | 57 |
| Tablo 20. Mikroskopik Skorlama..... | 58 |
| Tablo 21. Mikroskopik Hasar Skorlama Sonuçları..... | 59 |

10. RESİMLER DİZİNİ

Sayfa No

| | |
|--|-----------|
| Resim 1. Deneysel Kolit İşlemi Sonrası Bağırsak Dokusu Alımı Hazırlığı..... | 36 |
| Resim 2. Deneysel Kolit İşlemi Sonrası Bağırsak Dokusu Alımı..... | 36 |
| Resim 3. Kolitte Histopatolojik Değişiklikler..... | 60 |
| Resim 4. Kontrol Grubuna Ait Histopatolojik Görüntü..... | 60 |
| Resim 5. Tedavi Grubuna Ait Histopatolojik Görüntü..... | 61 |

11. GRAFİKLER DİZİNİ

| | |
|--|-----------|
| Grafik 1. Gruplar Arası CAT Aktiviteleri..... | 54 |
| Grafik 2. Gruplar Arası SOD Aktiviteleri..... | 54 |
| Grafik 3. Gruplar Arası MDA Düzeyleri..... | 55 |
| Grafik 4. Gruplar Arası GSH Düzeyleri..... | 55 |
| Grafik 5. Gruplar Arası NO Düzeyleri..... | 56 |
| Grafik 6. Gruplar Arası 3-NT Düzeyleri..... | 56 |
| Grafik 7. Makroskopik Hasar Skorlama Grafiği..... | 58 |
| Grafik 8. Mikroskopik Hasar Skorlama Grafiği..... | 59 |

12.EKLER

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARAR FORMU

| | | | |
|---------------------------------|--|---|-------------------|
| BAŞVURU BİLGİLERİ | Araştırmanın Başlığı | Deneysel Kolit Modelinde Koenzim Q10'un Koruyucu Etkinliğinin K | |
| | Başvuru Tarihi | 28.06.2016 | |
| | Protokol No | 22 | |
| DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER | Belge Adı | Dili | |
| | Başvuru Formu | Türkçe | |
| KARAR BİLGİLERİ | Oturum No: 2016/07 | Karar No: 01 | Tarih: 12.07.2016 |
| | Prof. Dr. Ergül Belge KURUTAŞ'ın sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarı başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekece, an yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleşmesinde etik sakınca bulunmadı toplantıya katılan üyelerin oy birliği ile karar verilmiştir. | | |

| | |
|---|-------------------------|
| K.S.Ü. TIP FAKÜLTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU | |
| BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI | Prof. Dr. Ali ÇETİNKAYA |

| Unvanı/Adı/Soyadı | Uzmanlık Dalı | Kurumu | Araştırma ile ilişki (*) | Katılım (**) | İmza |
|--------------------------------------|--------------------------|--------------------|--|--|-----------|
| Prof. Dr. Ali ÇETİNKAYA Başkan | İç Hastalıkları | KSÜ Tıp Fakültesi | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | |
| Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN Üye | Tıbbi Biyokimya | KSÜ Tıp Fakültesi | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | |
| Doç. Dr. Mehmet BOŞNAK Üye | Fizyoloji | KSÜ Tıp Fakültesi | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | KATILMADI |
| Doç. Dr. Mehmet ŞAHİN Üye | Tıbbi Biyokimya | KSÜ Tıp Fakültesi | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | KATILMADI |
| Doç. Dr. İsmail ORHAN Üye | KBB | KSÜ Tıp Fakültesi | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | |
| Doç. Dr. Mehmet ACIPAYAM Üye | Kalp Damar Cerrahi | KSÜ Tıp Fakültesi | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | |
| Doç. Dr. Bülent ALTUNOLUK Üye | Uroloji | KSÜ Tıp Fakültesi | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | |
| Doç. Dr. Atilla YOLDAS Üye | Anatomi | KSÜ Tıp Fakültesi | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | |
| Yrd. Doç. Dr. Akif Hakan KURT Üye | Tıbbi Farmakoloji | KSÜ Tıp Fakültesi | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | KATILMADI |
| Yrd. Doç. Dr. İdris ALTUN Üye | Beyin ve Sinir Cerrahisi | KSÜ Tıp Fakültesi | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | KATILMADI |
| Yrd. Doç. Dr. Mehmet DEMİR Üye | Anatomi | KSÜ Tıp Fakültesi | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | |
| Yrd. Doç. Dr. Adem DOĞANER Üye | Biyostatistik | KSÜ Tıp Fakültesi | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | KATILMADI |
| Mehmet Emin DARENDELİ Üye | Avukat | Serbest | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | |
| Mustafa ÇANSARAN Üye | Mühendis | Tarım İl Müdürlüğü | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | |
| ŞERH (VARSA) | | | | | |

*Araştırma ile ilişki



13.ÖZGEÇMİŞ

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı, soyadı : Ahmet NEDİM KADİFECİ
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 07.08.1989 - KAHRAMANMARAŞ
Medeni hali : Bekar
Telefon : 0554 359 49 58
Yabancı dil : İngilizce
e-posta : ahmetnedimkadifeci@gmail.com
Hobileri : Futbol, yüzme, kitap okumak, yürüyüş yapmak

Eğitim

| Derece | Eğitim Birimi | Mezuniyet Tarihi |
|---------------|--|------------------|
| Yüksek Lisans | KSÜ, Sağlık Bilimleri, Tıbbi Biyokimya ABD | 2017 |
| Lisans | BEÜN, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü | 2015 |
| Lise | Özel Beyza Lisesi | 2007 |

YAYINLAR

Kadifeci N.A, Oner E, Kurutas B.E. Evaluation Of The Levels Reducted Glutathione and Glucose 6 Phosphate Dehydrogenase Concentrations Transfusion In Patients With Non-associated β -thalassemia. Kahramanmaraş Talasemi Sempozyumu I, Poster Sunum, Kahramanmaraş/Ramada, 7-9 Nisan 2016.

Kadifeci N. A, Kurutas B.E. Status Of Nitrosative Stress In Transfusion Dependent Thalassaemia. Kahramanmaraş Talasemi Sempozyumu I, Sözlü Sunum, Kahramanmaraş/Ramada, 7-9 Nisan 2016.

