

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

RATLARDA DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN KOLİT MODELİNDE
N-ASETİL SİSTEİN VE BETA-GLUKANIN ETKİLERİ

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. BÜLENT KANTARÇEKEN

DR. MURAT İSPIROĞLU
UZMANLIK TEZİ

KAHRAMANMARAŞ – 2010

TEŞEKKÜR

Asistanlığım boyunca her zaman desteğini gördüğüm ve tezimin her aşamasında bana yol gösteren Sayın Doç.Dr.Bülent Kantarçeken'e,

Bizlerin en iyi şekilde eğitim görmemiz için emeği geçen başta Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Doç. Dr. Mehmet Sayarlıoğlu'na, Sayın Doç. Dr. Hayriye Sayarlıoğlu'na, Sayın Doç.Dr.Ekrem Dođan'a, Sayın Doç. Dr. Ali Çetinkaya'ya, Sayın Doç. Dr. Mesut Özkaya'ya, Sayın Doç. Dr. Akif Büyükbeşe'ye,

Tez aşamasında yardımlarından ötürü Sayın Doç. Dr. Ergül Belge Kurutaş'a , Sayın Doç. Dr. Ali Çetinkaya'ya, Sayın Doç.Dr.Ertan Bülbüloğlu'na, Sayın Doç.Dr.Harun Çıralık'a,

Asistanlığım boyunca aynı ortamı paylaştığım tüm asistan arkadaşlarıma, Dr.Mehmet Ali Uçar'a ayrıca kliniğimiz hemşire ve personeline teşekkür ederim.

Emeklerinin karşılığını ömür boyu ödeyemeyeceğim anne ve babama,

Sevgisini ve desteğini hep yanımda bulduğum eşim Esen İspiroğlu ve canım oğlum Veli Onur' a sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER	I
TABLO LİSTESİ	III
ŞEKİL LİSTESİ	IV
RESİM LİSTESİ	V
KISALTMA LİSTESİ	VI
ÖZET	IX
SUMMARY	XI
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Ülseratif Kolit Tanımı	3
2.2. Tarihçesi	3
2.3.Epidemiyoloji	3
2.3.1. Yaş ve Cins	4
2.3.2 Coğrafi Faktör	4
2.3.3. Irk Faktörü	4
2.3.4. Etnik Gruplar Arasındaki Dağılım	5
2.3.5. Sosyoekonomik Düzey ve Mesleki Dağılım	5
2.3.6. Kent ve Kırsal Alan Arasındaki Dağılım	5
2.4. Etiyoloji ve Patogenez	5
2.4.1. Sindirim Sistemi Mukozası İmmun Sistemi	7
2.4.2. Patogenezde İmmün Mekanizmalar ve Sitokinler	7
2.4.3.Oksidan Moleküller ve Kolit Patogenezindeki Roller	9
2.4.3.1.Süperoksid Radikali	10
2.4.3.2.Hidrojen Peroksit	10
2.4.3.3.Hidroksil Radikali	10
2.4.3.4.Lipid Peroksidasyonu	11
2.4.4. Antioksidan Enzimler	11
2.4.4.1.Süperoksid Dismutaz (SOD)	11
2.4.4.2.Katalaz (KAT)	12
2.4.4.3.Glutatyon Peroksidaz (GPx)	12

	Sayfa No:
2.4.4.4. Myeloperoksidaz (MPO)	12
2.5. İnflamatuvar Barsak Hastalığının Tedavisinde Antioksidan Tedavinin Yeri	13
2.6. Ülseratif Kolutin Kliniği	14
2.7. Ülseratif Kolutin Tıbbi Tedavisi	15
2.8. N-Asetil Sistein Ve Beta Glukan	18
2.8.1. Beta-Glukan	18
2.8.2. N-Asetil Sistein	19
3. MATERYAL VE METOD	
3.1. Deney Hayvanları	21
3.2. Deney Grupları ve Tedavi protokolü	21
3.3. Kolon Hasarının değerlendirilmesi	22
3.3.1. Mikroskopik Analiz	23
3.4. Biyokimyasal Değerlendirme	24
3.4.1. Myeloperoksidaz (MPO) Tayini	24
3.4.2. Malondialdehid (MDA) Aktivitesinin Ölçümü	24
3.4.3. Glutatyon Peroksidaz (GPx) Aktivite Tayini	25
3.4.4. Katalaz (KAT) Aktivite Tayini	26
3.4.5. Süperoksid Dismutaz (SOD) Aktivite Tayini	26
3.4.6. Doku Protein Analizi	26
3.5. İstatiksel Analiz	26
4. BULGULAR	
4.1. Doku MDA ve MPO Düzeyleri	27
4.1.1. MDA Düzeyleri	27
4.1.2. MPO Düzeyleri	27
4.2. Doku Antioksidan Aktiviteleri	28
4.2.1. Doku SOD Aktivitesi	28
4.2.2. Doku KAT Aktivitesi	29
4.2.3. Doku GPx Aktivitesi	29
4.3. Histopatolojik Bulgular	30
5. TARTIŞMA	31
6. SONUÇLAR	35
7. KAYNAKLAR	36
8. EKLER (Etik Kurul Onay Formu)	

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Ülseratif kolitin epidemiyolojik özellikleri	4
Tablo 2: Proinflamatuvar ve antiinflamatuvar mediatörler	8
Tablo 3: Ülseratif kolit tedavi protokolü	16
Tablo 4: Ülseratif kolitin tedavisinde kullanılan ilaçlar	17
Tablo 5: Kolonik mukozadaki mikroskopik bulguların skorlaması	24
Tablo-6: Grupların histopatolojik skor ortalamaları	30

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil-1: Kalın barsak mukozasının sitokin üretimindeki etkisi	9
Şekil 2. NAC ve b-glukan'ın kalın barsak MDA düzeyleri üzerine etkileri	27
Şekil 3. NAC ve b-glukan'ın kalın barsak MPO aktiviteleri üzerine etkileri	28
Şekil 4 . NAC ve b-glukan'ın kalın barsak SOD aktiviteleri üzerine etkileri	28
Şekil 5. NAC ve b-glukan'ın kalın barsak KAT aktiviteleri üzerine etkileri	29
Şekil 6. NAC ve b-glukan'ın kalın barsak GPx aktiviteleri üzerine etkileri	30

RESİM LİSTESİ

Resim-1 Asetik asit uygulanması	22
Resim-2 Median insizyon ve diseke edilen distal kolon	23

KISALTMALAR

AA : Asetik Asit

ANCA : Antinükleer sitoplazmik antikor

Ark : Arkadaşları

ASA : Asetil Salisilik

ATP : Adenozin-trifosfat

BAL : Bronko Alveolar Lavaj

BG : Beta Glukan

BG + NAC : Beta Glukan ve N-Asetil Sistein kombinasyonu

CH : Crohn Hastalığı

Cl : Klor

Cm : Santimetre

CO₂: Karbondioksit

CRP : C-Reaktif Protein

Cu-SOD : Bakır Süperoksid dismutaz

CuZn SOD : Stoplazmik Bakır-Çinko Süperoksid Dismutaz

DNA : Deoksiribonükleikasit

ESR : Eritrosit sedimentasyon hızı

EGF : Epitelyal Büyüme Faktörü

FAD : Flavın Adenin Dinükleotid

G-CSF : Granülosit Koloni Stimüle Edici Faktör

GM-CSF : Granülosit Makrofaj Koloni Stimüle Edici Faktör

GPx , GSH-Px : Glutasyon peroksidaz

GR : Glutasyon Redüktaz

GSH : Glutasyon

HE : Hematoksilen eozin

HLA : İnsan Lökosit Antijeni

H₂O₂ : Hidrojen Peroksit

HOCl : Hipoklorik asit

İBH : İnflamatuvar Barsak Hastalığı

IBD : İnflammatory Bowel Disease

IFN : İnterferon

Ig : İmmünglobilin

IL-1 : İnterlökin 1

IL-2 : İnterlökin 2

IL-4 : İnterlökin 4

IL-6 : İnterlökin 6

IL-8 : İnterlökin 8

IL-10 : İnterlökin 10

IP : İnterperitoneal

KAT : Katalaz

KOAH : Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı

LPS : Lipopolisakkarit

MPO : Myeloperoksidaz

MDA : Malondialdehit

MDR-1 : Multi Drug Resistance(çoklu ilaç direnç) geni - 1

MnSOD : Mitokondrial Süperoksit Dismutaz

NAC : N-Asetil Sistein

NK : Doğal Öldürücü Lenfosit. (Natural Killer)

NBT : Nitrobluetetrazolium

NO: Nitrik Oksit

O₂: oksijen

O₂⁻ : Süperoksit Radikali

OH⁻ : Hidroksil Radikali

p-ANCA : Perinükleer boyalı Antinötrofilik Sitoplazmik Antikor

PAF : Platelet Aktive Edici Faktör

PG : Prostaglandin

PMNL : Polimorfonükleer Lökosit

RNA : Ribonükleikasit

ROM : Reaktif oksijen metabolitleri

SOD : Süperoksit dismutaz

SubP : Substans P

TGF-β : Tümör Büyüme Faktörü Beta

Th : T Helper

TNBS-E : Trinitrobenzen Sülfonik Asit-Etanol

TNF-α : Tümör Nekroz Faktör Alfa

TSH : Troid Stimulan Hormon

TxA₂ : Tromboksan A₂

ÜK : Ülseratif Kolit

VIP : Vazoaktif intestinal Polipeptit

ÖZET

RATLARDA DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN KOLİT MODELİNDE

N-ASETİL SİSTEİN VE BETA-GLUKANIN ETKİLERİ

Giriş ve Amaç: Ülseratif kolit kalın barsağı ve rektumu tutan diffüz mukozal inflamasyonla karakterize rekürren, idyopatik ve kronik bir hastalıktır. Etyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte, genetik ve çevresel faktörler suçlanmaktadır. Son zamanlarda insan ve hayvanlarda inflamasyona uğramış kalın barsakta oksidan/antioksidan denge değişikliği gözlenmiştir. N-asetilsistein ve beta glukan antioksidan, antiinflamatuvar özellikte olan maddelerdir. Beta glukan ayrıca immün-modulatuvar ajan olup etkisini makrofaj, nötrofil vb. inflamatuvar hücreler üzerinden gösterir. Bu çalışmada ratlarda asetik asit (AA) ile oluşturulmuş kolit modelinde, N-asetilsistein ve beta-glukanın muhtemel yararlı etkilerini araştırmayı amaçladık.

Yöntem ve gereçler: Bu çalışmada 220-250 gr 50 adet erkek Wistar Albino rat kullanıldı. Birinci gruba (kontrol grubu) intrarektal saline verildi ve 1 hafta boyunca hergün çalışma maddesi olmayan normal oral besin verildi. İkinci gruba (kolit modeli) normal oral besinden 1 saat sonra rektal yoldan asetik asit verildi ve 6 gün boyunca normal oral besin verildi. Üçüncü gruba (beta glukan+kolit) 100mg/kg beta glukan tek doz oral verildikten 1 saat sonra rektal asetik asit verildi. 6 gün boyunca beta glukan 100/mg/kg/gün oral yol ile verildi. Dördüncü gruba (N-asetilsistein+kolit) 200mg/kg tek doz oral N-asetilsistein verildikten 1 saat sonra rektal asetik asit verildi ve 6 gün boyunca 200mg/kg/gün N-asetil sistein oral yolla verildi. Beşinci gruba (N-asetilsistein+beta glukan+kolit) 200mg/kg N-asetil sistein ve 100 mg/kg beta glukan tek doz oral olarak verildi ve 1 saat sonra rektal asetik asit uygulandı sonrasında 6 gün boyunca oral yolla beta glukan 100mg/kg/gün ve NAC ise 200 mg/kg/gün verildi. Çalışmanın sonunda kalın barsak distal 8 cm'lik kısmı çıkarıldı. Histopatolojik ve biyokimyasal inceleme için örnekler alındı.

Bulgular: Monoterapi ve kombine terapi verilen gruplarda kolit grubuna göre MDA ve MPO düzeyleri anlamlı olarak düşük; SOD, KAT düzeyleri ise anlamlı yüksek olduğu gözlemlendi. Tedavi grupları içerisinde MDA ve MPO düzeyleri arasında anlamlı fark yoktu. NAC'in tek başına verildiği grupta GPx düzeyinin en yüksek olduğu izlendi. Diğer antioksidan enzimlere baktığımızda (SOD, KAT); NAC grubuyla BG grubu arasında anlamlı fark yok iken kombinasyon verilen grupta antioksidan savunma NAC grubundan anlamlı

olarak düşük gözlendi. Mikroskopik değerlendirmede histolojik skor ortalamaları incelendiğinde kontrol ve tedavi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi.

Sonuçlar: Bu çalışmada N-Asetilsistein ve b-glukan'ın AA ile oluşturulmuş kolit modelinde yararlı etkileri olduğuna fakat kombinasyon tedavisinin monoterapiye ek bir katkı sağlamadığı sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Beta-glukan, N-Asetilsistein, oksidatif stres, deneysel kolit

SUMMARY
THE EFFECTS OF N-ACETYL CYSTEIN AND BETA GLUCAN IN
EXPERIMENTAL COLITIS MODEL IN RATS

Introduction and Aim: Ulcerative colitis is an idiopathic and chronic disease characterized by diffuse mucosal inflammation in colon and rectum. While the exact cause remains unknown, possible etiological factors, including genetic, immunologic, and environmental, have been implicated. Recently, the altered oxidant/antioxidant status in the inflamed colon has received attention in both humans and animals. N-acetylcysteine and beta-glucan are anti-oxidant and also anti-inflammatory substances. Beta-glucan is also an immunomodulatory agent and affects via inflammatory cells like macrophage, neutrophil etc. The aim of the present study was to evaluate possible protective effects of N-acetylcysteine and beta-glucan against acetic acid-induced colitis in a rat model.

Materials and Methods: In this study 50 male Wistar-Albino rats weighing 220-250 g, were used. Following a 24 hour fast first group (control group) received intrarectal saline and fed normal oral diet that is not included study substance during one week. Second group (colitis model) received acetic acid after 1 hour of normal diet and fed normal oral diet during 6 days. Third group (colitis and beta-glucan) received rectal acetic acid after one hour of 100 mg/kg beta-glucan oral single dose and they received oral 100 mg/kg/day during 6 days. Fourth group (N-acetylcysteine +colitis) received rectal acetic acid after one hour of 200mg/kg oral single dose N-acetylcysteine and they received oral 200 mg/kg/day during 6 days. Fifth group (N-acetyl cysteine+Beta glucan+colitis) received rectal acetic acid after one hour of 200 mg/kg N-acetylcysteine and 100 mg/kg beta-glucan single oral doses, and they received beta-glucan 100 mg/kg/day and N-acetylcysteine 200 mg/kg/day during 7 days. At the end of the study the distal 8 cm of the colon was removed. Histopathologic and biochemical assessments were carried out.

Results: MDA and MPO levels were significantly low, SOD and KAT levels were significantly higher in monotherapy and combined therapy groups. This findings suggest that all treatment modalities have beneficial effect on inflammation that seen in colitis. Of treatment groups MDA and MPO levels were not significant. Gpx levels were highest among only NAC treated group. For other anti-oxidant enzymes (SOD,KAT), there were no difference between NAC and BG group, but in combination group anti-oxidant defence was lower than NAC group. Microscopic evaluation revealed that damage score was lowest in NAC group, but no statistical significance was found between treatment groups.

Conclusions: The results of this study suggest that N-acetylcysteine and/or beta-glucan treatment modalities have beneficial effect in colitis. But combined therapy compared with monotherapy did not show additional beneficial effect.

Key words: Beta-glucan, N-Acetylcysteine, oxidative stress, experimental colitis

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ülseratif kolit, kalın barsağın kronik ve tekrarlayıcı inflamatuvar bir hastalığıdır. Etyolojisi kesin olarak bilinmemesine rağmen, çeşitli faktörler suçlanmıştır. Bunların başlıcaları; genetik faktörler, immunolojik anormallikler ve çevresel etkenler olarak sayılabilir (1,2). Son yıllarda reaktif oksijen metabolitleri (ROM), inflamatuvar barsak hastalıklarının patogenezindeki rolü araştırılmıştır (3-5). Toksik oksijen metabolitlerinin, lizozomal enzimlerin ve araşidonik asit metabolizma ürünlerinin inflamatuvar barsak hastalığında inflamasyonlu mukozadaki nötrofillerden üretildiği gösterilmiştir. ROM artışının önemli kaynaklarından birisi de iskemi-reperfüzyon hasarını veya inflamasyonu takiben mukozadaki aktive olmuş fagositlerdir (6). Fagositik özellikteki nötrofiller süperoksit (O_2^-) üretebilmekte ve birçok ROM'nin oluşumuna neden olan yolağı başlatmaktadırlar. Bu yolağın sonucunda H_2O_2 ve myeloperoksidaz (MPO) reaksiyonunu takiben hipoklorik asit oluşmaktadır (7). İkinci olası ROM ise, ksantin oksidaz yoludur. Bu yolda kalın barsak hücreleri ksantin/hipoksantin'in ürik asite dönüşümü sırasında O_2^- anyonlarını oluşturmaktadırlar (8). Süperoksit anyonu (O_2^-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşumunun üçüncü mekanizması ise araşidonik asitin, lipooksijenaz (lokotrienleri oluşturarak) veya siklooksijenaz (prostaglandinleri oluşturarak) yollarıyla oksidasyonudur (9).

ROM üretimi birçok antioksidan sistemin koruma mekanizması ile kontrol altına alınabilmektedir. Bu sistemlerden bazılarını katalaz (KAT), süperoksit dizmutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GPx) oluşturmaktadır. Antioksidan tedavi ile kolit modelinde faydalı sonuçlar elde edilmiştir (10). Yapılan diğer bir çalışmada kolit modelinde intraperitoneal olarak verilen antioksidan ajan N-Asetilsistein (NAC)' in iyileştirici etkisi gösterilmiştir(11). Başka bir çalışmada ise ratlardaki sepsis modelinde oral verilen beta-Glukan ve NAC'in antioksidan etkiyle inflamasyonda gerilemeye neden olduğu gösterilmiştir (12). Ülseratif kolit hastalarından alınan biyopsilerle yapılan bir çalışmada ise katalazın ROM'ni azalttığı görülmüştür (13).

Beta-glukan, ekmek mayasında, tahılda ve mantarlarda bulunan, hücre duvarının yapısında yer alan fiber formda bir polisakkarittir (14). Doğal mayada ve mantarlarda temel olarak b-1,3 glukan veya b-1,6 glukan olarak bulunur. B-glukan'ın in vivo uygulanması ile çeşitli infeksiyonlara ve tümör gelişimine karşı konak yanıtında bir artış bildirilmiştir (15,16). Farklı b-glukanların farklı etkilere sahip olmasında molekül ağırlıklarının ve dallanma yapılarının etkin olduğu öne sürülmesine rağmen henüz tam olarak açıklanamamıştır. Birçok çalışmada b-glukanın antioksidan etkisi olduğu gösterilmiştir (17-18).

N-asetilsistein (NAC) ise L-sisteinin N-asetil derivativesidir. Glutamat, sistein ve glisinden sentezlenir. Redükte glutatyon (GSH) sentezinde bir substrat olarak görev alır. Glutatyon peroksidaz (GPx) görevli reaksiyonda sistein kaynağı olarak antioksidan defansta önemli rol oynar. En önemli endojen antioksidandır. Bu nedenle birçok çalışmada NAC'ın antioksidan özelliği gözlenmiştir (19-20).

NAC ve B-glukan'ın etkilerinin tek olarak deneysel kolit tedavisinde araştırılmış olmasına rağmen, bu iki ajanın kombinasyonu literatürde rastlanmamıştır. Bu tez çalışmasında; asetik asitle (AA) oluşturulan deneysel kolit modelinde NAC ve b-glukan'ın olası yararlı etkilerini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ülseratif Kolit Tanımı

Ülseratif Kolit (ÜK); kişilerde genetik ve çevresel faktörlerin etkisiyle, intestinal mukozada bakteriler ve diyet antijenleri ile immun sistemin uyarılması sonucu meydana gelen, remisyon ve alevlenmelerle seyreden gastrointestinal sistemin inflamatuvar hastalığıdır.

ÜK ve Crohn hastalığı (CH) inflamatuvar barsak hastalığı başlığı altında incelenmelerine karşın; yerleşim yerleri, klinik özellikleri, komplikasyonları, prognozları, medikal ve cerrahi tedaviye verdikleri yanıtlar farklıdır. Klinik bulgular, mikrobiyolojik, radyolojik, endoskopik ve histopatolojik incelemelerle ayırıcı tanı tam yapılabilir. ÜK primer olarak kalın barsak mukozasını diffüz olarak, simetrik ve arada sağlam kısım bırakmaksızın tutar. Rektumdan başlayarak kalın barsağın diğer segmentlerine yayılabilir. CH, ÜK'den farklı olarak ağızdan anüse kadar tüm sindirim kanalını mukozadan serozaya kadar (transmural), asimetrik ve segmenter tarzda tutabilen bir hastalıktır (21).

2.2. Tarihçesi

Ülseratif kolit ilk olarak Samuel Wilks tarafınca basilli dizanteriden ayrı olduğu ortaya konup 'Basit İdiopatik Kolit' olarak adlandırılmıştır (22). Aynı yıl içinde Bankes, dilate incelmış ve şiddetli inflamasyonlu kalın barsak hastalığı olarak tarifleyip 'İdiopatik Kolit' adını vermiştir (23). Hawkins ise 1909 yılında, hastalığın intermittan ya da kronik olabileceğini ve ilk atakta dahi ölümcül olabileceğini belirtmiştir. Londra da aynı yıl içinde 300 vaka yayınlanmıştır (24). Kolutin ilk ayrıntılı tanımı Sir Arthur Hurst tarafından yapılmıştır (25,26). Yine de Hurst, hastalığı primer infektif dizanteri olarak kabul edip diğer faktörlerin sekonder olarak etki ettiğini söylemiştir (27). Ülseratif kolit sigmoidoskopik olarak dizanteriye benzediği için, hastalığı taşıyanlarda feçeste dizanterik mikroorganizmaların üremesi nedeniyle ve tedavisinde polivalan anti-dizanterik serumun etkili olabilmesi nedeniyle, hastalığı 'Primer İnfektif Dizanteri' olarak kabul etmiştir. Bu durum ve ülseratif kolit de serumda artan shigella aglutinasyon titreleri, ülseratif kolit ile dizanteri arasında epidemiyolojik bir ilişkiyi akla getirmiştir (28,29).

2.3. Epidemiyoloji

Ülseratif kolit bütün dünyada görülen, insidansı farklı topluluklarda ve coğrafik alanlarda çok büyük değişiklikler gösteren bir hastalıktır. ÜK'in epidemiyolojik özellikleri Tablo 1'de özetlenmiştir (30).

Tablo 1. Ülseratif kolit'in Epidemiyolojik Özellikleri

İnsidansı (Amerika'da)	11/100.000
Başlangıç Yaşı Kadın/Erkek Oranı Sigara İçimi Oral Kontraseptifler	15-30,60-80 1/1 Koruyucudur Riski artırmaz
Apendektomi Etnik Köken	Koruyucudur Yahudi> Yahudi olmayan siyahlar> Afrikalı-Amerikalı> Hispanik> Asyalı
Monozigot ikizler	Konkordans %13
Dizigot İkizler	Konkordans %2

2.3.1. Yaş ve Cins

Yaş grupları incelendiğinde, ÜK olgularının 15-30 ve 60-80 yaşlar arasında yığılım gösterecek şekilde dağıldığı saptanmıştır. Bu bimodal dağılımın temelinde genç hastalarda, luminal antijenlere karşı immün yanıtta artışa neden olan genetik yatkınlık söz konusuken; buna karşın daha yaşlılarda kronik çevresel etkenlere maruz kalma sonucu inflamatuvar yanıtın artması rol oynar (31). Olgularda kadın ve erkek oranları yaklaşık olarak eşittir (32).

2.3.2. Coğrafi Faktör

ÜK'in görülme sıklığı coğrafik bölgelere göre farklılıklar gösterir. ÜK insidansı 2-10/100 000, prevalansı 35-100/100 000 arasında değişir. ÜK coğrafi bölge olarak; Amerika Birleşik Devletleri ve kuzey Avrupa ülkelerinde, ırk olarak beyaz ırkta ve etnik köken olarak yahudilerde daha fazla görülmektedir (33).

2.3.3. Irk Faktörü

Yapılan çalışmalara göre Afrika kökenli Amerikalılarda, insidansın Amerikalı beyazlardan daha az olduğu gösterilmiştir. Asya ırkında ise, beyazlar ve Afrika kökenli Amerikalı'lara göre insidans hızı daha düşüktür. Diğer yapılan çalışmalarda, yüksek riskli coğrafi bölgelere göç edenlerde ÜK insidans hızının arttığı gösterilmiştir (34). Bu bulgu çevresel faktörlerin ÜK etiopatogenezinde önemli rol oynadığının göstergesidir (31).

2.3.4. Etnik Gruplar Arasındaki Dağılım

Yahudiler’de, ÜK sıklığı diğer etnik gruplara göre 2-4 kat yüksek bulunmuştur (21,30). Hastalığın sıklığı yahudiler arasında bölgeden bölgeye farklılıklar göstermekle birlikte, davranış şekli genel populasyona benzerdir (35). İsrail, Askenazi yahudilerinde sıklığı, Sephardik yahudilerden fazladır ama, Amerika’da ve Kuzey Avrupa’da yaşayanlardan azdır. Görülen bu bölgesel farklılıklar yahudiler arasında genetik farklılıklar olduğunu destekler (32,35).

2.3.5. Sosyoekonomik Düzey ve Mesleki Dağılım

Yüksek sosyoekonomik düzeyi olan, iyi eğitim almış kesimde, düşük sosyoekonomik düzeyli kesime göre ÜK daha sık görülmektedir. Bazı çalışmalar açık alanda çalışmak ve egzersizin ÜK den koruyucu olduğunu göstermiştir; oysa klimalı ortamda çalışmak, fazla mesai veya düzensiz vardiyanın hastalık riskini artırdığı belirtilmiştir (28).

2.3.6. Kent ve Kırsal Alan Arasındaki Dağılım

Birkaç farklı çalışma ÜK insidansındaki artışın kentlerde, kırsal alana göre daha fazla olduğunu göstermiştir. Bu görüş kentsel ve kırsal kesimin sağlık hizmetinden eşit oranda faydalanamadığı için tartışmalıdır (31).

2.4. Etiyoloji ve Patogenez

Ülseratif kolitin etiyojisi tam olarak bilinmemekle birlikte; infeksiyon, diyet alerjisi, bakteriyel ya da kişinin kendi antijenlerine karşı gelişen immün yanıt ve psikosomatik teori gibi pek çok hipotez etyolojide öne sürülmüştür (32).

Bugün için geçerli olan görüş, zeminde yer alan inflamatuvar hücreler ve sitokinlerle oluşan inflamasyondur. Etiyolojik olarak bir takım genetik bozukluklar, enfeksiyöz ajanlar, emosyonel stres, alkol ve sigara kullanımı, oral kontraseptif alımı ve rafine yiyeceklerin tüketimi gibi çevresel bazı faktörler sorumlu tutulmaktadır. Etiyolojiden sorumlu olan ajan ne olursa olsun her iki hastalık da sonuçta doku düzeyinde hasar ile seyretmektedir (36).

ÜK’in genetik (1. ve 4. kromozom) ve çevresel faktörlere dayanan temelini olduğu çalışmalarla desteklenmektedir (37); ancak kalıtsal paternin Mendelien geçişi gösterilememiştir. Hastalığın başlama yaşı, şiddeti, lokalizasyonu, steroid ihtiyacı gösterip göstermeyeceği, steroide verilen yanıt, ekstraintestinal bulgular aile içi benzerlik gösterir. Bu özellikler değişik genetik özellikleri taşıyanlarda farklılıklar gösterir. ÜK hastalarında HLA-DR2 ile birliktelik, MDR-1 (Multidrug resistance) gen yapımında artış, IL-Ira ve MUC.3

(intestinal mucin) gen polimorfizmi tespit edilmiş ve 3., 7. ve 12. kromozom üzerinde etkilenen bir bölge bulunmuştur. Hastalarda ve onların 1. derece akrabalarında perinükleer boyalı antinötrofilik sitoplazmik antikor (pANCA) bulunabilir ve bu özelliğin de genetik olarak belirlendiği düşünülmektedir (30). Genetik duyarlı bireylerde hastalığın ortaya çıkmasını sağlayan veya hızlandıran çevresel etkenler önem taşımaktadır. Epidemiyolojik çalışmalarda yüksek sosyo-ekonomik düzeye sahip kişilerde, endüstrileşmiş ülkelerde veya aynı ülkenin büyük kentlerinde yaşayan ve stres faktörü yoğun olan kişilerde daha çok görüldüğü gösterilmiştir (38,39).

Her ne kadar spesifik bir diyetetik toksin veya antijen belirlenememişse de diyetteki rafine şeker, süt, hayvansal protein, Omega 6/Omega 3 oranı artışının CH ve/veya ÜK riskinin artışı ile ilgili olabileceğinden bahsedilmektedir (40). Diğer yandan intestinal içeriğin inflamatuvar barsak hastalığı (İBH) patogenezi ile ilişkili olduğu yolundaki düşünce, son zamanlarda güç kazanmaktadır. Hayvan deneylerinde, aşırı miktarda enterik bakteri hücre adezyon moleküllerinin ekspresyonunda artışa ve granülosit infiltrasyonuna neden olmakta, her iki olay da antibiyotik kullanımı veya fekal akım artışı ile azaltılabilmektedir. Sözü edilen klinik ve deneysel gözlemler, kronik intestinal inflamasyonun gelişimi ve seyrinde, mikrobiyal dengesizliğin önemli rolüne işaret etmektedir (41).

Yapılan farklı çalışmalarda ÜK' in sigara içmeyenlerde sigara içenlerden daha fazla olduğu, sigara içmeyenlerde ÜK gelişmesinin relatif riskinin yüksek bulunduğu, bu riskin sigarayı bırakanlarda özellikle 2 yıl içinde daha da arttığı bildirilmektedir (42). Bunun nedeni olarak sigaranın mukus yapısını değiştirme, rektal kan akımını azaltma, yardımcı T ve supresör T hücre oranını değiştirerek immun sistem ve sitokin üretimi üzerine etkileri gibi sebepler gösterilmektedir (43-45). Ayrıca sigara içenlerde mukozal permeabilite düzenleyici 51 cr-EDTA düzeyleri düşük bulunmuştur (46).

Genetik ve otoimmün teoriler kadar ilginç olan bir başka konu da enfeksiyöz ajanların olayların tetiklenmesinde ya da sürecinde rol aldığı düşüncesidir. İBH'nın alevlenme döneminde enfeksiyöz barsak hastalıklarından tamamen ayırt edilmesi neredeyse olanaksızdır. CH'nın alevlenme dönemlerinde sıklıkla *Yersinia enterocolitica* ve *Mycobacterium tuberculosis* suşları identifiye edilebilmektedir. Benzer şekilde *Campylobacter*, *Shigella*, *Amip* ya da *Cytomegalovirus* enfeksiyonları ÜK ile benzerlik gösterebilmektedir. İnvaziv granülomlarda yapılan elektron mikroskopik incelemeler, kızamık virüsü ile uyumlu paramiksovirus hücre parçacıkları ortaya koymuştur. Bu konuyla ilişkili yapılan iki çalışmanın birincisinde 30 yaşın altında oluşmuş Crohn hastalığı ile kızamık epidemisi arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. İkinci çalışmada ise hamileliğin başlangıcında geçirilmiş

kızamık enfeksiyonunun çocuğu gelecek yaşamında artmış Crohn hastalığı riski ile karşı karşıya bıraktığı saptanmıştır (47,48).

2.4.1. Sindirim Sistemi Mukozası İmmün Sistemi

Barsaklarda hergün birçok diyetsel ve bakteriyel antijenik uyarı mevcut olmasına rağmen, buna yönelik herhangi bir immünolojik yanıt gelişmemektedir. Bu immünolojik dengeyi sağlayan iyi gelişmiş mukozal immün sistemdir. Mukozal immün sistem, mukozal bakteriler ve luminal antijenler ile etkileşerek inflamatuvar kontrolde hassas dengeyi oluşturan etkili bir kompartmandır (49). Kalın barsağın epitel bütünlüğü, MALT, M hücrelerinden oluşan morfolojik yapısıyla antijenlere karşı anatomik bir defans oluşturmakta hem de salgısal Ig A yardımıyla antijenler daha epitel ve lamina propria ile karşılaşmadan kalın barsak mukozasından uzaklaştırılmaktadırlar (50).

Ülseratif Kolit'te proinflamatuvar mediatörlerin uygunsuz artışı ya da inflamatuvar cevabın baskılanmasındaki yetersizlik luminal içeriğe karşı kontrolsüz ve abartılı immun yanıt ile sonuçlanır (21,51).

Zararlı maddelerin inflame olmuş mukoza tarafından artmış alımı ve ülserlerin çoğalan bakterilerce sekonder invazyonu ile intestinal hücreler sitokinler, arasıdonik asit, proteazlar, nitrik oksit ve toksik oksijen radikalleri salgırlar. Bu durum kalıcı inflamasyonu başlatır ve inflamatuvar cevabı baskılayamayan, genetik olarak yatkın kişide kronik kolit oluşur. Bu bakteriyel ajanların sistemik emilimi ile de ekstraintestinal etkiler ortaya çıkar (52).

2.4.2. Patogeneizde İmmün Mekanizmalar ve Sitokinler

Gastrointestinal sistemde gelişen inflamasyonda; salgılanan inflamatuvar mediyatörler, oksidatif stres, değişen kalın barsak florası, mukozada anormal glikoprotein birikimi, kısa zincirli serbest yağ asitlerinin oksidasyonunda azalma, artmış intestinal geçirgenlik, sülfid üretiminde artma ve azalmış metilasyon rol oynar. ÜK gelişimini tek bir mekanizma ile açıklamak mümkün değildir. ÜK de gelişen klasik lezyonlar epitelyal hücrelerin immün yolaklar ile hasarlanmasını takiben gelişen mukozal anormal nötrofil kümelenmesi ve kript abseleridir. Ek olarak çalışmalar ÜK'in hümmoral immünitenin rol oynadığı otoimmün bir hastalık olduğu fikrini desteklemektedir (53).

Neden olan uyaran ne olursa olsun sonuç olarak inflamatuvar yanıt tetiklenmektedir. Bunun sonucunda da makrofajlardan salınan sitokinler, özellikle TNF- α , IL-2 artışı yapmakta ve T hücrelerini sitotoksik hale getirmekte, proliferasyonlarını uyarmaktadır. Bu yanıt özellikle yardımcı T ve B hücrelerini stimüle ederek hem özgül olmayan sitotoksik

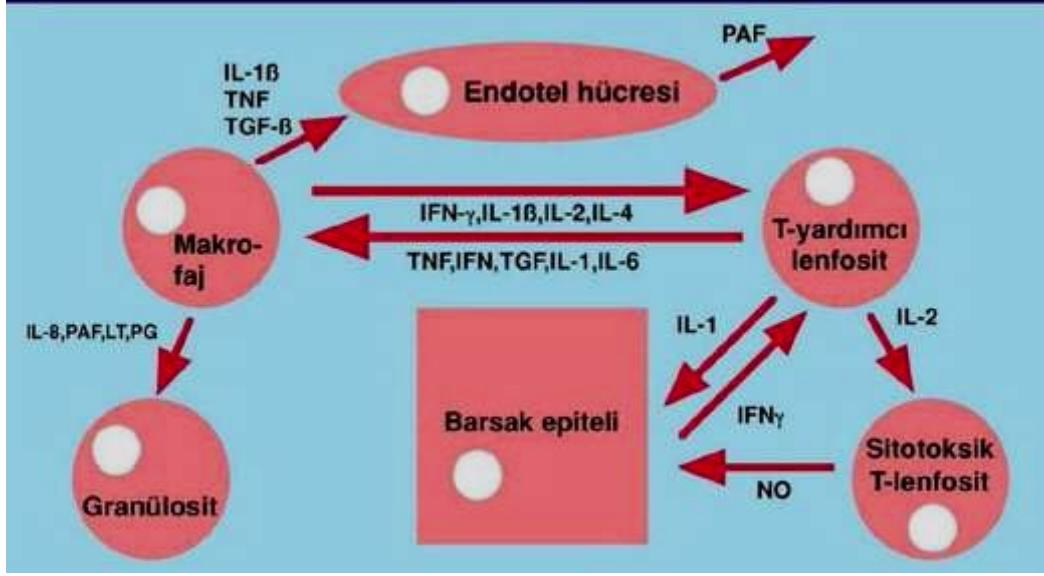
etkiyi hem de özgül antikor yapımını artırarak, antikora bağımlı sitotoksiteyi körüklemektedir. Sonuçta, lenfositlere ek olarak diğer lökositlerin de katılımıyla araşidonik asit metabolizmasındaki ürünler ve serbest oksijen radikalleri nedeni ile doku yıkımı oluşur (54).

Gastrointestinal kanaldaki sitokinlerin başlıca kaynağı lamina propriadaki aktive makrofajlar ve T lenfositleridir. Gastrointestinal kanalda üretilen sitokinlerin bir bölümü immünolojik yanıtı, inflamatuvar süreç yönünde ilerletir (proinflamatuvar sitokinler), bir bölümü de inflamasyonu kontrol altında tutarlar (antiinflamatuvar sitokinler).

İmmun sistem Tablo 2’de yer alan proinflamatuvar ve antiinflamatuvar mediatörler arasında hassas bir denge ile sıkıca kontrol edilir (55). Kronik inflamatuvar bir patoloji olan ÜK olgularında da proinflamatuvar/antiinflamatuvar sitokin dengeleri proinflamatuvar sitokinler lehine bozulmuş olup, IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α ve IFN- γ üretimi artmış, IL-1 reseptör antagonisti düzeyleri ise azalmıştır (52,56). Bu sitokinlerin kanda ve dışkıdaki düzeylerinin ölçümü intestinal inflamasyonun bir göstergesi olarak kullanılabilir (57,58).

Tablo 2. Proinflamatuvar ve antiinflamatuvar mediatörler (55)

Proinflamatuvar mediatörler	Antiinflamatuvar mediatörler
IL-1-6, TNF- alfa	IL1ra, TNF bağlayıcı protein
IL-8, MCAF	TGF-beta
IL-2, INF-gama (TH1)	IL-4-10 (Th2)
TxA2, LTB4	PGE2, I2
SubP, TSH	VIP, kortisol



Şekil-1: Kalın barsak mukozasının sitokin üretimindeki etkisi (59)

İBH olan kişilerde proinflamatuvar sitokinlerin artışı, lokal ve sistemik doku hasarı ile birlikte olur. Bu inflamatuvar sitokinler, birçok hastalığın yaygınlığını belirlemede kullanılabilirler. Sitokinlerin lokal artışlarında, vasküler permeabilitede artış, vasküler konjesyon ve ödem görülebilir (60). Diğer sitokinlerin üretimi, vasküler endotel aktivasyonu, inflamatuvar hücrelerin toplanması ve koagülasyon sisteminin aktivasyonuna neden olur (61).

2.4.3. Oksidan Moleküller ve Kolit Patogenezindeki Rollerini

Atomik ya da moleküler yapıda çiftlenmemiş tek elektron bulunmasına ‘**Serbest Radikal**’ denir. Bu da en sık olarak elektron transport zincirinde oluşur. Serbest radikallerin bir başka oluşma şekli moleküldeki bağların homolitik olarak parçalanması sonucu elektronlardan her birinin farklı atomlar üzerinde kalması ile gerçekleşmektedir. Ayrıca iyonize radyasyonda serbest radikal oluşumuna sebep olur. Serbest radikallerin temel kaynağı moleküler oksijendir. Oksijen molekülü reaktif olmamasına rağmen diğer radikallerle reaksiyona girme özelliğine sahiptir. Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine giren bu moleküllere “oksidan moleküller” veya reaktif oksijen metabolitleri (ROM) denir. Moleküler oksijenin indirgenmesi sonucunda süperoksit (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikalleri (OH) gibi reaktif oksijen türleri oluşur. Serbest oksijen radikalleri endojen olarak vücutta sentezlenen metabolik yan ürünlerdir. Vücutta normal veya patolojik olarak serbest radikaller üretilir. Bu ürünler hemen sentez edildikleri yerde detoksifiye

edilmezler ise zararlı etkilerini oluştururlar (62). Serbest radikallerin yol açtığı hücre hasarının derecesi hücre içindeki koruyucu sistemlerin etkinlik derecelerine bağlıdır (63).

2.4.3.1. Süperoksid Radikali (O_2^-)

Moleküler oksijenin indirgenmesi ile oluşur ve oluştuğu yerden fazla uzağa diffüze olamaz. Süperoksid bir serbest radikal olmakla birlikte, kendisi direkt olarak fazla zarar vermez. Asıl önemli olan, H_2O_2 kaynağı ve geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksid, nötrofillerin bakterisidal aktivitesi, apoptoz, inflamasyon ve vasküler fonksiyonların regülasyonu gibi yararlı etkilere sahiptir. Azalmış süperoksid düzeyleri, bakteriyel enfeksiyonlara artmış bir yatkınlığa yol açabilir (64).

2.4.3.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit, süperoksidin süperoksid dismutaz enzimi ile dismutasyonu sonucu veya spontan olarak da üretilebilmektedir. H_2O_2 radikal değildir. Ancak üretildiği bölgede kalan süperoksidin aksine membranları geçen, sitozole diffüze olan ve uzun ömürlü bir oksidan olarak bilinir. Süperoksidle reaksiyona girerek en reaktif ve zarar verici radikal olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir (64).

2.4.3.3. Hidroksil Radikali (OH^-)

Hidroksil iyonu, bilinen en reaktif radikaldir. Amino asitler, nükleik asitler, organik asitler ile reaksiyona girebilir. Tek atom halinde ve bir elektronu eksik olan oksijen ile hidrojenin birleşmesinden oluşur. Gama radyasyona maruz kalan dokularda da hidroksil radikali oluşabilir (65).

ÜK için 'Radikal İndüksiyon Teorisi' abartılı hücrel mekanizmanın bir sonucu olarak kalın barsak epitel hücreleri tarafından üretilen nötralize edilmemiş aşırı H_2O_2 'nin hücre membranına yayılarak ekstraselüler boşluğa çıkararak hidroksil radikale çevrildiği ve bunun da kalın barsak epiteli bariyer fonksiyonunun devamından sorumlu olan yapılarda büyük oranda oksidatif hasara neden olduğu ileri sürmektedir (66).

Hidroksil radikali, hayvanlarda oksijenin sitotoksik etkilerinden sorumludur (67). H_2O_2 hücre biomembranlarını oluşturan yağları peroksidize eder ve hasar verir (68). OH^- radikali için önemli bir hammadde olan H_2O_2 'nin detoksifikasyonu, işte bu yüzden normal hücre fonksiyonu ve sağ kalım için çok gereklidir.

2.4.3.4. Lipid Peroksidasyonu

Hücre membranında bulunan yağ asitleri (araşidonik asit) ve kolesterolün doymamış bağları, serbest radikallerle reaksiyona girip lipid peroksidasyonuna neden olabilir. Serbest radikallerin hücre zarlarındaki yağ asitleri ile reaksiyona girerek sonuçta zar bütünlüğünün bozulması ile sonuçlanan reaksiyon dizisine " Lipid peroksidasyonu" denir. Bu sürecin başladığını gösteren en iyi gösterge malondialdehid (MDA)'dir (69). Lipid peroksidasyonunun başlıca son ürünlerinden MDA, oksidan hasarı değerlendirmede sıklıkla kullanılır. MDA, lipid peroksidasyonunun şiddetiyle orantılı olarak artar. Lipid peroksidasyonu hücrenel bileşenlere en çok zarar veren reaksiyonlardan biridir. Yapılan çalışmalarda antioksidan suplementasyonu plazma antioksidan düzeylerini önemli derecede artırmaktadır (70).

2.4.4. Antioksidan Enzimler

Canlı hücrelerde bulunan protein, , karbonhidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar ve bu olaya antioksidan savunma denir. Antioksidan savunma elemanları hücre içi ve hücre dışı ortamda farklıdır. İnsanda bellibaşlı hücre içi antioksidanlar; süperoksid dismutaz (SOD), katalaz (KAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi enzimlerdir. SOD'un yapısında bakır, çinko ve manganez; GPx'de ise selenyum iyonu bulunduğundan bu enzimler 'metalloenzim' olarak da adlandırılırlar (71).

2.4.4.1. Süperoksid Dismutaz (SOD)

Süperoksidin hidrojen peroksit dismutasyonunu katalize eden bir metalloenzimdir. 3 tür SOD enzimi vardır. Birincisi mitokondride lokalize Mn-SOD, ikincisi sitozolde lokalize Cu-Zn SOD ve üçüncüsü de Cu içeren ve plazmadaki süperoksid radikallerini metabolize eden vasküler endotele bağlı Cu- SOD' dır. Oksijeni metabolize eden tüm hücrelerde bulunan SOD ve GPx enzimleri serbest oksijen radikal toksisitesine karşı önemli defans mekanizmalarını oluştururlar. SOD, Glutatyon peroksidaz (GPx) ve katalaz (KAT) gibi antioksidan enzimler serbest radikallerin oluşmasını ve lipid peroksidasyonunun başlamasını önleyen enzimlerdir (72).

SOD enzimi toksik süperoksid radikallerinin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dismutasyonunu hızlandırır. H₂O₂, katalaz ve glutatyon peroksidaz tarafından temizlenir. Bu enzimler enzimatik antioksidan savunma sistemini oluştururlar (73).

2.4.4.2. Katalaz (KAT)

Peroksizomlarda lokalizedir. SOD'ın oluşturduğu H_2O_2 'i peroksidazlarla beraber oksijen ve suya parçalar. Düşük konsantrasyonlarda H_2O_2 'yi GPx parçalar, yüksek konsantrasyonlarda ise KAT aktivite kazanır. KAT aktivitesi eritrosit, karaciğer ve böbrekte yoğundur (65).

2.4.4.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx)

Redükte glutasyonu (GSH) yükseltirken H_2O_2 'i de suya çevirir ve böylece membran lerini ve hemoglobini oksidan strese karşı korur (62). Genetik olarak GPx'den yoksun hale getirilmiş farelerde, 11-15 günler arasında kript hasarı ile giden ve spontan olarak proksimal kalın barsağa kadar yayılan kolit (insandaki ÜK'ye benzer mukozal inflamasyon) geliştiği bildirilmiştir (74).

2.4.4.4. Myeloperoksidaz (MPO)

İnflamasyonla mücadelede etkili bir olay da fagositoz olup özellikle bakteriyel infeksiyonlarda önemli bir defans mekanizmasıdır. Nötrofiller ve monositler bakterilerin öldürülmesi için, hem oksijen bağımlı hem de oksijenden bağımsız mekanizmaları kullanırlar.

Oksijen bağımlı mekanizmalar, MPO sistemini ve oksijen türevi serbest radikallerin üretimini sağlayan bir başka sistemi içerirler. MPO, fagositik hücrelerde bulunan bir enzimdir (75). Polimorfonükleer lökositlerin (PNL) azurofil granüllerinde fazla miktarda bulunur. Diğer inflamatuvar hücreler olan monosit ve makrofajlarda çok az miktarda bulunur veya hiç bulunmaz. Bu yüzden MPO aktivitesinin ölçümü dokuya PNL toplanmasını göstermede oldukça yararlıdır (76).

Myeloperoksidazın görevi nötrofiller tarafından fagosit edilen bakterileri sindirecek ürünleri oluşturan bazı tepkimeleri katalizlemektir (77). MPO, iki çift biçim içeren tetramer yapıda bir enzimdir. Oldukça stabil bir yapısı vardır. Nötrofillerin mikrobisit aktivitesinde MPO'nun rolü, hidrojen peroksidin varlığında halojenleri oksitleyerek hipohalöz asitleri oluşturmaktır. Hücre içinde klor (Cl) derişimi 90 mM gibi yüksek bir düzeyde olduğundan fizyolojik şartlarda kullanılan Cl'dur. Oluşan asit ise hipoklorik asit (HOCl)'dir (78). Hipoklorik asid, glukozamin ve taurin gibi aminoasitlerle tepkimeye girerek reaktif kloraminleri oluşturur. Kloraminler stabil olmayan bileşiklerdir ve kısa sürede amonyak, karbondioksit (CO_2), Cl ve aldehitlerin oluşumuna yol açarlar. Amonyumla reaksiyonları kuvvetli bir oksitleyici olan amonyum klorür (NH_2Cl)'ü meydana getirir. Bu bileşik özellikle

tiyol grupları için zararlıdır. Onları sulfoksitlere dönüştürerek SH gruplarının oksidasyon/redüksiyon reaksiyonlarına katılmasını engeller (79). Nötrofillerin aktivasyonu büyük miktarda O_2^- , H_2O_2 ve OH^- salınımına neden olur. Bunların MPO ile reaksiyona girmesi sonucu oluşan HOCl ve N-kloraminler sitotoksik etkiyi başlatır. Ayrıca nötrofil sitoplazmasındaki granüllerde bulunan proteaz yapısındaki enzimler de (elastaz, kollajenaz ve katepsin) doku hasarına katkıda bulunur (80).

2.5. İnflamatuvar Barsak Hastalığının Tedavisinde Antioksidan Tedavinin Yeri

Hastalığın nedeni ve patofizyolojinin bilinmemesinden dolayı CH ve ÜK hastalıkları için tam bir tedavi geliştirilememektedir. İBH'da inflamatuvar reaksiyonu başlatan özgül nedenler bilinmediği için, inflamatuvar yanıtın çeşitli aşamaları nonspesifik olarak tedavi edilmeye çalışılmaktadır. Nötrofiller ve makrofajlar tarafından üretilen toksik oksidanların yol açtığı inflamatuvar yanıt, özellikle en çok çalışılması gereken konular arasındadır.

Kortikosteroidler, aminosalisilatlar, immünomodülatuar ilaçlar, antibiyotikler ve eikosanoid metabolizması üzerinde etkili ilaçlar, inflamasyonun genel bulgularını baskılayan spesifik olmayan ilaçlardır. Mast hücresi stabilizatörleri, balık yağı, sükralfat ve kısa zincirli yağ asitleri içeren lavmanlar ise mekanizmaları bilinmeyen ajanlardır. Dolayısıyla diğer çeşitli radikal tutucu ajanların (örn. süperoksid dismutaz) ÜK ve CH tedavisinde yeni farmakolojik ajanlar olarak kullanılmaları üzerinde araştırmalar devam etmektedir. ROM'leri bütün dokularda metabolik yan ürünler olarak üretilmektedir. Bu ürünlere karşı tüm hücrelerde mevcut olan antioksidan mekanizmaların başında süperoksid dismutaz gelmektedir. Bu dismutasyon reaksiyonunun yan ürünü olarak H_2O_2 ve O_2^- oluşumuna rağmen, bu madde de katalaz ve glutatyon peroksidazın katalizlediği reaksiyonlar ile ortamdan uzaklaştırılmaktadır (81).

Hidrojen peroksidin ÜK patogeneğinde öncelikli bir ajan olduğu düşünülecek olursa alt organellerde H_2O_2 'nin oluşumundan başlayarak sonuçta ÜK gelişimine kadar olayların patogenetik zinciri mantıklı bir şekilde gösterilmelidir. Sonuç olarak biyolojik enzim sisteminin H_2O_2 'yi nötralize etmesi engellendiği zaman; kalın barsak epitelinde hücre içi nötralize edilmemiş H_2O_2 'yi arttırarak ÜK'ya yol açabileceğini göstermektedir. Üretilen oksijen metabolik ürünleri (süperoksid, hidroksil radikalleri, H_2O_2) hücre içi enzimatik (süperoksid dismutaz ve katalaz) ve non-enzimatik (GSH) yolla kontrol edilir. Artmış oksidatif stress ve azalmış antioksidan defans, İBH mevcut hastaların mukosal biyopsilerinde izlendi (82). Çalışmalar sonucunda bazı deneysel antioksidan terapinin (vitamin E, selenyum, trimetazidine gibi.) ülseratif kolit modelinde yararlı sonuçları gözlemlendi (83-85).

2.6. Ülseratif Kolitin Kliniği

Ülseratif kolitin tipik semptomu kanlı mukuslu dışkılamadır ve hastaların %90-95'inde görülür (21). Hasta her seferinde az miktarda olmak üzere, gece-gündüz, sık sık dışkılar (86). Tenezm olabilir. Ülseratif kolit sadece rektumu tutmuş ise kan dışkının sadece yüzeyindedir, ancak inflamasyon daha proksimale yayılmışsa dışkıyla karışık olacaktır. Postprandiyal diyare siktir. Dışkı kaçıracağı hissi ile ani dışkılama ihtiyacı, hatta inkontinans bile olabilir. Karın ağrısı, ateş, halsizlik ve kilo kaybı meydana gelebilir. Bazen özellikle sadece rektum tutulumlu yaşlı hastalarda, rektal spazmdan dolayı kabızlık görülebilir (87).

ÜK'in klinik formları; nüks ve remisyonlarla karakterli kronik tekrarlayıcı, sürekli aktivasyon bulguları ile karakterli kronik devamlı ve şiddeti ne olursa olsun tek bir atak ile karakterli akut fulminan form olmak üzere üç tiptir. En çok kronik tekrarlayıcı gidiş gösterirler (21).

Hastalığın şiddeti ile ilgili klinik kriterler Truelove ve Witts tarafından konulmuştur; basit, uygulaması kolay, değeri kanıtlanmış kriterlerdir (88).

Buna göre:

Hafif ÜK: Günde 4 kereden az kanlı veya kansız dışkılama, sistemik rahatsızlık yok, sedimentasyon normaldir.

Orta ÜK: Minimal sistemik rahatsızlık, günde 4 kereden fazla dışkılama vardır.

Ağır ÜK: Günde 6 kereden fazla kanlı dışkılama, ateş, taşikardi, anemi, ESR 30 mm/saat üzerindedir.

Hastalığın şiddetini değerlendirmede klinik verilerin yanı sıra kalın barsağın endoskopik görüntülenmesi (89), histolojik kriterler (90) ve laboratuvar verileri kullanılır.

Kalın Barsağın Endoskopik Değerlendirmesi:

0- Normal mukoza

1- Vasküler patern kaybı

2-Granüler ancak non-frajil mukoza

3-Frajil mukoza

4-Spontane kanama, ülserasyon

Histolojik Değerlendirme:

1-Özelliksiz inflamasyon

Lenfosit odakları ve kronik inflamasyona ait değişiklik görülebilir ancak kriptom abseleri, epitelyal destrüksiyon ve akut inflamasyon yoktur.

2-Orta ve hafif inflamasyon

Ödem, vaskülarite ve kronik inflamasyon hücrelerinde artış ancak epitelyum sağlamdır.

3-Ağır inflamasyon:

Akut ve kronik inflamasyon hücrelerinin yoğun infiltrasyonu, kript abseleri, epitelyumda ülserasyon ve pürülan eksuda vardır.

Aktif hastalıkta serum akut faz reaktanlarında da değişimler görülür. C-Reaktif Protein (CRP), trombosit sayımı ve eritrosit sedimentasyon hızı (ESR) artarken hemoglobin ve albumin seviyesi düşer (91).

2.7. Ülseratif Kolitin Tıbbi Tedavisi

ÜK medikal tedavi ile tamamen ortadan kaldırılamayan bir hastalıktır. Tedavinin amaçları; hastayı remisyona sokmak, remisyonda uzun süre kalmasını sağlamak ve gelişen komplikasyonların düzeltilmesidir. ÜK'in etyopatogenezi hakkında bilgilerimiz geliştikçe, tedavi daha gerçekçi bir zemine oturmaktadır. Ancak hastalığı başlatan faktör belli olmadığı için günümüzde ne yazık ki nedene yönelik bir tedavi yapmak mümkün olmamaktadır. ÜK'in medikal tedavisi gelişen immünolojik olayları ve dolayısıyla inflamatuvar kaskadı baskılamak ve mukozal onarımı sağlamaktır (92,93). ÜK'in tedavi protokolü Tablo 3'te kısaca özetlenmiştir (94). ÜK tedavisinde kullanılan ilaçlar ise Tablo 4'te verilmiştir (95).

Tablo 3. Ülseratif kolit tedavi protokolü (94)

	Distal ve Sol kolit	Ekstensif / Pankolit
Hafif aktivite	Oral ya da topikal aminosalisilatlar topikal kortikosteroidler	Oral aminosalisilatlar
Orta aktivite	Oral ya da topikal aminosalisilatlar topikal kortikosteroidler	Oral aminosalisilatlar
Ağır aktivite	Oral ya da IV kortikosteroidler Topikal kortikosteroidler	Oral ya da IV kortikosteroidler IV siklosporin
Fulminan Hastalık	IV kortikosteroidler IV siklosporin	IV kortikosteroidler IV siklosporin
Refrakter Hastalık	Oral ya da IV kortikosteroidlere ek olarak oral azotioprin ya da merkaptopurinler	Oral ya da IV kortikosteroidlere ek olarak oral azotioprin ya da merkaptopurinler
Remisyon	Oral ya da topikal aminosalisilatlar Oral azotioprin ya da merkaptopurinler	Oral ya da topikal aminosalisilatlar Oral azotioprin ya da merkaptopurinler

Tablo 4. Ülseratif kolitin tedavisinde kullanılan ilaçlar (95)

		İlaç ismi	Doz	Uyarılar
Geleneksel İlaçlar	5-ASA	Sülfasalazin (Sulfapyridine + 5-ASA)	Başlama Dozu: 1 gr/gün İdame Dozu: 2 gr/gün Maks. Dozu: 4 gr/gün	Böbrek ve karaciğer yetmezliği, kan diskrezileri, üriner obstrüksiyon, hipospermi
		Mesalamin (5-ASA)	Asacol 3x800 mg Pentasa 4x1 gr Rowasa Enema: 1x4gr Canasa spp:2x1	Böbrek ve karaciğer yetmezliği
		Balsalazid (5-ASA+amino benzoyl β alanin)	2,25 gr 3x1/gün	Böbrek yetmezliği, pilor stenozu, 12 haftanın üzerinde kullanılması önerilmez
	Kortikosteroidler	Metil prednizolon	48-60 mg/gün	Akne, hipertansiyon, Osteoporoz, Kılınma artışı, Katarakt, Glokom, Diyabet, Adrenal süpresyon, Osteonekroz, gelişme geriliği, barsak perforasyonu
		Prednizon	40-60 mg /gün	Osteoporoz, Psikoz, Myopati Diyabet, Adrenal süpresyon, Osteonekroz, gelişme geriliği, peptik ülser
	Antibiyotikler	Ciprofloksasin	500 mg 2x1	Uzamış tedavi de Karaciğer, Böbrek ve Kemik iliği toksisitesi, süperenfeksiyon riski artar.
		Metronidazol	Başlangıç dozu: 15 mg/kg/gün IV İdame dozu: 7.5 mg/kg/gün IV	Karaciğer yetmezliği, epileptik nöbet, periferik nöropati
İmmün Modülatör İlaçlar	Azatioprin	1,5-2,5 mg/kg/gün	Neoplazi riski artar, karaciğer ve böbrek yetmezliği, hematolojik toksisite, pankreatit	
	6-Merkaptopürin	1,5 mg/kg/gün	Karaciğer ve böbrek yetmezliği, kemik iliği süpresyonu, pankreatit	
	Siklosporin	4mg/kg/gün	Karaciğer ve böbrek yetmezliği, lenfoma ve epilepsi riski artar.	
	Metotreksat	25 mg/hafta 1M	Mukozit, gingivitis, ishal, anoreksi, uzun süreli kullanımda karaciğer fibrozu, cilt döküntüsü, fotosensitivite, telenjiektazi	
	Tacrolimus	0.1-0.2 mg/kg/gün	Nefrotoksisite, nörotoksisite, hipertansiyon, hiperkalemi, hiperglisemi, diabet	
Biyolojik Tedaviler	İnfliximab	Başlangıç dozu:5mg/kg IV (0,2,6. hafta) İdame dozu:5mg/kg IV 8 haftada bir	Lenfoma, süperenfeksiyonlar, tbc ve diğer granülatöz hastalıkları reaktifte edebilir	

2.8. N-Asetilsistein ve Beta-Glukan

Moleküler oksijen varlığında adenozin-trifosfat (ATP) üretiminin asıl yapıldığı organel mitokondridir. Oksijenin yaklaşık %2 fraksiyonu mitokondri ve çevresinde superoksid ve diğer reaktif oksijen metabolitlerine (ROM) dönüştürülür. ROM'un ler, proteinler ve DNA gibi biyolojik moleküllere hasar vermesinin yanında, aerobik yaşamın sürdürülmesinde önemli role sahip olduğunu daha önce belirtmiştik. Mitokondri, serbest radikal oluşumunun asıl yeri olduğu için membranının her iki tarafında ve organelde oksidatif stresi en aza indirebilmek için glutatyon ve superoksid dismutaz, glutatyon peroksidaz gibi birçok antioksidan enzimler ile zenginleştirilmiştir (96). ROM oluşumunun patofizyolojik önemi geniş bir hastalık yelpazesinde ve yaşlanma ile ilgili dejeneratif bozukluklarda rol oynamaktadır. Bu durumlar arasında kardiyovasküler ve inflamatuvar hastalıkları, alzheimer, parkinson gibi nörodejeneratif bozuklukları ve kanseri sayabiliriz. Ayrıca diabete bağlı polinöropatiler, katarakt oluşumu, iskemi/reperfüzyon hasarı gibi durumlarda da reaktif oksijen türevlerinin rolü bulunmaktadır. Antioksidanlar ise hücreleri oksidatif hasara karşı koruyabilmekte ve hücresel düzeyde hastalığın başlamasını önlemekte ya da ilerlemesini geciktirebilmektedirler (97).

2.8.1. Beta-Glukan (B-Glukan)

Beta-glukan, ekmek mayasında, tahılda ve mantarlarda bulunan, hücre duvarının yapısında yer alan fiber formda bir polisakkarittir (98). Doğal mayada ve mantarlarda temel olarak b-1,3 glukan veya b-1,6 glukan olarak bulunur. Glukan, 6,5 kD moleküler ağırlığa sahip, zimosandan elde edilen bir b-1,3 linked glukopironaz polisakkarittir ve makrofaj/monosit hücre serilerinin potent aktivatörü ve retikuloendotelial sistemde pek çok stimülatör etkiden sorumlu olduğu gösterilmiştir (99). B-glukanların immünmodülatör potansiyelleri lökositleri aktive etmeleridir. İmmün ve non-immün hücrelerde b-glukanları tanıyan çeşitli reseptörler tanımlanmıştır. Bunlar tip 3 kompleman reseptörleri, scavenger (çöpçü) reseptörler, laktosilsermid ve dectin-1 reseptörleridir. Dectin-1'in solubl ve parçalı b-glukanlar için makrofajlar üzerindeki majör reseptör olduğu gösterilmiştir. Ayrıca yakın zamanda dectin-1'in b-glukan ile oluşan proinflamatuvar sitokin üretimi ve hücresel immün yanıtı aracılık ettiği saptanmıştır (100). Çeşitli raporlar oral alınan b-glukanların biyolojik etkileri ortaya çıkaracağını gösterir (20,101). Rice ve ark. (102), ratlarda floresan etiketli b-glukanın oral alındıktan kısa bir süre sonra kana karıştığını göstermiştir. Ticari olarak kullanılan b-glukan ekstresi genellikle ekmek mayasından yani "Saccharomyces cerevisiae" 'den elde edilir (103).

Pillemer and Ecker zimosan adı verilen ve “*Saccharomyces cerevisiae*” duvarından elde edilen b-glukanın deneysel olarak hayvanlara uygulandığında retikuloendotelyal sistemde hiperplazi ve hiperfonksiyona neden olduğunu göstermişlerdir (104). Bunun dışında *Phellinus linteus* veya *Sparassis crispa* gibi mantarlardan elde edilen pek çok b-glukan preparatı mevcuttur. Değişik moleküler ağırlıklara ve kimyasal varyasyonlara bağlı olarak etkilerinin değişik düzeylerde olduğu bildirilmekle birlikte, b-glukanın temel etkileri şu şekilde sıralanabilir:

- 1- İmmunmodülasyon
- 2- Antikarsinojenik etkiler
- 3- düşürücü etkiler
- 4- Kan şekeri düşürücü etkiler

B-glukanın in vivo uygulanması ile çeşitli infeksiyonlara ve tümör gelişimine karşı konak yanıtında bir artış bildirilmiştir (105,106). Bunun üzerine yapılan pek çok klinik çalışmada tümör immünoterapisi ve cerrahi sonrası infeksiyonların önlenmesinde b-glukan olumlu sonuçlar vermiştir. Farklı b-glukanların farklı etkilere sahip olmasında molekül ağırlıklarının ve dallanma yapılarının etkin olduğu öne sürülmesine rağmen henüz tam olarak açıklanamamıştır. İn vitro çalışmalarda büyük moleküler ağırlıklı veya partiküllü b-glukanların lökositlerin fagositik, sitotoksik aktivitelerini arttırarak reaktif oksijen ve nitrojen aracılı antimikrobiyal aktivitelerini arttırdığı ve direk olarak lökositleri aktif hale getirdiği ve ayrıca IL-8, IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi sitokinleri stimüle ettikleri gösterilmiştir (107). Aynı zamanda b-glukanın kalın barsak, karaciğer ve spinal kord hasarında oluşan oksidatif strese dokuları koruyarak antioksidan etki gösterdiği çalışmalarda saptanmıştır (12-110).

Daha önce yapılan bir çalışmada oral ve/veya intraperitoneal yolla verilen b-glukan'ın kalın barsak mukoza hasarında ve MPO aktivitesinde azalma yaptığı gözlenmiştir (111).

2.8.2. N-Asetilsistein (NAC)

NAC L-sisteinin N-asetil derivativesidir. 1960 yılında geliştirilmiştir. Disülfid bağlarını azaltarak mukus elastisitesini ve viskozitesini azaltmak için nontoksik olması nedeniyle sıkça kullanılmaktadır. Moleküler ağırlığı 163,2 g/mol ve moleküler formülasyonu C₅H₉NO₃S'dir.

NAC antioksidan özelliklere sahip bir ajandır (112,113). GSH sentezinde bir substrat olarak görev alır. GSH düşük molekül ağırlıklı bir tiyoldür. Glutamat, sistein ve glisinden sentezlenir. Bu sentez sitozolik enzimler olan gama glutamil sistein sentetaz ve glutatyon

sentetaz tarafından katalizlenir. GSH antioksidan defansda önemli rol oynar. En önemli endojen antioksidandır. NAC'ın antioksidan fonksiyonu moleküler yapısı ile açıklanabilir. SH grupları nedeniyle NAC, O_2^- ve H_2O_2 gibi oksidanlar ile direkt olarak etkileşir. Bu reaksiyonda iki NAC molekülü bir disülfit bağımlı oksitler. Böylece O_2^- içeriği düşüş gösterir. NAC, tiyol grubu içeren diğerleri gibi (örn. GSH) bir OH^- radikal yakalayıcısıdır. NAC'ın antioksidan etkisine ek olarak hücrel GSH sentezinde rol aldığını, hayvan ve hücre kültürlerinde oksidan hasarı önlediği veya azalttığını gösteren pek çok çalışma vardır. 10^{-5} M üstünde NAC alınması intrasellüler GSH seviyesinde yaklaşık olarak 10 kat artış oluşturur. Yapılan çalışmalarda sığır pulmoner arter epitel hücreleri ve tip 2 epitel hücrelerinin sistini sistinden daha iyi transport edebildiği görülmüştür. Hücrel GSH sentezinde ana substrat sistein gibi görünmektedir. Sisteinin sistine indirgenmesinden ve/veya NAC'ın N-deasetilasyonundan sistein oluşmaktadır. Tartışılan ek mekanizmalara rağmen hücrel GSH prekürsörleri için anahtar mekanizma NAC'ın N-deasetilasyonu gibi görünmektedir. Antioksidan etkisine ek olarak NAC'ın antiinflamatuvar yeteneği de bulunmaktadır. NAC'ın oral alımı sonrası bronkoalveolar lavaj sıvısında (BAL) hümmoral markırlar düşük bulunmuştur.

Yaklaşık olarak 6 gramın üzerinde parasetamol alımı hücrel GSH depolarını tüketir ve karaciğer nekrozuna yol açar. NAC'nin %70 karaciğerde metabolize olmasından dolayı parasetamol intoksikasyonunda etkisi kanıtlanmıştır. NAC, GSH ile konjuge olarak karaciğerde hücre içi etkin bir sistein sağlayıcı prekürsör olarak rol oynar (114). Sistein de hücre içinde GSH'e transforme olur. Hücre içi sistein artışı, antioksidan etkiyle intestinal mukozayı koruyucu etki gösterir (115). İn vivo ve in vitro çalışmalarda sadece çok yüksek konsantrasyonlarda kemotaksisi azalttığı ve polimorfonükleer lökosit sitotoksitesini artırdığı gözlenmiştir. Biyoyararlanımı az olduğu için bu konsantrasyonlara insanlarda ulaşmak mümkün değildir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Deney Hayvanları

Bu deneysel çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Laboratuvarı Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nde, Kasım 2009 - Mart 2010 tarihleri arasında gerçekleştirildi. Çalışma ile ilgili olarak Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun onayı alındı (06.10.2009 Tarihli Etik Kurul Oturum No: 2009/8 – Karar No:3). Çalışmada kullanılacak ratlar, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Barınağı'ndan temin edildi. Çalışmada ağırlıkları 275–300 gram arasında değişen, 28–32 haftalık 50 adet Wistar-Albino erkek rat kullanıldı. Ratlar deneyden 1 hafta önce laboratuvar koşullarına alınarak, 21⁰C'de barındırıldı ve standart rat yemi ile beslendi. Ratlar, deneyden bir gece önce su serbest olmak üzere aç bırakıldı.

3.2. Deney Grupları ve Tedavi protokolü

Gruplar randomize olarak her biri 10'ar rat'dan oluşan 5 gruba ayrıldı.

I. Grup (Kontrol Grubu): Ratlara intrarektal bir kez ve çalışma boyunca günde bir kez (6 gün) intragastrik 1cc saline uygulandı.

II. Grup (Kolit Grubu): Ratlara kateterizasyon ile 1ml %4 lük AA intrarektal verilip kolit oluşumu tetiklendi. Kolit tetiklenmeden 1 saat önce ve 6 gün boyunca günde bir kez 1cc intragastrik saline verildi.

III. Grup (Kolit + B-gukan grubu): Ratlara kateterizasyon ile 1ml %4 lük AA intrarektal verilip kolit oluşumu tetiklendi. Kolit tetiklenmeden 1 saat önce ve 6 gün boyunca günde bir kez intragastrik olarak 100 mg/kg b-glukan verildi.

IV. Grup (Kolit + NAC grubu): Ratlara kateterizasyon ile 1ml %4 lük AA intrarektal olarak verilip kolit oluşumu tetiklendi. Kolit tetiklenmeden 1 saat önce ve 6 gün boyunca günde bir kez intragastrik olarak 200 mg/kg NAC verildi.

V. Grup (Kolit + β -gukan + NAC grubu): Ratlara kateterizasyon ile 1ml %4 lük AA intrarektal olarak verilip kolit oluşumu tetiklendi. Kolit tetiklenmeden 1 saat önce ve 6 gün boyunca günde bir kez intragastrik olarak 200mg/kg NAC ve 100mg/kg β -glukan birlikte verildi.

Ratlara, kolit oluşturulmadan önce eter anestezi uygulandı. Deney süresince spontan solunuma bırakıldı. Deneysel kolit MacPherson ve Pfeiffer 'ın tarif ettikleri şekilde oluşturuldu (116). Bu metoda göre 6 F pediatrik kateter rektal yoldan 6 cm içeri itildi. Bu kateterden %4 lük asetik asit (AA) 1ml kadar verildi. AA verildikten sonra 2 ml hava kateterden kalın barsak içine verilerek AA'in daha iyi yayılması sağlandı. Daha sonra sıçanlar

verilen maddenin kaçmasını engellemek için trendelenburg pozisyonunda bekletildi (yaklaşık 45 saniye).



Resim-1 Asetik Asit Uygulanması

3.3. Kalın Barsak Hasarının Değerlendirilmesi

Sıçanlar 7 gün sonunda genel anestezi altında servikal dekapitasyonla kurban edildi. Tüm operasyonlar steril olmayan temiz koşullarda yapıldı. Karın alt kısmına 3-4 cm insizyon yapılarak batına girildi. Bütün sıçanlarda rektum ve proksimalini içeren 8 cm lik distal kalın barsak çıkarıldı. Alınan kalın barsak rezeksiyon materyalindeki fekal içerik saline ile hafifçe temizlendi.



Resim 2 –Median insizyon ve diseke edilen distal kalın barsak

3.3.1. Mikroskopik Analiz

Çıkarılan kalın barsak örnekleri 2 parçaya ayrıldı. Parçalardan biri % 10 luk formaldehit içine konularak histopatolojik tetkike gönderildi. Diğer parça ise MDA, SOD, KAT, glutatyon peroksidaz ve myeloperoksidaz tayini için aliminyum folyo içinde -20 °C de derin dondurucuya konuldu. Histolojik analizler Yamamoto ve ark'nın tariflediği şekilde yapıldı. Kısaca, parafin bloklar oluşturulduktan sonra alınan kesitler hemotoksileneozin(H&E) ile boyanıp mikroskop altında incelendi. Kalın barsak mukozasındaki mikroskobik değişiklikler 0–3 değerleri arasında derecelendirildi (117).

Tablo–5: Kalın barsak mukozasındaki mikroskobik bulguların skorlanması (117)

SKOR	BULGU
0	Normal epitel, hücrelerde şişme yok, normal kript görünümü mevcut, düşük düzeyde monosit infiltrasyonu, ya hiç ya da çok az nötrofil infiltrasyonu
1	Tek epitel hücre kaybını ifade eder. Epitelyumda orta derecede şişme, 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

Diğer kalın barsak doku örnekleri folyodan çıkarıldıktan sonra 0,25 M soğuk sukroz içerisinde homojenize edildi ve 14000 rpm de santrifuj yapıldı. Oluşan supernatanda ise biyokimyasal parametreler çalışıldı.

3.4. Biyokimyasal Değerlendirme

3.4.1. Myeloperoksidaz (MPO) Tayini

MPO enzim aktivitesi tayini enzimatik yöntemle kinetik olarak Shimadzu UV 1601 (Japan) spektrofotometre ile ölçüldü ve O-dianisidin metodu kullanıldı (118). Bir ünite MPO aktivitesi, bir dakikada 1 µmol peroksidi indirgeyen enzim aktivitesi olarak tanımlandı. Reaksiyon karışımı 0,3 ml fosfat tamponu (Ph:6,0), 0,3 ml hidrojen peroksit, 0,5 ml O-dianisidin ve 10µl örnek'ten oluşmaktaydı. Absorbans değişimi 460 nm' de 10 dakika süreyle izlendi. Enzim aktivite sonuçları U/mg protein olarak verildi.

3.4.2. Malondialdehid (MDA) Aktivitesinin Ölçümü

(Lipid peroksidasyonu Değerlendirilmesi)

Poliansatüre yağ asidlerinin peroksidasyonu ile oluşan son ürünlerden birisi MDA' dır. Rat kalın barsak dokusu MDA tayininde, Okhawa ve arkadaşları tarafından geliştirilen metod kullanıldı (119). Rat kalın barsak dokusu %10 (w/v) olacak şekilde pH 7,4 fosfat tamponu içinde homojenize edildi. Dokular santrifuj edildi ve süpernatant MDA tespitinde kullanıldı. Süpernatantlardan 0,1 ml alınarak kapaklı cam tüplere aktarıldı. Üzerlerine sırasıyla %8,1'lik

0,1 ml sodyum dodesil sülfat, 0.75 ml asetik asetik, 0.75 ml tiyobarbitürik asit ve 0,3 ml distile su ilave edilerek vortekslendi. Kapakları sıkıca kapatılan tüpler kaynar su banyosunda 60 dk. süreyle tutuldu. Bu sürenin bitiminde tüpler musluk suyu altında soğutuldu. Soğuyan tüplere 0,5 ml distile su ve 2,5 ml n-butanol-pridin karışımı ilave edilerek iyice vortekslendi. Tüp içerikleri PVC tüplere aktarıldı ve 4°C’de 4000 rpm’de 15 dk. Süreyle santrifuj edildi. Tüplerin üst kısmındaki pembe renkli organik fazın absorbandsı 532 nm’de distile su ile aynı şekilde çalışılan köre karşı okutuldu. Değerlendirme standart egri üzerinden yapıldı. Standart seri hazırlamak için stok MDA çözeltilisinden 100 nmol/ml yoğunlukda olacak şekilde hazırlandı. Ara stoktan 2,5; 5; 10; 20; 40; 50 nmol/ml yoğunluklarda olacak şekilde tetrametoksiopropana karşı MDA üretimi sağlandı. Sonuçta oluşan MDA yoğunlukları dokunun yaş ağırlığının her bir gramındaki nmol cinsinden MDA olarak tariflendi.

3.4.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx) Aktivite Tayini

Glutasyon Peroksidaz aktivitesi süpernatantta Beutler yöntemiyle saptandı (120). Aşağıdaki reaktifler tarif edildiği şekilde tüplere konuldu. Tüpler 37°C de 10 dakika inkübasyona bırakıldı.

Kullanılan Reaktifler

- 1.1M Tris-HCl p H 8.0 tampon
2. 0,1 M GSH (Glutasyon),
- 3.10 U/ml GR (Glutasyon Redüktaz)
- 4.2 mM NADPH (Nikotinamid adenin dinukleotid fosfat)
- 5.7 mM t-butil hidroperoksit

İnkübasyon sonrası örnekler 1 cm kuvars küvete konuldu. 10µl 7 Mm t-butil hidroperoksit konulduktan sonra okuma başlatıldı. Tepkime 37°C de enzim tarafından oksitlenen 1µmol NADPH‘ın 340 nm dalga boyunda ışık yolu 1 cm olan kuvars küvetlerde optik dansitedeki azalışı kinetik olarak 2,5 dakika süreyle okundu. U/ml biriminden ölçülen GSH-Px aktivitesi örnekte saptanan protein değerine bölünerek enzim spesifik aktivite sonucu U/mg protein biriminden verildi.

GSH-Px Spesifik Aktivitesi (U/mg protein): $\frac{\text{GSH-Px Değer(U/ml)}}{\text{Protein (mg/ml)}}$

Protein (mg/ml)

3.4.4. Katalaz (KAT) Aktivite Tayini

Katalaz aktivitesi Aebi'nin yöntemine göre, H₂O₂ konsantrasyonundaki azalma 1 dakika boyunca spektrofotometrik olarak 240 nm'de takip edilerek çalışıldı (121). Dondurulmuş olan dokular analiz günü kademeli olarak çözüldükten sonra M/15 fosfat tamponu (pH 7.0) kullanılarak 1/5 (w/v) oranında homojenize edildi. Homojenatlar 2000xg'de, +40C'de, 10 dk, ardışık iki kere santrifuj edildikten sonra berrak süpernatantlar katalaz analizinde kullanıldı. Tüm örneklerde çalışmalar iki kez tekrarlandı. Bulunan katalaz aktiviteleri değerleri doku protein düzeyine oranlanarak sonuçlar U/mg protein olarak ifade edildi.

3.4.5. Süperoksid Dismutaz (SOD) Aktivite Tayini

Ksantin+ksantin oksidaz sisteminin ürettiği süperoksid anyonunun yol açtığı nitrobluetetrazolium (NBT) indirgenmesinin inhibisyonu ile SOD aktivitesi tespit edilmektedir (122). Dondurulmuş olan dokular analiz günü kademeli olarak çözüldükten sonra 50 mM fosfat tamponu (pH 7.8) kullanılarak 1/5 (w/v) oranında homojenize edildi. Homojenatlar 2000xg'de, +4 °C'de, 10 dk, ardışık iki kere santrifuj edildikten sonra berrak süpernatantlar SOD analizinde kullanıldı. Dokularda endojen NBT redüktaz aktivitesi olup olmadığı kontrol edildi. Tüm örneklerde çalışmalar iki kez tekrarlandı. 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 2.5, 5, 10, 12.5, 20, 25, 40, 50, 80, 100, 160, 200 µg/ml standart SOD çözeltileri hazırlanarak kalibrasyon eğrisi hazırlandı. NBT indirgenmesini %50 oranında inhibe eden SOD miktarı 1 ünite olarak tanımlanmaktadır. Bulunan SOD aktiviteleri değerleri doku protein düzeyine oranlanarak sonuçlar U/mg protein olarak ifade edildi.

3.4.6. Doku Protein Analizi

Protein düzeyi Lowry metoduyla ölçüldü (122).

3.5. İstatiksel Analiz

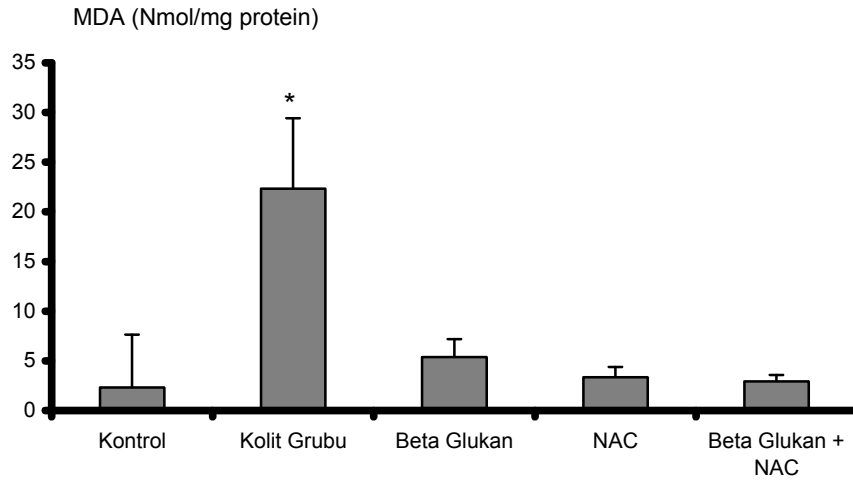
İstatistik değerlendirme; bilgisayar ortamında, Statistical Package for the Social Sciences (SPSS 11.0 version) programında yapıldı. Sonuçlarımız ortalama ± standart sapma şeklinde verildi. Grupların biyokimyasal parametreleri ve histolojik karşılaştırılması için One Way Anova ve Post-Hoc testi kullanıldı. Her iki test içinde p<0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Doku MDA ve MPO Düzeyleri

4.1.1. MDA Düzeyleri

Lipid peroksidasyon göstergesi olarak MDA düzeyleri değerlendirildiğinde; kolit grubunda MDA düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede artmış olduğu tespit edildi ($p<0.05$). NAC, b-glukan ve kombinasyon grubunda MDA düzeyleri kolit grubuna göre anlamlı derecede düşük saptandı ($P<0.05$). Tedavi grupları arasında istatistiki fark saptanmadı (Şekil 2).

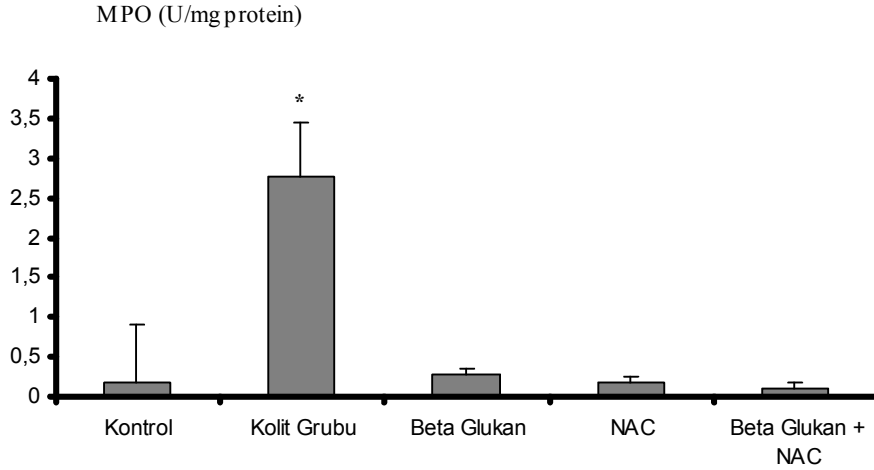


Şekil 2. NAC ve b-glukan'ın kalın barsak MDA düzeyleri üzerine etkileri

* : $p<0.05$ Diğer gruplardan anlamlı farklı bulunmuştur.

4.1.2. MPO Düzeyleri

MPO düzeyleri açısından değerlendirildiğinde ise; kolit grubunda MPO aktivite düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede artmış olduğu tespit edildi ($p<0.05$). NAC, b-glukan ve kombinasyon grubunda MPO düzeyleri kolit grubuna göre anlamlı derecede düşük saptandı ($P<0.05$). Tedavi grupları arasında istatistiki fark saptanmadı (Şekil 3).



Şekil 3. NAC ve b-glukan'ın kalın barsak MPO aktiviteleri üzerine etkileri

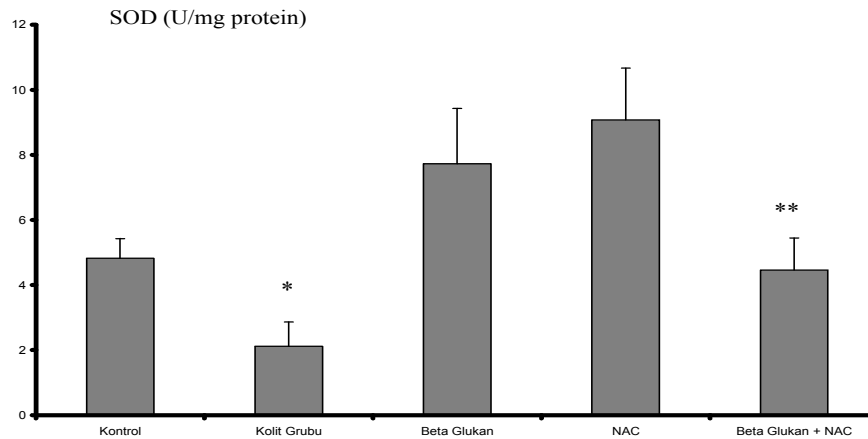
* : $p < 0.05$ Diğer gruplardan anlamlı farklı bulunmuştur.

4.2. Doku Antioksidan Aktiviteleri

4.2.1. Doku SOD Aktivitesi

Kalın barsak dokusunda antioksidan belirteç olarak; SOD, KAT, GPx düzeyleri değerlendirildi.

AA uygulanması ile kolit grubunda SOD aktivite düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşmüş olduğu tespit edildi ($p < 0.05$). NAC, b-glukan ve kombinasyon grubunda SOD düzeyleri kolit grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptandı ($P < 0.05$). Ancak bu artış kombine grubunda daha az seviyede izlendi.



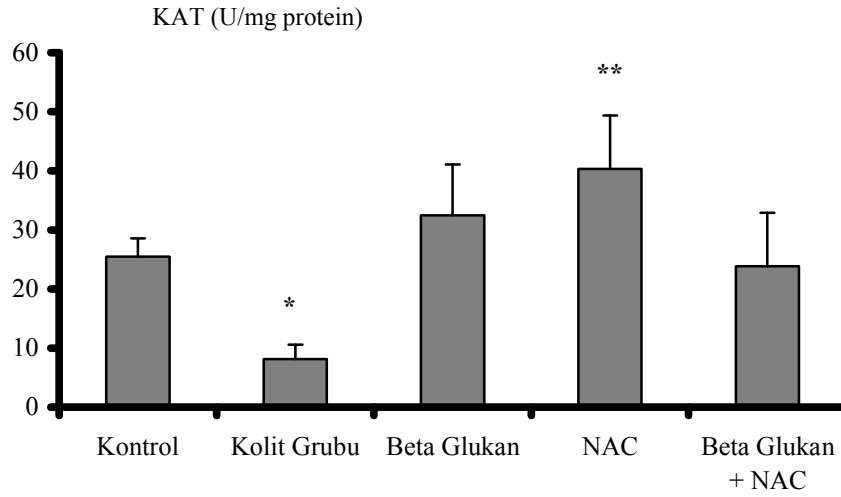
Şekil 4. NAC ve b-glukan'ın kalın barsak SOD aktiviteleri üzerine etkileri

* : $p < 0.05$ Diğer gruplardan anlamlı farklı bulunmuştur.

** : $p < 0.05$ Diğer tedavi grupları ile arasında anlamlı fark var.

4.2.2. Doku KAT Aktivitesi

KAT aktivite düzeyleri değerlendirildiğinde; kolit grubunda KAT aktivite düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu tespit edildi ($p<0.05$). NAC, b-glukan ve kombinasyon verilen grublarda KAT düzeyleri kolit grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptandı ($P<0.05$) (Şekil 5).



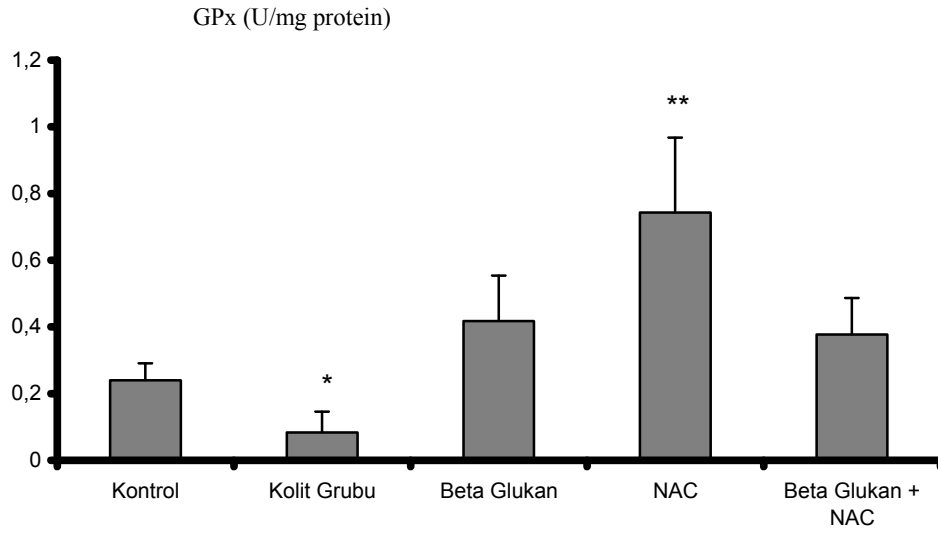
Şekil 5. NAC ve b-glukan'ın kalın barsak KAT aktiviteleri üzerine etkileri

* : $p<0.05$ Diğer gruplar ile arasında anlamlı fark bulunmuştur

** : $p<0.05$ Kontrol grubu, kolit ve kombine grubu ile arasında anlamlı fark bulunmuştur

4.2.3. Doku GPx Aktivitesi

Kalın barsak dokusu GPx aktivite düzeyleri değerlendirildiğinde; kolit grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark gözlenmedi. Ancak tedavi verilen gruplarda GPx aktivite düzeyi kolit grubundan anlamlı yüksek saptandı ($p<0,05$) (Şekil 6).



Şekil 6. NAC ve b-glukan'ın kalın barsak GPx aktiviteleri üzerine etkileri

* : $p < 0.05$ Tedavi gruplarından anlamlı olarak farklı bulunmuştur.

** : $p < 0.05$ Diğer gruplardan anlamlı olarak farklı bulunmuştur.

4.3. Histopatolojik Bulgular

Histolojik skorlama Yamamoto ve ark.'nın tariflediği şekilde yapıldı (Tablo 5). Kalın barsak mukozası mikroskobik değişiklikler 0–3 değerleri arasında derecelendirildi (117).

Grupların histopatolojik analizlerinde, kontrol grubunda hiç hasar oluşmazken kolit grubu en fazla hasarın gözleendiği grup olmuştur. Tedavi verilen grupların kolit grubuyla ve kendi aralarında karşılaştırmaları yapıldığında birbiriyle aralarında istatistiksel anlamlı fark tespit edilmemiştir ($p > 0.05$).

Tablo 6. Grupların Histopatolojik Skor Ortalamaları

	Histolojik skor (Ort ± SS)
Kontrol Grubu	0,00 ± 0,00
Kolit Grubu	1,66 ± 1,36
Beta-Glukan Grubu	1,40 ± 1,26
NAC Grubu	0,50 ± 1,08
BG+NAC Grubu	0.90 ± 1.19

5. TARTIŞMA

Deneysel kolit modelinde asetik asit (AA) oldukça sık kullanılan bir ajandır (123). Asetik asite bağı kolit modelinde, kalın barsak mukozasının makrofaj ve nötrofil infiltrasyonu ve çeşitli inflamatuvar mediatörlerin artmış üretimini indüklediği ortaya konmuştur (124). Asetik asite bağı kolit modelinin mekanizmasında; non-spesifik asitlerin ve çeşitli mediatörlerin salınımı sonucu oluşan kalın barsak hasarına karşı ortaya çıkan inflamatuvar yanıtın rol aldığı düşünülmektedir. Çalışmamızda, asetik asit verilmesini takiben kalın barsak örneklerinde mukozal ülserasyon, submukozal ödem, mukoza ve submukozada nötrofil infiltrasyonu gözlenmiştir.

MPO, özellikle nötrofillerden salgılanan ve daha önceki çalışmalarda kalın barsaktaki inflamasyonun kantitatif belirteci olarak kullanılan bir enzimdir (76,125). Bu çalışmada da asetik asit verilmesi ile kolit oluşturulan grupta, MPO aktivitesinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmış olduğunu gözledik. Ayrıca çalışmamızdaki mikroskopik değerlendirme sonucunda saptadığımız nötrofil sayısı artışının, MPO aktivitesi artışı ile ilişkili olabileceği düşünüldü. Buna paralel olarak N-asetilsistein, beta glukan veya kombine tedavide MPO aktivitesinin kolit grubuna göre anlamlı olarak düştüğü gözlendi. MPO aktivitesindeki bu azalma N-asetilsistein ve beta glukanın kolit modeli üzerinde antiinflamatuvar bir etkiye sahip olduklarının işareti olarak kabul edilebilir. Ayrıca, N-asetilsistein veya beta glukan uygulanması ile oksidatif stres ajanlarının oluşturduğu histolojik hasarın skoru ve inflamasyon göstergesi olan MPO aktivitesinde azalma olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (11,18,111).

Son yıllarda inflamatuvar barsak hastalığı patogenezinde reaktif oksijen ürünlerinin rol oynadığı dikkati çekmektedir ve yapılan çalışmalarda bu oksijen ürünlerinin inflame mukozada üretildiği ve patogenezinde de rol alabileceği gösterilmiştir (7,13). İnflamasyonlu dokudaki oksijen radikallerinin kaynağını, aktive olmuş lökositlerden üretilen süperoksid radikali, en reaktif hidroksil radikali ve hidrojen peroksidin oluşturduğu gözlenmiştir. Diğer süperoksid kaynaklarını ise ksantin oksidaz yolu ile oluşan süperoksid anyonları, araşidonik asit oksidasyonu sonucu meydana gelen prostoglandin ürünleri ile lökotrienler oluşturmaktadır. Bu toksik ürünlerin peroksidasyonuna neden olarak hücre membran stabilitesini bozduğu saptanmıştır (125,126). Bunun dışında myeloperoksidaz (MPO)'ın klor iyonları varlığında H_2O_2 'i parçalaması sonucu oluşan hipoklorik asit'in (HOCl), kolit gelişimindeki inflamatuvar reaksiyonda rolü vardır.

Asetik asit kalın barsaktaki enzimler tarafından H₂O₂ ve süperoksit anyonlarına metabolize olur. Oluşan metabolik ürünlerin kalın barsak için oldukça toksik olduğu ortaya konmuştur (4). 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 trimetazidine gibi antioksidanların yararlı etkileri gösterilmiştir (83-85). Yakın zamanda yapılan benzer çalışmalarda da antioksidan özellikteki zolimid ve AEOL11201 (127), L-glutamin (128), melatonin (129) ve askorbik asitin (130) kolit tablosundaki oksidatif durumda azalmaya neden olduğu gözlenmiştir.

N-asetil sistein'in antioksidan etkisi birçok çalışmada gözlenmiştir (19,112,113). N-asetilsistein, glutatyon peroksidaz enzimi tarafınca kullanılan glutatyon'un sentezinde yer alır. Bunu ise glutatyon sentezinde tiyol metaboliti kaynağı olarak yapar. Glutatyon peroksidaz aktivasyonu özellikle oksidatif stresin arttığı zamanlarda önemlidir. N-asetil sistein, MPO aktivitesi sonucu oluşan HOCl' nin güçlü bir yakalayıcısıdır. Akut deneysel kolit modelinde de NAC' nin intraperitoneal/intrarektal olarak yararlı etkileri gösterilmiştir (11,12).

Benzer şekilde, beta gluklan'nın daha önceden yapılan çalışmalarda tümör hücre çoğalmasını önleme (131-132), makrofaj aktivasyonunu artırma (133), sitokin sentezini artırma (134,135), nitrik oksit ve arasıdonik asit sentezini artırma (136,137) ve antioksidan (138,139) özellikleri saptanmıştır. Oral olarak verildiğinde sepsis, ciltde oluşan basınç ülseri, iskemi/reperfüzyon veya asetominofen ve metotreksat gibi ilaçlarla gelişen oksidatif stresten koruyuculuğu çalışmalarda gözlenmiştir (109,140). Bununla birlikte diğer bir çalışmada beta gluklan'ın oral ve intraperitoneal uygulanması ile kolit modelinde yararlı etkileri saptanmıştır (111). Ancak N-asetil sistein ve beta gluklan'ın birlikte incelendiği çalışmaya rastlanmamıştır.

Uyarılmış inflamatuvar hücrelerde reaktif oksijen radikali üretiminin artışı, ülseratif kolit hastalarında kalın barsak biyopsilerinde ortaya konmuştur (141-143). Malondialdehid (MDA) lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak bize fikir verir. Toksik kalın barsak hasarında MDA seviyesinin arttığı ve tedavi sonrasında seviyesinin azaldığı gözlenmiştir (11,144). Yapılan çalışmalarda kolit modeli ve kolit dışı model hasarlanmalarda N-asetil sistein ve beta gluklan verildiğinde MDA seviyesinde anlamlı azalmanın olduğu görülmüştür (11,12,110). Çalışmamızda N-asetil sistein, beta gluklan ve kombine tedavide MDA düzeyinin kolit grubuna göre anlamlı olarak azaldığı gözlemlendi. N-asetil sistein, beta gluklan ve kombine tedavi grupları birbirleriyle karşılaştırıldığında, anlamlı olmasada MDA düzeyindeki en çok düşmenin kombine verilen grupta olduğu gözlemlendi. Sonuçta bu da, uygulanan tedavilerin peroksidasyonu önleyerek kolit de yararlı olduğunun göstergesi olabilir.

Oksidan ve antioksidan sistem arasındaki denge ülseratif kolit'in patogenezinde ve doku hasarı ilerlemesinde oldukça önemlidir. Süperoksid dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi enzimler ile birlikte glutatyon gibi antioksidanlar hücreleri oksidatif hasara karşı korumaktadır. Süperoksid dismutaz oksidatif strese karşı dokunun savunmasında hayati önem taşımaktadır. Mevcut olan bu enzim süperoksiden H_2O_2 dönüşüm reaksiyonunu hızlandırır ve serbest radikallerden korunmada önemli bir metalloproteindir. Bunun yanında SOD enzimi H_2O_2 'nin peroksidasyonundan sorumlu bir enzimdir. Yapılan kolit modeli çalışmalarında; Dong ve ark. Kolit modelinde SOD enzimi aktivasyonunun azaldığını ancak tedavi alan grupta ise SOD aktivasyonunda kolit grubuna göre artış olduğunu gözlemişler (145). Liu ve ark.'nın yaptığı diğer bir çalışmada ise TBNS ve etanol ile oluşturulmuş kolit modelinde yine benzer SOD aktivite düzeyi elde edilmiştir (146).

Bizim çalışmamızda kolit grubunda asetik asit verilmesiyle süperoksid dismutaz ve katalaz düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı gösterildi. Bununla birlikte N-asetilsistein, beta gluklan ve kombine tedavi verilmesiyle kalın barsak dokusunda kolit grubuna göre süperoksid dismutaz ve katalaz aktivitesinde anlamlı derecede artış olduğunu gözledik.

Diğer bir antioksidan enzim olan glutatyon peroksidaz (GPx), H_2O_2 ve büyük moleküllü hidroperoksitlerinin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. Sitozolde yerleşmiş, dört selenyum atomu içeren tetramerik yapıda bir enzimdir. Yakın zamanda aydınlatılmış diğer bir glutatyon peroksidaz enzimi ise 'Fosfo-Hidroperoksit GPx' olup, buda zar yapısındaki fosfo hidroperoksitleri, alkollere indirgeyerek, özellikle E vitamini yetersizliğinde peroksidasyona karşı koruma sağlar (147). Çalışmalarda glutatyon ve glutatyon peroksidaz'ın gastrointestinal sistemde oksidatif stresten koruyucu rolleri olduğu gösterilmiştir (115). İskemi-reperfüzyon, kimyasal ajanlar, yaşlanma ve dejeneratif hastalıklar gibi birçok toksik ve patolojik durumlarda hücrelerin oksidatif ve serbest radikal hasarına karşı en önemli savunma mekanizması olduğu saptanmıştır (148). Tiyol içeren antioksidanların mide ve karaciğer üzerine protektif etkileri gözlenmiştir. Satoh ve ark. larıda sülfhidril bloker benzeri N-Etilmaleimid ve iyodo-asetamid' in kalın barsak inflamasyonunu indüklediğini ve bu sülfhidril içeren ürünlerin kalın barsak için oldukça önemli bir koruyucu olduğunu göstermişlerdir (149). Nieto ve ark. da TNBS ile oluşturulan kolit modelinde glutatyon peroksidaz düzeylerinde düşme olduğunu ortaya koymuştur (150). Diğer yandan Şenoğlu ve ark.'nın sepsis modelinde yaptığı bir çalışmada, beta-glukan ve N-Asetilsistein'in profilaktik olarak uygulanmasıyla, b-glukan grubunda SOD aktivitesinin ve antiinflamatuvar sitokin olan IL-10 seviyesinin, NAC grubundan anlamlı olarak yüksek olduğunu görmüşlerdir (12). Aynı zamanda Nosál'ová ve ark.'nın kolit modelinde yaptığı bir çalışmada ise b-glukanın oral yolla

profilaktik olarak uygulanması ile MPO düzeyi düşmesiyle paralel olarak doku hasarı önlenmesinde faydalı olduğu saptanmıştır (111).

Çalışmamızda kolit grubunda, kontrol grubuna göre glutatyon peroksidaz aktivitesi düşük olarak saptandı. Tedavi verilen tüm gruplarda ise GPx aktivitesi artmış olarak izlendi. Ancak NAC verilen grupta GPx aktivitesi en yüksek düzeyde ölçüldü. Bunun ise NAC'ın direk olarak glutatyon yapısına girerek GPx enzimi aktivasyonunda artış yapmasına bağlı olabileceği düşünüldü. Bu sonuç daha önceki çalışmalarla uyumluydu (109,151-153). Diğer yandan Beta glukanın, NAC ile kombine edilmesinin ek bir yarar sağlamaması, profilaktik olarak uygulanmamasına bağlı olabileceği düşünüldü.

6. SONUÇLAR

Literatürde kolit modeli üzerinde N-Asetilsistein, b-glukan ve kombinasyonunun karşılaştırıldığı bir diğer çalışmaya rastlanmamış olup; çalışmamızın literatürdeki ilk çalışma olduğu düşüncesindeyiz. Çalışmamızda AA ile oluşturulan kolit modelinde lipid peroksit göstergesi olan MDA ve inflamatuvar gösterge olan MPO aktivitesinde artış saptandı. Bununla birlikte antioksidan enzimlerin (SOD, KAT, GPx) aktivitesinde azalma gözlemlendi. Gerek N-Asetilsistein gerek b-glukan veya kombinasyonunun kolit tedavisinde MPO, MDA düzeylerinde azalmaya; SOD, KAT, GPx aktivitelerinde ise artışa neden olduğu saptandı.

GPX aktivitesini tedavi gruplarından en fazla NAC'ın artırdığını, MPO ve MDA düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı olmasa da en çok kombine tedavinin azalttığını gözlemledik. Diğer yandan histopatolojik skor ortalamaları, değerlendirildiğinde tedavi gruplarında kolit grubuna göre düşmüş olduğu gözlemlendi, fakat bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı değildi. Sonuç olarak çalışmamızda elde edilen bulgularla NAC ve b-glukanın AA ile oluşturulmuş kolit modelinde yararlı etkileri olduğu sonucuna varıldı. Bununla birlikte kombinasyon tedavisinin NAC ve b-glukanın tek kullanılmasına ek katkı sağlamadığı gözlemlendi. B-glukanın daha çok antiinflamatuvar olarak fayda gösterdiği düşünüldüğünde, profilaktik kullanımlarda daha etkin olabileceği ve bu nedenle bu konu ile ilgili farklı doz, sürelerde ve profilaktik tedavi kolunu da içeren başka çalışmalara ihtiyaç olduğu sonucuna varıldı.

7. KAYNAKLAR

1. Kirsner JB & Shorter RG. Recent developments in “nonspecific” inflammatory bowel disease. *N. Engl. J. Med.* 1982; 306: 775–785.
2. Jewell DP & Patel C. Immunology of inflammatory bowel disease. *Scan. J. Gastroenterol. Suppl.* 1985; 114: 119–126.
3. Keshavarzian A, Morgan G, Sedghi S, Gordon JH & Doria M. Role of reactive oxygen metabolites in experimental colitis. *Gut*, 1990; 31: 786-790.
4. Grisham MB. Oxidants and free radicals in inflammatory bowel disease. *Lancet*, 1994; 344: 859-861.
5. Rampton DS, Chander CL, Claxson AW, Blades S, Coumbe A, Panetta J, Morris CJ & Blake DR. Evaluating the antioxidant potential of new treatments for inflammatory bowel disease using a rat model of colitis. *Gut*, 1996; 39: 407-415.
6. Repine JE, Eaton JW, Anders MW, Hoidal JR, Fox RB. Generation of hydroxyl radical by enzymes, chemicals and human phagocytes in vitro. Detection with the antiinflammatory agent dimethyl sulphoxide. *J. Clin. Invest.* 1979; 64: 1642-1651.
7. Grisham MB, Granger DN. Neutrophil-mediated mucosal injury. Role of reactive oxygen metabolites. *Dig. Dis. Sci.* 1988; 33: 6-15.
8. Parks D, Buckley G, Granger N. Role of oxygen-derived free radicals in digestive tract disease. *Surgery.* 1983; 94: 415-422.
9. Craven RA, Pfanstiel J, DeRubertis FR. Role of reactive oxygen in bile salt stimulation of colonic epithelial proliferation. *J Clin Invest.* 1986; 77: 850-859.
10. Verspaget HW, Mulder TPJ, Van Der Sluys Veer A, Pena AS, Lamers CBHW. Reactive Oxygen Metabolites and Colitis; A Disturbed Balance between Damage and Protection. A selective Review. *Scand J Gastroenterology.* 1991; 188: 44-51.
11. Cetinkaya A, Bulbuloglu E, Kurutas EB, Ciralık H, Kantarceken B, Buyukbese MA. Beneficial Effects of N-Acetylcysteine on Acetic Acid-Induced Colitis in Rats. *Tohoku J. Exp. Med.* 2005; 206: 131-139.
12. Senoglu N, Yuzbasioglu MF, Aral M, Ezberci M, Kurutas EB, Bulbuloglu E, Ezberci F, Oksuz H, Ciragil P. Protective Effects of N-Acetylcysteine and -Glucan Pretreatment on Oxidative Stress in Cecal Ligation and Puncture Model of Sepsis. *Journal of Investigative Surgery.* 2008; 21: 237- 243.
13. Keshavarzian A, Seghdi A, Kanofsky J et al. Excessive production of reactive oxygen metabolites by inflamed colon: Analysis by chemiluminescence probe. *Gastroenterology* 1992; 103: 177-185.

14. Kim SY, Song HJ, Lee YY, et al. Biomedical Issues of Dietary fiber - Glucan. *J Korean Med. Sci.* 2006; 21: 781-9.
15. Ross GD, Vetvicka V, Yan J, et al. Therapeutic intervention with complement and beta-glucan in cancer. *Immunopharmacology.* 1999; 42: 61-74.
16. Tzianabos AO, Polysaccharide immunomodulators as therapeutic agents: structural aspects and biologic function. *Clin. Microbiol. Rev.* 2000; 13: 523-33.
17. Gu Y, Fujimiya Y, Itokawa Y, Oshima M, Choi JS, Miura T, Ishida T. Tumoricidal effects of beta-glucans: mechanisms include both antioxidant activity plus enhanced systemic and topical immunity. *Nutr Cancer.* 2008; 60: 685-91.
18. Babayigit H, Kucuk C, Sozuer E, Yazici C, Kose K, Akgun H. Protective effect of beta-glucan on lung injury after cecal ligation and puncture in rats. *Intensive Care Med.* 2005; 31: 865–870.
19. Moldeus P, Cotgreave IA, Berggren M. Lung protection by a thiolcontaining antioxidant: N-acetylcysteine. *Respiration.* 1986; 1: 31-42.
20. Sener G, Toklu H, Ercan F, et al. Protective effect of beta-glucan against oxidative organ injury in a rat model of sepsis. *Int. Immunopharmacol.* 2000; 5: 1387–1396.
21. Stenson WF, Korzenik J, Yamada T, Alpers D, Kaplowitz D, Laine L. *Textbook of gastroenterology.* Philadelphia: Lippincott Williams Wilkins; 2003; 4 ed. p:1699-1750.
22. Wilks S: *Lectures on Pathological Anatomy.* London, Longmans. 1959.
23. Wilks S: Morbid appearances in the intestines of Miss Bankes. *Med Times Gazete* 1859; 264: 145-150.
24. Hawkins HP: An address on the natural history of the ulcerati colitis and its bearing on treatment 1909; 765: 110-113.
25. Allchin WH: Ulcerative colitis-symposium and discussion based on 314 cases reported by the London Hospitals. *R. Soc. Med.* 1909; 112: 59-82.
26. Hurst AF: Ulcerative colitis. *Guy's Hosp.* 1909; 71: 26.
27. Hurst AF: Ulcerative colitis. *Guy's Hosp.* 1935; 85: 317.
28. Felsen J: The relation of bacillary dysentary to distal ileitis, chronic ulcerative colitis and non-specific intestinal granuloma. *Ann Intern. Med.* 1936; 10: 645.
29. Felsen J, Wolarsky W: Acute and chronic bacillary dysentery and chronic ulcerative colitis. *JAMA* 1953; 153: 1069.
30. Friedman S, Blumberg RS, Inflammatory bowel disease. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL.- *Harrison's principles intemal medicine* 2001; vol. 2, 15th ed, p: 1679-92.

31. Pietro G, Lawrance S. Epidemiology and the natural course of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol. Clin. North Am.* 1999; 28: 255-81.
32. Peterson WL, Graham DY. Ulcerative colitis. In: Jewell DP, Sleisenger MH. *Gastrointestinal and liver disease pathophysiology, diagnosis, management.* 7th ed. Saunders; 2002; p. 2039-67.
33. Gilat T, Grossman A, Fireman Z, Rozen P. Inflammatory bowel disease in jews. In: McConnell R, Rozen R, Langman M, Gilat T, eds. *The genetics and epidemiology of inflammatory bowel disease.* New York: Karger, 1986; 11:141.
34. Bret A. Epidemiology of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol. Clin. North Am.* 1995; 24(3): 467-73.
35. Andrews PG, Friedman LS. Epidemiology and the natural course of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol. Clin. North Am.* 1999; 28(2): 255-81.
36. Çalışkan C. Sıçanlarda oluşturulan Deneysel Kolit Modelinde N–Asetilsisteinin Etkileri. *Tıpta Uzmanlık Tezi.* İzmir, 2003.
37. Rutgeerts P, Geobes K. Understanding inflammatory bowel disease the clinician's perspective. *Euro J. Surgery Supple* 2001; 586: 66-72.
38. Ardizzone S, Porro GB. Inflammatory bowel disease: New insights into pathogenesis and treatment. *J Intern Med.* 2002; 252: 475-96.
39. Ulshen M. Inflammatory Bowel Disease In: Behrman RE, Kliegman RM. *Nelson Textbook of Pediatrics.* 1996; 15th edition, p: 1080-87.
40. Krishnan A, Joshua R. Inflammatory bowel disease and environmental influences. *Gastroenterol Clin. North Am.* 2002; 31: 21-39.
41. Elson CO, McCabe RP. The immunology of inflammatory bowel disease. In *Inflammatory Bowel Disease.* 1995; 4 th eds, pp: 203–51.
42. Linderberg E, Tysk C, Andersson K, Jarnerot G. Smoking and inflammatory bowel disease. A case control study. *Gut.* 1988; 29: 352-355.
43. Prytz H, Benoni C, Tagesson C. Does smoking tighten the gut? *Scand J. Gastroenerol.* 1989; 24: 1084.
44. Srivastava ED, Russell MAH, Feyerabend C, Rhodes J, Effect of ulceretaif colitis and smoking on rectal bloof flow. *Gut,* 1990; 31: 1021.
45. Forcine DG, Sands B, Isselbacher KJ, et al. An increased risk of chron disease in individuals Who inherit the HLA Class II DRB3-0301 allele. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1996; 93: 5094-98.

46. Prytz H, Benoni C, Tagesson C, Does smoking tighten the gut? *Scand J Gastroenterol.* 1989; 24; 1084.
47. Ekbom A, Wakefield AJ, Zack M, Adami HO Perinatal measles infection and subsequent Crohn diseases. *Lancet.* 1994; 344: 508–510.
48. Ekbom A, Daszak P, Kraaz W, Wakefield AJ. Crohn's disease after in utero measles virus exposure. *Lancet.* 1996; 348: 515–517.
49. John R, Gareth A, Thomas B. *Advanced Therapy of inflammatory Bowel Disease.* Bayless TM. Hanauer S.B. Mucosal protective and repair agents in the treatment of colitis. 2.nd New York. 2000; 23:107-110.
50. Axel UD. Mechanisms and modulation of intestinal epithelial repair. *Inflammatory Bowel Dis.* 2001; 7: 68-77.
51. Campieri M, Gionchetti P. Bacteria as the cause of ulcerative colitis. *Gut.* 2001; 48: 132-5.
52. Grob V, Andus T, Leser HG, Roth M, Schölmerich J. Inflammatory mediators in chronic inflammatory bowel disease. *Klin Wochenschrift* 1991; 69: 981-7.
53. Head KA, Jurenka JS. Inflammatory bowel disease Part 1: Ulcerative colitis- Pathophysiology and conventional and alternative treatment options. *Altern Med. Rev.* 2003; 8: 247-83.
54. Asik M, Bayraktar Y. İnflamatuvar barsak hastalığında patogenez ve tedavide yenilikler. *Güncel Gastroenteroloji .* 1998; 2: 156–62.
55. Sartor RB. Current concepts of the etiology and pathogenesis of ulcerative colitis and crohn's disease. *Gastroenterol Clin North Am.* 1995; 24: 475-507.
56. Chutkan RK. Inflammatory bowel disease. *Prim. Care.* 2001; 28: 539-560.
57. Reinecher HC, Steffen M, Witthoef T, Pflueger I. Enhanced secretion of tumour necrosis factor-alpha, IL-6 and IL-1a by isolated lamina propria mononuclear cells from patients with ulcerative colitis and crohn's disease. *Clin Exp. Immunol.* 1993; 94: 174-81.
58. Sailei T, Mitsuyaraa K, Toyomaga A. Detection of pro and antiinflammatory cytokines in stools of patients with IBD. *Scand J. Gastroenterol.* 1998; 33: 23-61.
59. Çalıskan C. Sıçanlarda oluşturulan Deneysel Kolit Modelinde N–Acetylcysteinin Etkileri. *Tıpta Uzmanlık Tezi. İzmir,* 2003.
60. Tateishi H, Mitsuyama K, Toyonaga A, Tomoyose M, Tanikawa K. Role of cytokines in experimental colitis: Relation to intestinal permeability. *Digestion* 1997; 58: 271–81.
61. Wallace JL, McKnight W, Asfaha S, Liu DY. Reduction of acute and reactivated colitis in rats by an inhibitor of neutrophil activation *Am J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 1998; 274: 802-808

62. Halliwell B, Gutteridge JM, Cross CE. Free radicals, antioxidants and human disease: Where are we now? *J Lab. Clin. Med.* 1992; 119: 598-620.
63. Garg R, Kumbkarni Y, Aljada A, Mohanty P, Ghanim H, Hamada W, et al. Troglitazone reduces reactive oxygen species generation by leukocytes and peroxidation and improves flow mediated vasodilatation in obese subjects. *Hypertension* 2000; 36: 430-5.
64. Memişogulları R, Taysi S, Bakan E, Capoğlu I: Antioxidant status and peroxidation in type II diabetes mellitus. *Cell Biochem. Func.* 2003; 21: 291-6.
65. Johnson P. Antioxidant enzyme expression in health and disease: Effects of exercise and hypertension. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol Pharmacol.* 2002; 133: 493-505.
66. Pravda J. Radical induction theory of ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 2371-84.
67. Chen S, Schopfer P. Hydroxyl radical production in physiological reactions. *Eur. J. Biochem.* 1999; 260: 726-35.
68. Sheridan AM, Fitzpatrick S, Wang C, Wheeler DC, Lieberthal W. Peroxidation contributes to hydrogen peroxide induced cytotoxicity in renal epithelial cells. *Kidney Int.* 1996; 49: 88-93.
69. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi* 1997; 6: 92-5.
70. Aruoma O, Halliwell B, Loughton MJ, Quinlan GJ, Gutteridge JM. The mechanism of initiation of peroxidation. Evidence against a requirement for iron complex. *Biochem J.* 1989; 258: 617- 20.
71. Bayraktar MN, Kılıç S, Özdemir İ, Aydemir S, Ulu R. The Investigation of serum malondialdehyde levels and erythrocyte antioxidant Enzymes in Hypertension Patients. *J Health Sci* 2005; 14: 76-81.
72. Iqbal M, Cawthon D, Beers K, Widawau RF, Battje WG, Antioxidant enzyme activities and mitochondrial fatty acids in pulmonary hypertension syndrome in broilers *Poult Sci* 2002; 81: 252-60.
73. Park JB, Touyz RM, Chen X, Schiffrin E. Chronic treatment with a superoxide dismutase mimet prevents vascular remodelling and progression of hypertension in salt loaded stroke prone spontaneously hypertensive rats. *Am. J. Hypertens.* 2002; 15: 78-84.
74. Esworthy RS, Aranda R, Martin MG, Doroshov JH, Binder SW, Chu FF. Mice with combined disruption of Gpx1 and Gpx2 genes have colitis. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2001; 281: 848-55.

75. Schultz J, Cortin R, Oddi F, Kaminker K, Jones W. Myeloperoxidase of the leukocyte of normal blood. *Arch. Biochem. Biophys.* 1965; 111: 73-9.
76. Krawisz JE, Sharon P, Stenson WF. Quantitative assay for acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity. *Gastroenterology* 1984; 87: 1344-50.
77. Cryer B, Feldman M. Cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 selectivity of widely used nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Am. J. Med.* 1998; 104: 413-21.
78. Laine L. Gastrointestinal effects of NSAIDs and Coxibs. *J. Pain Symptom Manage* 2003; 25: 32-40.
79. Akkuş I. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. 1. baskı ed: Mimoza Yayınları 1995.
80. Karmeli F, Okon E, Rachmilewitz D. Sulphydryl blocker induced gastric damage is ameliorated by scavenging of free radicals. *Gut* 1996; 38: 826-31.
81. Esterbauer H. peroxidation products: Formation, chemical properties and biological activities. In: *Free radicals in liver injury*. IRL Press Limited, Oxford, England 1985; p: 29-47.
82. Lih-Brody L, Powell SR, Collier KP, Reddy GM, Cerchia R, Kahn E, Weissman GS, Katz S, Floyd RA, McKinley MJ, Fisher SE & Mullin GE. Increased oxidative stress and decreased antioxidant defences in mucosa of inflammatory bowel disease. *Dig. Dis. Sci.* 1996; 41: 2078-2086.
83. Yoshida N, Yoshikawa T, Naito Y, Tanigawa T, Murase H & Kondo M. A novel water soluble vitamin E derivative protects against experimental colitis in rat. *Antioxid. Redox. Signal.* 1999; 1: 555-562.
84. Kuralay F, Yıldız C, Özütemiz O, İşlekel H, Çalışkan S, Bingöl B & Özkal S. Effects of trimetazidine on acetic acid-induced colitis in female Swiss rats. 2003; 2: 123-125.
85. Ademoglu E, Erbil YB, Tam B, Barbaros U, İlhan E, Olgac V & Mutlu-Turkoglu. Do vitamin E and selenium have beneficial effects on trinitrobenzenesulfonic acid-induced experimental colitis. *Dig. Dis. Sci.* 2004; 49: 102-108.
86. William F.S. IBD. In: Yamada T. *Textbook of Gastroenterology*. 1999; Vol 2. 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia; p: 1699-759.
87. Bruce E.S: Novel therapies for inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin. North Am.* 1999; 28: 323-51.
88. Truelove SC, Witts LJ: Cortisone in ulcerative colitis – final report on a therapeutic trial. *BMJ.* 1955; 2: 1041.
89. Baron JH, Connell AM, Lennard-Jones JE: Variation between observers in describing mucosal appearances in proctocolitis. *BMJ.* 1964; 1: 89.

90. Truelove SC, Richards WRD: Biopsy studies in ulcerative colitis. *BMJ*. 1956; 1: 1315.
91. Buckell NA, Lennard-Jones JE, Hernandez MA, et al: Measurement of serum proteins during attacks of UC as guide to patient management. *Gut*. 1979; 20: 22.
92. Rutgeers P. Medical therapy of inflammatory bowel disease. *Digestion* 1998; 59: 453.
93. Meyers S, Sachar DB, Present DH, Janowitz HD. Olsalazine sodium in the treatment of ulcerative colitis among patients intolerant of sulfasalazine: a prospective randomized, placebo controlled double blind, dose ranging clinical trial. *Gastroenterology* 1987; 93: 1255-62.
94. Podolsky D.K. Inflammatory bowel disease. *N. Engl. J. Med.* 2002; 347: 417-29.
95. Al-Ataie MB. Ulcerative Colitis *E medicine* 2005; <http://www.emedicine.com>.
96. Inoue M, Sato EF, Nishikawa M, Park A.M, Kira Y., Imada I., et al. Mitochondrial generation of reactive oxygen species and its role in aerobic life. *Current Med. Chem.* 2003; 10: 2495-505
97. Vendemiale G, Grattagliano I, Altomare E. An update on the role of free radicals and antioxidant defense in human disease. *Int. Clin. Lab. Res.* 1999; 29: 49-55.
98. Kim SY, Song HJ, Lee YY, et al. Biomedical Issues of Dietary fiber β -Glucan. *J. Korean Med. Sci.* 2006; 21: 781-9.
99. Kirmaz C, Bayrak P, Yilmaz O, et al. Effects of glucan treatment on the Th1/Th2 balance in patients with allergic rhinitis: a double-blind placebo-controlled study. *Eur Cytokine Netw.* 2005; 16: 128-34.
100. Sandvik A, Wang Y, Oral and systemic administration of beta-glucan protects against lipopolysaccharide - induced shock and injury in rats. *Clinical and Experimental Immunology.* 2007; 148: 168-77.
101. Cheung NK, Modak S, Vickers A, Knuckles B. Orally administered beta-glucans enhance anti-tumor effect of monoclonal antibodies. *Cancer Immunol.* 2002; 51: 557-64.
102. Rice PJ, Adams EL, Ozment-Skelton T, et al. Oral delivery and gastrointestinal absorption of soluble glucans stimulate increased resistance to infectious challenge. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2005; 314: 1079-86.
103. Hendler SS, Rorvik D. *PDR for Nutritional Supplements* 1st ed. Thomson Healthcare 2001; 54.
104. Pillemer L, Ecker EE. Anticomplementary factor in fresh yeast. *J. Biol. Chem.* 1941; 137: 139.
105. Ross GD, Vetvicka V, Yan J, et al. Therapeutic intervention with complement and beta-glucan in cancer. *Immunopharmacology.* 1999; 42: 61-74.

106. Tzianabos AO. Polysaccharide immunomodulators as therapeutic agents: structural aspects and biologic function. *Clin. Microbiol. Rev.* 2000; 13: 523-33.
107. Brown GD, Gordon S. Fungal–Glucans and Mammalian Immunity. 2003; 19: 311–15.
108. Senoglu N, Yuzbasioglu MF, Aral M, Ezberci M, Kurutas EB, Bulbuloglu E, Ezberci F, Oksuz H, Ciragil H. Protective Effects of N-Acetylcysteine and -Glucan Pretreatment on Oxidative Stress in Cecal Ligation and Puncture Model of Sepsis. *Journal of Investigative Surgery.* 2008; 21: 237- 243.
109. Sugiyama A, Suzuki K, Mitra S, Arashida R, Yoshida E, Nakano R, Yabuta Y, Takeuchi T. Hepatoprotective effects of paramylon, a beta (1-3) -D-glucan isolated from *Euglena gracilis*, on acute liver injury induced by carbon tetrachloride in rats. *J. Vet. Med. Sci.* 2009; 71: 885-890.
110. Kayali H, Ozdag MF, Kahraman S, Aydin A, Gonul E, Sayal A, Odabasi Z, Timurkaynak E: The antioxidant effect of β -Glucan on oxidative stress status in experimental spinal cord injury in rats. *Neurosurg Rev.* 2005; 28: 298–302.
111. Nosál'ová V, Bobek P, Cerná S, Galbavý S, Stvrtina S. Effects of pleuran (beta-glucan isolated from *Pleurotus ostreatus*) on experimental colitis in rats. Institute of Experimental Pharmacology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava. *Tohoku J. Exp. Med,* 2003; 206: 130-136.
112. Ziment I. Acetylcysteine: A drug with an interesting past and a fascinating future. *Respiration.* 1986; 50: 1, 26-30.
113. Junod AF, Jornot L & Grichting G. Comparative study on the selenium and N-acetylcystein-related effects on the toxic action of hyperoxia, paraquat and enzyme reaction hypoxanthine-xanthine oxidase in cultured endothelial cells. *Agents Actions.* 1987; 22: 176-183.
114. Prescott LF, Illingworth RN, Critchley JA, Stewart MJ, Adam RD & Proudfoot AT. Intravenous N-Acetylcystein: The treatment of choice for paracetamol poisoning. *Br. Med.* 1979; 2: 1097-1100.
115. Siegers CP, Riemann D, Thies E & Younes M. Glutathion and GSH-dependent enzymes in the gastrointestinalmucosa of the rat. *Cancer Lett.* 1988; 40: 71-76.
116. MacPherson B, MacPherson C. Experimental production of diffuse colitis in rats. *Digestion* 17. 1978; p: 135–150.
117. Yamamoto M, Yoshizaki K, Kishimoto T, and Ito H. IL–6 Is required for the development of Th1 Cell–mediated murine colitis. *J. Immunol.* 2000; 164: 48-78.

118. Worthing Enzyme Manual Worthington Biochemical Corporation Freehold, New Jersey, USA, 1972.
119. Ohkawa D: Assay for peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.* 1979; 95: 351-358.
120. Beutler E. *Red Cell Metabolism. A Manual of Biochemical Methods.* 2nd edition. New York: Grune & Stratton Co. 1975; 261–265.
121. Oberley LW, Spitz DR. Assay of superoxide dismutase activity in tumor tissue. *Methods Enzym measurement.* 1984; 105: 457-464.
122. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.
123. Fedorak RN, Empey LR, MacArthur C, Jewell LD: Misoprostol provides a colonic mucosal protective effect during acetic acid induced colitis in rats. *Gastroenterology* 1990; 98: 615-625.
124. Podolsky DK: Inflammatory bowel disease. *N. Engl. J. Med.* 1991; 325: 928–937.
125. Sekijuzo E, Grisham MA, Li MA, Deitch EA & Granger DN, Inflammation induced intestinal hyperemia in the rat: Role of neutrophils. *Gastroenterology.* 1988; 95.
126. Fontane JC & Ward PA. Role of oxygen derived free radicals and metabolites in leukocyte dependent inflammatory reactions. *Am. J. Pathol.* 1982; 107.
127. Choudhary S, Keshevarzian A, Novel antioxidants zolimid and AEOL11201 ameliorate colitis in rats. *Dig. Dis. Sci.* 2001; 46.
128. Kaya E, Özgüç ES. L-Glutamin enemas attenuate mucosal injury in experimental colitis. *Dis. Colon Rectum,* 1999; 42.
129. Pentney PT & Bubenikj GA. Melatonin reduces the severity of dextran induced colitis in mice. *J.Pineal Res.* 1995; 19.
130. Simmonds NJ, Millar AD, Blake DR. Antioxidant effects of aminosalicylates and potential new drugs for IBD: Assessment in cell-free systems and inflamed human colorectal biopsies. *Aliment. Pharmacol. Therapy.* 1999; 13.
131. Ross GD, Vetvicka V, Yan J, Xia Y, Vetvickova J. Therapeutic intervention with complement and β -glucan in cancer. *Immunopharmacology.* 1999; 42: 61–74.
132. Vetvicka V, Yvin JC. Effect of marine β -1,3 glucan on immune reactions. *Int. Immunopharmacol.* 2004; 4: 721–730.
133. Cleary JA, Kelly GE, Husband AJ. The effect of molecular weight and β -1,6-linkages on priming of macrophage function in mice by β -(1,3)-D-glucan. *Immun. Cell. Biol.* 1999; 77: 395–403.

134. Engstad CS, Engstad RE, Olsen JO, Osteud B. The effect of soluble β -1,3-glucan and lipopolysaccharide on cytokine production and coagulation activation in whole blood. *Int. Immunopharmacol.* 2002; 2: 1585–1597.
135. Solyths J, Quinn MT. Modulation of endotoxin and enterotoxin-induced cytokine release by in vivo treatment with β -(1,6)-branched β -(1,3)-glucan. *Infect. Immun.* 1999; 67: 244–250.
136. Hashimoto T, Ohno N, Adachi Y, Yadomae T. Enhanced production of inducible nitric oxide synthase by β -glucans in mice. *Immunol. Med. Microbiol.* 1997; 19: 145-50.
137. Ljungman AG, Leanderson P, Tagesson C. β -(1–3)-D-glucan stimulates nitric oxide generation and cytokine mRNA Expression in macrophages. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 1998; 5: 273–281.
138. Babincova M, Bacova Z, Machova E, Kogan G. Antioxidant properties of carboxymethyl glucan: comparative analysis. *J. Med. Food.* 2002; 5: 79–83.
139. Krinzkova L, Durackova Z, Sandula J, Slamenova D, Sasinkova V, Sivonova M, Krajcovic J. Fungal β -(1–3)-D-glucan derivatives exhibit high antioxidative and antimutagenic activity in vitro. *Anticancer. Res.* 2003; 23: 2751.
140. Bayrak O, Turgut F, Karatas OF, Cimentepe E, Bayrak R, Catal F, Atis O, Akcay A, Unal D. Oral β -glucan protects kidney against ischemia/reperfusion injury in rats. *Am. J. Nephrol.* 2008; 28: 190–196.
141. Koch TR, Yuan LX, Stryker SJ, Ratliff P, Telford GL, Opara EC: Total antioxidant capacity of colon in patients with chronic ulcerative colitis. *Dig Dis Sci.* 2000; 5: 1814–1819.
142. Lih-Brody L, Powell SR, Collier KP, Reddy GM, Cerchia R, Kahn E, Weissman GS, Katz S, Floyd RA, McKinley MJ, Fisher SE, Mullin GE: Increased oxidative stress and decreased antioxidant defenses in mucosa of inflammatory bowel disease. *Dig. Dis. Sci.* 1996; 41: 2078–2086
143. McKenzie SJ, Baker MS, Buffinton GD, Doe WF: Evidence of oxidant-induced injury to epithelial cells during inflammatory bowel disease. *J. Clin. Invest.* , 1996; 98: 136–141
144. Mahgoub AA. Evaluating the prophylactic potential of zafirlukast against the toxic effects of acetic acid on the rat colon. *Toxicol. Lett.* 2003.

145. Dong WG, Liu SP. Ameliorative effects of sodium ferulate on experimental colitis and their mechanisms in rats. *World J. Gastroenterol.* 2003; 9: 2533-2538.
146. Liu SP, Dong WG, Wu DF, Luo HS, Yu JP: Protective effect of angelica sinensis polysaccharide on experimental immunological colon injury in rats. *World J. Gastroenterol.* 2003; 9: 2786–2790.
147. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress induced cancer. *Chem Biol Interact.* 2006; 160.
148. Shan XQ, Aw TY & Jones DP. Glutathione-dependent protection against oxidative injury. *Pharmacol. Ther.* 1990; 47: 61-71.
149. Satoh H, Sato F, Takami K, Szabo S: New ulcerative colitis model induced by sulfhydryl blockers in rats and the effects of antiinflammatory drugs on the colitis. *Japan J. Pharmacol.* 1997; 73: 299–309.
150. Nieto N, Torres MI, Fernandez MI, Giron MD, Rios A, Suarez MD, Gil A: Experimental ulcerative colitis impairs antioxidant defense system in rat intestine. *Dig. Dis. Sci.* 2000; 45: 1820-1827.
151. Sener G, Eksioglu-Demiralp E, Cetiner M, Ercan F, Yegen BC. b-glucan ameliorates methotrexate induced oxidative organ injury via its antioxidant and immunomodulatory effects. *Eur. J. Pharmacol.* 2006; 542: 170.
152. Sener G, Sert G, Sehirli AÖ, Arbak S, Uslu B, Gedik N, Ayanoglu-Dulger G. Pressure ulcer-induced oxidative organ injury is ameliorated by b-glucan treatment in rats. *Int. Immunopharmacol.* 2006; 6: 724–732.
153. Sener G, Toklu H, Ercan F, Erkanli G. Protective effect of b-glucan against oxidative organ injury in a rat model of sepsis, *Int. Immunopharmacol.* 2005; 5: 1387–1396.

EKLER

1. Etik Kurul Onay Formu

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI

ARAŞTIRMA BAŞVURU ONAYI



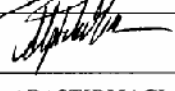
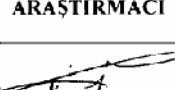
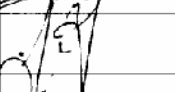
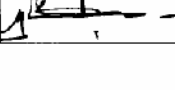
BAŞVURU BİLGİLERİ	Araştırmanın Başlığı	Ratlarda deneysel olarak oluşturulan kolit modelinde N-asetil sistein ve beta glukanan etkileri
	Başvuru Tarihi	06.10.2009
	Protokol No	25

DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Dili
	Başvuru Formu	Türkçe

KARAR BİLGİLERİ	Oturum No: 2009/8	Karar No: 3	Tarih:06.10.2009
	Doç. Dr. Bülent KANTARÇEKEN sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına toplanmış katılan öğretim üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir.		

ETİK KURUL BİLGİLERİ

ÇALIŞMA ESASI	K.S.Ü. TIP FAKÜLTESİ TIBBİ ETİK KURUL İŞLEYİŞ YÖNERGESİ
----------------------	---

ÜYELER						
Ünvanı /Adı/Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Doç. Dr. Yusuf ERGİN Başkan	Tıbbi Farmakoloji	K.S.Ü. Tıp Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Ertan BÜLBÜLOĞLU Üye	Genel Cerrahi	K.S.Ü. Tıp Fak.	E	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	ARAŞTIRMACI
Doç. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN Üye	Biyokimya	K.S.Ü. Tıp Fak.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Davut ÖZBAĞ Üye	Anatomi	K.S.Ü. Tıp Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Alptekin YASIM Üye	Kalp-Damar Cerrahisi	K.S.Ü. Tıp Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Harun ÇIRALIK Üye	Patoloji	K.S.Ü. Tıp Fak.	E	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	ARAŞTIRMACI
Yrd. Doç. Dr. Mesut ÖZKAYA Üye	İç Hastalıkları End. ve Met. Hast.	K.S.Ü. Tıp Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Adem GÖKKAYA Üye	Diş Hekimi	K.S.Ü. Tıp Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Erdal Haluk YOLACAN Üye	Avukat	K.S.Ü. Tıp Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
ŞERH (VARSA)						

*Araştırma ile ilişki
**Toplantıda bulunma