

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL KOLİT MODELİNDE DROTRECOĞİN
ALFA (ACTİVATED, XİGRİS)'NİN
BAKTERİYEL TRANSLOKASYONU ÖNLEMEDE
ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. ADNAN MESUT DEDE

DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. CELAL ÇERÇİ

2007-İSPARTA

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 1365-TU-06 proje numarası ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı' ndaki uzmanlık eğitimim süresince bana emeği geçen sayın hocalarım, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Mahmut BÜLBÜL, Prof. Dr. Nihat KAYMAKÇIOĞLU, Doç. Dr. H. Erol EROĞLU, Yrd. Doç. Dr. Ömer Rıdvan TARHAN, Yrd. Doç. Dr. İbrahim BARUT ve eğitimim ve tez çalışmamın her aşamasında bana her türlü bilgi ve yardımını esirgemeyen tez danışmanı hocam Yrd. Doç. Dr. Celal ÇERÇİ' ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca uzmanlık ve tez çalışmaları döneminde her zaman yanımda bulunan, yorgunlukları, sevinçleri, üzüntüleri birlikte yaşadığımız tüm asistan arkadaşlarıma, Genel Cerrahi hemşire ve personeline teşekkür ederim.

Bu çalışmanın tamamlanmasındaki katkılarından dolayı; Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Metin ÇİRİŞ, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Selçuk KAYA, Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Recep SÜTÇÜ ve Dr. Nigar YILMAZ' a teşekkür ederim.

Bu zor eğitim süresince benden desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, her türlü zorluğa beraber katlandığımız sevgili eşim Umman DEDE ve kızlarım Elif Ceren DEDE ve İrem DEDE' ye sonsuz sevgilerimi sunuyorum.

Dr. Adnan Mesut DEDE

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	I
ŞEKİL, RESİM VE TABLO DİZİNİ	III
KISALTMALAR	VI
ÖZET.....	VII
ABSTRACT.....	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kolon Embriyoloji ve Anatomisi.....	3
2.2. Kolon Fizyolojisi.....	6
2.3. Kolon Mikroflorası.....	11
2.4. İnflamatuvar Barsak Hastalığı.....	12
2.5. Bakteriyel translokasyon.....	17
2.6. Drotrecogin Alfa (Activated, Xigris).....	21
2.7. Sitokinler.....	23
2.8. Serbest Oksijen Radikalleri.....	25
2.9. Antioksidanlar.....	25
2.10. Myeloperoksidaz.....	28
3. MATERYAL VE METOD.....	30
3.1. Gruplar.....	30
3.2. Cerrahi Prosedür.....	31
3.3. Histopatolojik Değerlendirme.....	34
3.4. Mikrobiyolojik Değerlendirme.....	36
3.5. Biyokimyasal Değerlendirme.....	46
3.6. Myeloperoksidaz Tayini.....	51
3.7. İstatistiksel Analiz.....	51
4. SONUÇLAR.....	52
4.1. Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları.....	52
4.2. Mikrobiyolojik Değerlendirme Sonuçları.....	54
4.3. Biyokimyasal Değerlendirme Sonuçları.....	56
5. TARTIŞMA	61
6. KAYNAKLAR.....	73

ŞEKİL, RESİM VE TABLO DİZİNİ

Şekil 1: Aktive protein C' nin olaylar zincirindeki rolü

Resim 1: Kontrol grubu kolon makroskopik görünümü

Resim2: Kolit grubu kolon makroskopik görünümü

Resim 3: Xigris grubu kolon makroskopik görünümü

Resim 4: Steroid grubu kolon makroskopik görünümü

Resim 5: Kolonda Grade 4 histopatolojik değişiklik (kolit grubu)

Resim 6: Kolonda grade 5 histopatolojik değişiklik (kolit grubu)

Resim 7: Kolonda grade 1 histopatolojik değişiklik (xigris grubu)

Resim 8: Kolonda grade 2 histopatolojik değişiklik (xigris grubu)

Resim 9: Kolonda grade 2 histopatolojik değişiklik (steroid grubu)

Resim 10: Mezenter lenf nodunda Thingle Body (T) makrofaj içeren germinal merkez ve Histiyosit infiltrasyonu (H) (kolit grubu)

Resim 11: Mezenter lenf nodu (xigris grubu)

Resim 12: Mezenter lenf nodunda Histiyosit infiltrasyonu (H) (steroid grubu)

Resim 13: Dalak histopatolojik görünümü (konjesyon yok) (kolit grubu)

Resim 14: Dalak histopatolojik görünümü (konjesyon var) (xigris grubu)

Resim 15: Karaciğerde fokal nekroz (N) ve fokal dejenerasyon (kolit grubu)

Resim 16: Karaciğerde yaygın dejenerasyon ve konjesyon (K) (kolit grubu)

Resim 17: Karaciğerde fokal dejenerasyon ve multinükleer dev hücre içeren fokal İnflamasyon (İ) (kolit grubu)

Resim 18: Karaciğerde yaygın dejenerasyon ve fokal nekroz (N) (xigris grubu)

Resim 19: Normal karaciğer histopatolojik görünümü (steroid grubu)

Resim 20: Karaciğerde yaygın dejenerasyon ve konjesyon (K) (steroid grubu)

- Tablo 1:** Ratlarda kolon makroskopik skora (Ortalama \pm Standart sapma)
- Tablo 2:** Ratlarda kolon makroskopik skora istatistiksel analiz
- Tablo 3:** Ratlarda kolon mikroskopik skora (Ortalama \pm Standart sapma)
- Tablo 4:** Ratlarda kolon makroskopik skora istatistiksel analiz
- Tablo 5:** Karaciğerdeki patolojik değerlendirme (Ortalama \pm Standart sapma)
- Tablo 6:** Karaciğerdeki patolojik değerlendirme istatistiksel analiz
- Tablo 7:** Mezenter lenf nodundaki patolojik değerlendirme
(Ortalama \pm Standart sapma)
- Tablo 8:** Mezenter lenf nodundaki patolojik değerlendirme istatistiksel analiz
- Tablo 9:** Gruplardaki bakteriyel translokasyon insidansı
- Tablo 10:** Gruplardaki bakteriyel translokasyon insidansı istatistiksel analiz
- Tablo 11:** Gruplardaki bakteriyel translokasyon insidansı (Ortalama \pm Standart sapma)
- Tablo 12:** Serum ALT, AST, LDH, ALP, MPO, TNF- α düzeyleri
(Ortalama \pm Standart sapma)
- Tablo 13:** Serum ALT, AST, LDH, ALP, MPO, TNF- α düzeyleri istatistiksel analiz
- Tablo 14:** Kolon doku Katalaz, MDA, SOD, GSH-Px, MPO, TNF- α düzeyleri
(Ortalama \pm Standart sapma)
- Tablo 15:** Kolon doku Katalaz, MDA, SOD, GSH-Px, MPO, TNF- α düzeyleri
istatistiksel analiz
- Tablo 16:** Karaciğer doku Katalaz, MDA, SOD, GSH-Px, MPO, TNF- α düzeyleri
(Ortalama \pm Standart sapma)
- Tablo 17:** Karaciğer doku Katalaz, MDA, SOD, GSH-Px, MPO, TNF- α düzeyleri
istatistiksel analiz

Tablo 18: Dalak doku Katalaz, MDA, SOD, GSH-Px, MPO, TNF- α düzeyleri
(Ortalama \pm Standart sapma)

Tablo 19: Dalak doku Katalaz, MDA, SOD, GSH-Px, MPO, TNF- α düzeyleri
istatikselsel analiz

Tablo 20: Mezenter lenf nodu doku Katalaz, MDA, SOD, GSH-Px, MPO, TNF- α
düzeyleri (Ortalama \pm Standart sapma)

Tablo 21: Mezenter lenf nodu doku Katalaz, MDA, SOD, GSH-Px, MPO, TNF- α
düzeyleri istatikselsel analiz

KISALTMALAR

MPO: Myeloperoksidaz	i.v.: intravenöz
CAT: Katalaz	SOR: Serbest oksijen radikalleri
MDA: Malondialdehit	HO: Hidroksil radikali
GSH-Px: Glutasyon peroksidaz	O₂⁻: Süperoksit radikal
SOD: Süperoksit dismutaz	NO: Nitrik oksit
TNF-α: Tümör nekrozis faktör alfa	SF: Serum fizyolojik
AST: Aspartat transaminaz	SPS: Sodyum polianetol sulfonat
ALT: Alanin transaminaz	EMB: Eosin-Metilen-Blue
LDH: Laktat dehidrogenaz	XOD: Ksantin oksidaz
ALP: Alkalen fosfataz	TBA: Tiyobarbütirik asit
İBH: İnflamatuvar barsak hastalığı	TCA: Trikloroasetik asit
ÜK: Ülseratif kolit	GI: Gastrointestinal
CH: Crohn hastalığı	PG: Prostoglandin
SMA: Süperior mezenterik arter	PAF: Platelet aktivated faktor
İMA: İnferior mezenterik arter	DA: Drotrecogin alfa
MLN: Mezenter lenf nodu	CMV: Citomegalovirüs
5-ASA: 5-Aminosalisilik asit	
PAI-1: Plazminogen activator inhibitor 1	
TNBS-E: Trinitrobenzen sülfonik asit- etanol	
TAFI: Trombin activator fibrinolizis inhibitor	
APC: Aktive protein C	
PC: Protein C	
DİC: Disseminated intravascular coagulation	

ÖZET

Deneysel Kolit Modelinde Drotrecogin Alfa (Activated, Xigris)' nın Bakteriyel Translokasyonu Önlemede Etkinliğinin Değerlendirilmesi

İnflamatuvar barsak hastalığı (İBH) son yıllarda insidansında belirgin artış görülen, etiyojisinde immünolojik, genetik, çevresel faktörlerin rol aldığı kronik, ilerleyici hastalıklardır. Ülseratif kolit (ÜK) ve crohn hastalığını (CH) içerir. Proinflamatuvar sitokin ve kemokinler bakteriyel translokasyona neden olarak hastalığın ilerlemesine neden olmaktadır.

Drotrecogin alfa (activated, xigris) günümüzde ağır sepsis tedavisinde mortaliteyi azaltmak amacıyla kullanılan antiinflamatuvar, antikoagulan etkinliği olan ilaçtır. Deneysel kolit modelinde drotrecogin alfa (DA)' nın bakteriyel translokasyonu önlemedeki etkinliğinin araştırılması amacı ile çalışma planlanmıştır.

Çalışmada her birinde 10 adet Wistar Albino cinsi rat bulunan dört grup kullanıldı. Gruplar: kontrol, kolit, steroid, xigris grupları olarak belirlendi. Gruplarda karaciğer, dalak, mezenter lenf nodu ve kan kültürleri bakteriyel translokasyonu belirlemek amacıyla değerlendirildi. Kolon, karaciğer, dalak, mezenter lenf nodunda oluşan histopatolojik değişiklikler tüm gruplarda değerlendirildi. Aynı dokularda; myeloperoksidaz (MPO), katalaz (CAT), malondialdehit (MDA), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), süperoksit dismutaz (SOD) değerleri karşılaştırıldı. Ayrıca serumda; Tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α), MPO, aspartat transaminaz (AST), alanin transaminaz (ALT), laktatdehidrogenaz (LDH), alkalin fosfat (ALP) çalışıldı.

Asetik asit ile oluşturulan deneysel kolit modelinde yapılan çalışmada; kolit grubunda anlamlı histopatolojik değişiklikler gözlemlendi. Xigris grubu ile steroid grubu arasında anlamlı olarak histopatolojik değişiklik olmamasına rağmen, her iki grupta da

kolit grubuna göre anlamlı histopatolojik iyileşme gözlemlendi. Karaciğer, dalak ve mezenter lenf nodunda gruplar arasında anlamlı histopatolojik değişiklikler izlenmedi.

Kolit ve steroid gruplarında bakteriyel translokasyon izlenirken, xigris grubunda ise bakteriyel translokasyonun anlamlı bir şekilde önlemediği gözlemlendi.

Yapılan biyokimyasal analizlerde proinflamatuvar sitokin olan TNF- α 'nın kolit grubunda kolonik mukozada arttığı, xigris grubunda ise azaldığı, serum düzeylerinde ise anlamlı değişiklik olmadığı gözlemlendi.

Hasarlı doku ve inflamasyonun göstergesi olarak bilinen MPO'nun kolit grubunda kolonik mukozada arttığı, xigris ve steroid gruplarında ise azaldığı görüldü, bu da her iki ilacın da antiinflamatuvar etkinliğinin benzer olabileceğini düşündürdü.

Çalışmada oksidatif strese karşı oluşturulan antioksidan enzimlerin genel olarak kolit grubunda azaldığı gözlemlendi. Xigris ve steroid gruplarında ise antioksidan stres açısından genel olarak anlamlı fark gözlenmedi.

Sonuç olarak; deneysel kolit modelinde xigris'in steroidden daha anlamlı olarak bakteri translokasyonuna etki ederek azalttığı söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Deneysel kolit, Bakteriyel translokasyon, Drotrecogin alfa

ABSTRACT

Evaluation The Effect Of Drotrecogin Alfa (Activated, Xigris) On Bacterial Translocation In Experimental Colitis Model

Inflammatory bowel diseases (IBD) are chronic and progressive that have immunologic, genetic and enviromental etiological factors. IBD incidance is increasing recently.

Ulcerative colitis (UC) and crohn disease (CD) is included. Proinflammatory cytokines and chemocines causes this diseases to progressive by bacterial translocation.

Drotrecogin alpha (activated, xigris) is a drug that is used to decrease mortality in severe sepsis, have antiinflammatory and anticoagulant activity. In experimental colitis model, it is planned to research the activity of Drotrecogin alpha (DA) in preventing bacterial translocation.

In this study; 10 wistar albino rats were used in each four group and effect of drotrecogin alfa blocked bacterial translocation in experimental model of colitis. The groups were control group, colitis group, using steroid group, using DA (xigris) group. In this groups, histopatological changing were researched in colon, liver, splen, mesenter lymph nodes (MLN). In same tissues and serum myeloperoxidase (MPO), catalase (CAT), malondialdehyde (MDA), glutathione peroxidase (GSH-Px), superoxide dismutase (SOD) were compared in serum tumor necrosis factor alpha (TNF- α), MPO, aspartate transaminase (AST), alanin transaminase (ALT), laktat dehydrogenase (LDH), alcalen phosfatase (ALP) were also compared.

In recent study, in experimental colitis model that was induced with asetic acid, significant histopatologycal changes were observed in colitis group. There was no significance between steroid group and DA (xigris) group but in both groups there were significant histopatologycal regression when compared with colitis group. Any significant histopatologyc changes in liver, spleen, MLN groups were not detected.

Bacterial translocation was significantly prevented in DA (xigris) group when compared with colitis and steroid groups.

TNF alpha that is a proinflammatory cytokine, increased in colonic mucosa in colitis group and was decreased in xigris group, there was no changes in serum levels.

MPO that is an indicator of damaged tissue and inflammation; increased in colonic mucosa in colitis group, decreased in steroid group and xigris group. It was supposed that both drugs have similar antiinflammatory activity.

Antioxidant enzymes that was synthesised against oxidative stress, decreased in colitis group. In xigris and steroid groups, there were no difference in antioxidant stress.

As a result, in experimental colitis model, xigris prevents bacterial translocation more than steroid.

Key Words: Experimental colitis, Bacterial translocation, Drotrecogin alfa

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnflamatuvar barsak hastalığı (İBH) gastrointestinal sistemi tutan etiyojisi tam olarak belirlenmemiş kronik ilerleyici hastalıktır. Ülseratif kolit (ÜK) ve Crohn hastalığını (CH) içerir. Her iki hastalık da sindirim sisteminde inflamasyon oluşturarak doku yıkımına neden olur ve klinik olarak ortaya çıkarlar (1,2).

Kolit; kolon mukozasını tutan, barsak fonksiyonlarında değişiklik ve intestinal inflamasyon semptomları oluşturan bir inflamatuvar süreçtir. Klinik olarak semptomlar genellikle kanlı diare, abdominal ağrı, ateş, kilo kaybı inflamasyonun ağırlığına göre ortaya çıkar. Hastanın yaşam kalitesini etkileyen kolit tedavisinde yeni yöntemler geliştirilmektedir.

İBH patogenezin hala tam olarak anlaşılmış değildir. Ancak bu hastalığın patogenezinde genetik olarak tayin edilen konak duyarlılığı, barsak mukozasının immün yanıtı ve barsak bakterilerinin karşılıklı etkileşiminin önemli bir yere sahip olduğu bilinmektedir. Son yıllarda hastalığın oluşmasında ve ilerlemesinde enterik floranın önceden kabul edildiğinden daha fazla katkısının olduğu anlaşılmış, genetik olarak yatkın bireylerde gastrointestinal floranın çok önemli rol üstlendiği ortaya çıkmıştır (3,4).

Ayrıca prostoglandinlerin (PG) barsak mukozası üzerine koruyucu etki gösterdikleri, lökotrienlerin ise mukoza üzerine zararlı etkileri olduğu gösterilmiştir (5).

İBH'de önemli yer tutan kolit tedavisinde immünopatogenezindeki araştırmalara paralel olarak tedavisinde de yeni çalışmalar mevcuttur. Günümüzde sepsis tedavisinde kullanılan dorecogin alfa (DA, activated, xigris) monositler tarafından salgılanan TNF- α ' yı inhibe ederek lökositlerin selektinlere adezyonunu önler ve mikrovasküler endotelde trombin indüksiyonunu sınırlayarak antiinflamatuvar etki gösterir (6,7).

Kolitde oluşan bakteriyel translokasyonu önlemede antiinflamatuvar etkinliği olan Xigris' in kolit tedavisinde kullanılabileceği düşüncesiyle bu çalışma planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kolon Embriyoloji ve Anatomisi

2.1.1. Kolon Embriyolojisi

Gestasyonun 4. haftasında gelişen primitif barsak; ön barsak (foregut), orta barsak (midgut), son barsak (hindgut) olmak üzere üç parçaya ayrılır.

Midgutdan, ana safra kanalının girişinden başlayarak incebarsaklar ve transvers kolonun orta kısmının proksimalinde kalan kalın barsaklar gelişir. Hindgutdan transvers kolonun orta kısmından başlayarak anüsün proksimaline kadar olan kalın barsaklar ve alt ürogenital tract gelişir.

Gebeliğin 6. haftasında gelişen midgut abdominal kavite dışına çıkarken süperior mezenterik arter etrafında saat yönünün tersine 270°'lik dönüşünü tamamlayarak abdominal kavitedeki son halini alır. Hindgut ise 6. haftada anatomik septumla ventralde ürogenital sinüs ile dorsalde rektuma bölünen kloaka ile sonlanır (8).

2.1.2. Kolon Anatomisi

Kolon ileoçekal bileşkededen başlayıp anüse kadar uzanır. 130-150 cm uzunluğunda 2.5-8.5 cm çaptadır. Çekum ile terminal ileum arasında ilioçekal kapak bulunur. Bu kapak sayesinde kolonik içeriğin ileuma geçişi engellenir. Longitudinal kas lifleri bir araya gelerek tenya omentalis, tenya libera, tenya mesokolika denilen üç ayrı bant oluşturur. Sirküler kas lifleri ise haustra denilen keselenmeleri meydana getirir. Pilika semilunaris denilen hilal biçimli yapılarla haustralar birbirinden ayrılırlar. Appendices epiploica ise tenyalara tutunan periton kaplı yağlı çıkıntılardır.

Kolon duvarı sırasıyla içten dışa; Mukoza, Submukoza, İçte sirküler kaslar, Dışta longitudinal kaslar, Serozadan oluşur.

Kolon; Çekum, Çıkan kolon, Transvers kolon, İnen kolon, Sigmoid kolon, Rektum olmak üzere kısımlara ayrılır.

Omentum transvers kolonun üst kenarına tutunur. Çıkan kolon, inen kolon, hepatic ve splenic fleksura arka yüzleri genellikle retroperitonealdir. Çekum, transvers kolon, sigmoid kolon ise intraperitonealdir (9).

Çekum; kolonun ilk parçası olup, sağ iliak fossada yer alır. 6 cm uzunluğunda, 7.5 cm çapındadır. Arka yüzde psoas majör ve muskularis iliakus ile komşudur. Tenyalar çekum posteromedialinde appendices vermiformisin yapıştığı yerden başlar. İlioçekal valvin ileum tarafında villuslar bulunur.

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

Transvers kolon; hepatic fleksuradan başlayarak splenic fleksuraya doğru transvers şekilde uzanır. Yaklaşık 50 cm' dir. Hepatic fleksurada duodenum 2. parçası ve pankreas başı ile komşudur. Gastrokolik ligaman ile mideye bağlıdır. Omentum majusa tamamen yapışıktır. Dalağın hemen inferiorunda splenic fleksurayı oluşturur.

İnen kolon; splenic fleksuradan itibaren 25 cm' lik kısmını oluşturur. Sol iliak fossada yerleşir. Sol böbrek dış kenarı, musculus psoas majör, musculus quadratus lumborum ile komşudur.

Sigmoid kolon; rektum ile inen kolon arasındaki 40 cm' lik kısımdır. Promontoryumun hemen önünde rektosigmoid bileşkeyi oluşturur. Rektosigmoid bileşke yakınında tenyalar net görülmez, appendices epiploicalar kaybolur.

Rektum; promontoryumun hemen önünde başlar. Sakrum ve koksigin eğimine bağlı aşağı ve arkaya doğru yönelir. Sakral bölgeyi geçip pelvik diafragma da anüs ile

birleşir. 14 cm uzunluğunda 4 cm genişliğindedir. Haustra, appendices epiploica, tenya içermez. Üst 2/3' lük kısmı periton ile örtülüdür.

2.1.3. Kolonun Kanlanması

Süperior mezenterik arter (SMA), çölyak aksın altından aortanın önünden ayrılır. Çekum, çıkan kolon ve transvers kolonu iliokolik, sağ kolik, orta kolik dalları ile besler. İnfrierior mezenterik arter (İMA), SMA' nın altında infrarenal aortadan çıkarak inen kolon, sigmoid kolon ve üst rektumu sol kolik, sigmoidal ve süperior rektal arter dalları ile besler. İMA süperior rektal arter olarak devam eder ve internal iliak arterin medial rektal arter dalı ve internal pudental arterin inferior rektal arter dalı ile birleşerek anastomoz yapar ve rektumu beslerler.

Splenik fleksura hizasında SMA ve İMA arasında kollateraller bulunur. İleokolik, sağ kolik, orta kolik, sol kolik arterler aralarında anastomoz oluşturarak Drummond' un marjinal arterini meydana getirirler. Kolonun mezenterik sınırı boyunca yer alarak kolona vasa rectalarını verirler. Böylece mezenterik kenar boyunca devamlı kan akımı elde edilmiş olur.

İMA' nın sol kolik dalı ile SMA' nın orta kolik dalı arasındaki sabit olmayan damara ise riolan arkı denir (9,10).

2.1.4. Kolonun Venöz Drenajı

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

2.1.5. Kolonun Lenfatik Drenajı

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

2.1.6. Kolonun Sinirleri

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

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

2.2. Kolon Fizyolojisi

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

2.2.1. Su ve Elektrolit Değişimi

Kolonun majör emici fonksiyonu barsakta su ve elektrolit dengesini düzenlemektir. Kolon su ve elektrolitlerin % 90' indan fazlasını emerek enterik içeriğin hacmini azaltır. Günde yaklaşık 8 litre sıvının 6.5 litresi incebarsaklar tarafından 1.4 litre kadar sıvı ve 200 mEq kadar sodyum ve klor kolon tarafından emilir. 100 cc kadar sıvı feçes ile dışarı

atılır. Kolon günlük absorpsiyon kapasitesini 5-6 litreye çıkarabilir. Eğer incebarsakların günlük absorpsiyon kapasitesi 2 litreden az olursa kolonun sıvı emme gücü aşıldığından fekal su miktarı artar ve klinik olarak diare ortaya çıkar.

Kolon yüksek konsantrasyon gradiyentine karşı sodyum absorbe edebilme yeteneğine sahiptir. Özellikle distal kolonda böbreğin distal tübüllerindeki benzer temel hücresel mekanizmalarla sodyum ve su transportu gerçekleşir. Kolon günlük 400 mEq sodyum emebilme kapasitesine sahiptir. Dehidratasyon sırasında aldesteron stimülasyonuna kolonik cevap önemli kompensatuar mekanizmadır. İliostomili hasta bu absorpsiyon kapasitesini kaybeder, bu yüzden artmış sodyum kaybını tolere edemez.

Aldesteron ve glikokortikoidler apikal membran permeabilitesinin sodyuma karşı geçirgenliğini arttırarak absorpsiyonunu arttırır. Bu nedenle ülseratif kolitli hastalara tuzsuz diyet önerilmektedir. Kolondaki potasyum geçişi sodyumun aktif transportu sonucu oluşan elektrokimyasal gradiente göre pasif olarak gerçekleşir. Potasyum sekresyonu, lümendeki konsantrasyon 15 mEq' den daha az olduğu sürece devam eder. Bu düzey altında ise potasyum sekresyonu durur ve absorpsiyonu başlar. Aldesteron ve epinefrin sodyum ve potasyum sekresyonunu arttırırken, betanekol azaltır.

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

Besinlerin aktif emilimi minimal olsa da kolon, emilmemiş karbonhidratlardan intraluminal bakteriyel fermentasyonla oluşan kısa zincirli yağ asitlerini pasif olarak

emebilir. Emilmiş butirat, asetat ve propionat gibi kısa zincirli yağ asitleri kolonik epitelin yakıt kaynağıdır. Oluşan enerji aktif sodyum transportunda gereklidir. Ülseratif kolitli hastalarda kısa zincirli yağ asitlerinin metabolizmasının bozulması sonucu sodyum absorpsiyonu bozulur. Bu hastalarda, intraluminal kısa zincirli yağ asitleri fayda sağlayabilir.

Kolonik bakteriler protein ve üreyi parçalayarak amonyak oluşturur. Amonyum iyonları bikarbonat ile reaksiyona girerek noniyonize amonyak olarak kolon mukozası ile karaciğere taşınır. Kolon lümeni asidotik ise amonyak emilimi azalır. Orta spektrumlu antibiyotik, lavman, müshil kullanımı kolondaki bakteri miktarını azaltarak amonyum üretimi azaltılır. Karaciğer yetmezliği olan hastalarda kullanılabilen tedavi yöntemlerindedir.

Bakteri, enterotoksin, vazoaktif intestinal polipeptid, nörotransmitter, laksatifler kolondaki sıvı ve elektrolit sekresyonunu uyarır. Vazoaktif intestinal polipeptidin kolondaki su absorpsiyonunu önlediği saptanmıştır. Ülseratif kolit ve laksatiflerle oluşan diarede prostoglandinler kolondaki sekresyonun artışına neden olur (11).

2.2.2. Motilite

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

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

Segmental kontraksiyon: En sık gözlenen kontraksiyon tipidir. Longitudinal ve sirküler kasların, izole bir kolon segmentinde eşzamanlı kontraksiyonu ile

karakterizedir. Tüm kolonda oluşmakla birlikte daha çok sağ kolonda gözlenir. Sigmoid kolonda ortaya çıkışlarının divertikül oluşumunda rolü olduğu öne sürülmüştür. Bu kontraktil aktivite yiyeceklerle ve kolinerjik ilaçlarla artar.

Kitle hareketi: En az görülen kolon aktivitesidir. Uzun bir kolon segmentinde ilerletici kontraktil dalga ile karakterizedir. Koordine bir hareket ile kitle uyarısının olduğu noktanın proksimalinde sirküler bir kasılma ve distalinde de gevşeme ile karakterizedir. Kolonik içeriğin 0.5-1 cm/sn' lik hızla ileri doğru itilmesini sağlar. 20-30 sn kadar sürer ve lümeninde 100-200 mmHg' lık bir basınç artışı oluşturur. Sıklıkla kahvaltı sonrası olmak üzere günde 3-4 kez ortaya çıkar. Sigmoid kolonda da defekasyon sırasında kitle hareketi olabilir.

Kolonda üç tip myoelektrik aktivite mevcuttur. Tip 1 kısa süreli düşük amplitüdü, monofazik basit dalgalardır. Tip 2 daha uzun süreli, daha yüksek basınç oluşturabilen ortalama 2/dak hızda gelen dalgalardır. Tip 3, Tip 1 ve Tip 2' ye süperimpoze genellikle 10 cm-H₂O'dan daha düşük basınç ve bazal basınçta değişiklik oluşturan dalgalardır. Kolonun motilitesini etkileyen faktörler vardır. Bunlar:

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

lumbokolonik sinirler, vazovagal yollar ve vazolumbal kolonik refleks yolları etkili olmaktadır. Antikolinergik ilaçlar ile bu refleksin erken cevabı önlenmektedir.

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

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

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

Motilite: Henüz tam anlaşılammış kompleks ekstrensek ve intrinsek nöronal sistemlerle düzenlenir. Ekstrensek sistem vagustan ya da pelvik plexustan (S2,S3,S4) gelen preganglionik sempatik nöronları (T11,L2) içerir. İntrinsek sinir sistemi (enterik) kolon duvarındaki nöronlardan oluşur. Bu intramural nöronlar, geniş bağlantı plexusları ile ilişki halindedir. İntrinsek plexuslar kolon duvarındaki lokalizasyonlarına göre isimlendirilirler: Subserozal, myenterik (Auerbach plexusu), submukozal (Meissner plexusu) ve mukozal plexus. Ayrıca intrinsek nöronlar duysal ve motor nöronlar olarak ayrılabilir. Duysal nöronlarda oluşan uyarı motor nöronlara aktararak, komplike şekilde uyarının olduğu yerin proksimalinde kasılma, distalinde gevşeme oluşturur. Motor nöronlar eksitator veya inhibitör olabilir. Eksitator nöronlar submukozal ve subserozal plexusdaki postganglionik parasempatiklerdir. Asetilkolin en önemli eksitator nörotransmitterdir. Etkisi atropin ile bloke edilebilir. Nonkolinerjik ajan olarak substance-P enterik nöronlardan salınır ve eksitator etki gösterir. İnhibitör nöronlar ise esas olarak subserozal plexusta yerleşir. Bunlar

nonkolinerjik ve nonadrenerjiktir. Adenozintrifosfat gibi purin nükleotidlerini ve vasoaktif inhibitör peptidi nörotransmitter olarak kullanır. İnhibitör nöronlar esas olarak kitle hareketi gibi propulsif kontraksiyonların koordinasyonunu sağlar (11).

2.3. Kolon Mikroflorası

Doğumda insan kolonu sterildir. Ancak saatler içinde barsaklar ağızdan anüse doğru kolonize olur. Neonatal dönem ve hayatın ilk aylarında mide-barsak kanalına bakteriler yerleşmeye başlar ve zamanla gastrointestinal kanalın değişik yerlerinde kompozisyonları farklı olan mikroflora oluşur.

Kalın barsak, feçes kuru ağırlığının 1/3' ünü oluşturan yoğun bakteri popülasyonunu barındırır. Feçesin her gramı 10^{11} - 10^{12} bakteri içerir. Anaerobik bakterilerin aerob bakterilere oranı 1/1000 kadardır. Bacteriodes türleri en sık rastlanan kolonik organizmalardır. Feçesin milimetresinde 10^{11} - 10^{12} arasında bulunurlar. Escherichia coli ise milimetrede 10^{10} kadar bulunur. Mide-barsak lümeni içeriği, konağın metabolik süreçlerine ve immünolojik yanıtına da müdahalede bulunan aktif bir mikrobiyolojik ekosistemdir (12).

Normalde barsak mukozasının kalıtsal olarak sahip olduğu yapısal ve fonksiyonel özellikleri, lümendeki bakterilerin mukozaya kolonize olmalarına ve barsak duvarını invaze etmelerine engel olur. Enterik immün sistem ile mikroorganizmalar arasındaki dengenin bozulması, kronik inflamatuvar barsak hastalığını başlatan süreci tetikler. İBH' da barsak lümenindeki bakteri sayısının arttığına ve flora kompozisyonunun değiştiğine ait bilgiler vardır (13,14).

Ülseratif kolitli hastalar feçeslerinde adeziv ve invazif özellikleri olan Escherichia coli saptanmıştır (15). Yapılan çalışmalarda ülseratif kolit hastalarının barsak florasında Bacteriodes vulgatusun en sık izole edilen ve konsantrasyonu en yüksek olan bakteri

olduğunu ve bu hastaların serumlarında Bacillus vulgatus, Bacillus fragilis ve Clostridium romasum aglutininin titrelerinin de yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir. İBH' da şiddeti arttıkça mukozal bakteri konsantrasyonunun yükseldiği de bildirilmiştir (16).

Endojen kolon bakterileri sindirilmeden geçen karbonhidrat ve prteinlerin yıkımında önemli rol oynarlar. Ayrıca enterohepatik dolaşım ile yeniden kazanılan birçok maddelerin (bilirubin, safra asitleri, östrojen, kolestrol) metabolizmasında görev alır. K vitamini gibi gerekli maddeleri üretirler.

2.4. İnflamatuvar Barsak Hastalığı (İBH)

İBH etiyojisi tam olarak bilinmeyen ülseratif kolit (ÜK) ve crohn hastalığı (CH) klinik formlarından oluşan hastalıklardır.

ÜK, mukozal ülseratif kolit, idiyopatik ülseratif kolit olarak da adlandırılır. Kolon mukozasını tutan, barsak fonksiyonlarında değişiklik ve intestinal inflamasyon semptomları oluşturan inflamatuvar bir süreçtir.

CH, önce kronik interstisyel enterit olarak adlandırılmış, daha sonra segmenter kolit, rejyonel ileit, terminal ileit, granülatöz kolit, transmural kolit olarak da adlandırılmıştır. CH anüsden ağza kadar tüm gastrointestinal sistemi tuttuğu bilinmekte, barsak dışı bulgular kolonik bulgulardan önce görülebilmektedir.

Her iki hastalık da daima kronik bir şekilde alevlenme ve iyileşme dönemleri ile karakterizedir.

Etiyoloji tam olarak bilinmemekle beraber, inflamatuvar hücre ve sitokinlerle oluşan inflamasyondan kaynaklandığı ileri sürülmektedir (17). Etiyolojik olarak genetik, immünolojik ve çevresel faktörler değerlendirilebilir (18).

Genetik Faktörler: Batı Avrupa, Kuzey Amerika, Yahudi, Japon topluluklarında ve beyaz ırkta sık görülmektedir (19). Bazı genler de genetik yatkınlığın saklandığı ve çevresel faktörlerin bunları modüle ettiği ileri sürülmektedir. HLA DR-2, HLA DR-B1-0103, DR-12 bu gruplardan sayılabilir. ÜK' li hastalarda HLA DR-B1*1502 aleli ile pozitif bir ilişki, DR B1*13 aleli ile negatif bir ilişki saptanmıştır. Ayrıca PANCA' sı pozitif hastalarda HLA DRB1*0701, PANCA negatif hastalarda HLA DRB1*1502 daha sık görülür (20, 21). HLA sistemi yanısıra proinflamatuvar ve reglatuvar sitokinleri kodlayan genlerdeki polimorfizmin de etkili olabileceği yönünde araştırmalar mevcuttur.

Çevresel Faktörler:

-Sigara: ÜK' e karşı koruyucu, CH' nı ise uyarıcı ve alevlendirici etkisi bulunmaktadır.

-Apendektomi: ÜK' e karşı koruyucu etkisi olduğu ileri sürülmüştür.

-Diyet: Karbonhidrat, nişasta ve rafine sebze kullanımı, aşırı yağ alımı, meyve ve sebze lifli gıda alımı, fast food tipi beslenme, kahve, alkol, tahıl, hububat, anne sütünün etiyolojideki rolüne ait çelişkili yayınlar mevcuttur.

-Yüksek sosyoekonomik düzey ve hijyen: ÜK sosyoekonomik düzeyi yüksek kişilerde görülmektedir. Gelişmiş ülkelerde daha sık görülür.

-Nonsteroid antiinflamatuvar ilaç kullanımı: Bu ilaçlar ÜK' i ağırlaştırmakta ve inaktif ülseratif proktokoliti presipite ederek tekrarlamasına neden olmaktadır.

-Mevsimsel değişiklikler: ÜK' in özellikle aralık ayında pik yaptığı tespit edilmiştir. ÜK ilkbahar ve sonbaharda, CH ise kış ve sonbaharda nüks etmektedir.

-Solak olma: İBH solak insanlarda daha sık görülmektedir.

-Stres: Hastaların psikolojik durumu ve stresle hastalığın alevlenmesi daha fazladır.

-Mikrobiyal nedenler: Hemen hemen tüm ÜK'li hastalarda bakteri, virüs ya da mantarlara karşı sınırlı miktarda antikorlara rastlanmaktadır. Yapılan çalışmalarda İBH' da hastaların barsak mukozası önemli bakteri içerir. İBH' nin şiddeti arttıkça mukozal bakteri konsantrasyonunun da yükseldiği bildirilmiştir (22, 23). CH alevlenme döneminde sıklıkla Yersinia enterocolitica ve Myobacterium tuberculosis suşları identifiye edilebilmektedir. Benzer şekilde Campylobacter, Shigella, Amip ya da Cytomegalovirüs (CMV) enfeksiyonları ÜK ile benzerlik gösterebilmektedir. CH için patogonomik özellikte olan granülomlar enfektif ajanların kendilerinin ya da antijenik özellikte olan partiküllerinin doku içerisindeki birikimlerle ve reaktif antijenlerde saptanan granülomlarla benzerlik göstermektedir. Bu olgular da, inflamasyona olan immün yanıtı uzatarak, doku dekstrüksiyonunu arttırdığı bildirilmektedir. Paramyxovirüsler için de benzer teoriler mevcuttur. İnfeksiyöz teoriyi destekleyen bir başka nokta ÜK' li hastaların kolon mukoza hücrelerinin nükleus içi ve stoplazmik kompartmanlarından Epstein-Barr ve Herpes virüsüne ait inklüzyon cisimciklerinin % 75 oranında izole edilebilmesidir. CMV' lerin neden olduğu anti CMV antikorları bu hastalarda sıklıkla yüksek bulunmuştur (24).

İmmünolojik Faktörler: İBH' daki defektlerden biri ve belki de en önemlisi barsak epitel geçirgenliğinin artması ve normalde bu bariyeri geçemeyen antijenlerin ve proinflamatuvar moleküllerin barsak epitelini geçebilmesidir. Musin yapısındaki değişiklikler de bu olaya katkıda bulunur. Barsak epitelinin iltihabi olayı başlatmadaki rolü bir taraftan antijen sunan hücreler olarak majör histokompatibilite kompleksi aracılığıyla T hücrelerine sunmak, diğer taraftan da antijenler aracılığıyla uyarılan sitokin, kemokin ve diğer proinflamatuvar maddelerin meydana getirdiği inflamasyonu dalga dalga yaymaktır. Sitokinler; TNF-alfa, IL-6, IL-10, proinflamatuvar etkili olanlar;

TNF-alfa, IL-1r, IL-2, IL-6, IL-8, IL12 artmış, IL-10, IL-1ra, IL-4, IL-13 azalmıştır. Bu mediatörlerin ateş, hiperalbuminemi, CRP ve SAA artışı gibi sistemik etkileri vardır (25, 26, 27). Normalde kolon epitelinde CD8 (supresör) T lenfositler hakim iken, İBH epitelinde CD4 (helper) T lenfositlerin hakimiyeti gösterilmiştir.

Antijen sunan hücre MHC I ve II ile T- hepler reseptörü ilişkisi T hücre cevabının niteliğini belirler. İBH' nda enterositler antijen sunan hücreler olarak görev yaptıklarında normal insandakinin aksine T hücre toleransı aktivasyonu meydana gelmektedir (22).

Epitel hücreleri veya içerdikleri partiküller inflamatuvar yanıtı tetikleyerek makrofajlardan sitokinler (TNF- α , IL-2), hücreleri sitotoksik hale getirmekte, proliferasyonunu uyarmaktadır. Bu yanıt özellikle T hücreleri ve B hücrelerini stimüle ederek hem özgül olmayan sitotoksik etkiyi hem de özgül antikor yapımını artırarak antikora bağımlı sitotoksiteyi alevlendirir. Sonuçta lenfositlere ek olarak diğer lökositlerin katılımıyla birlikte araşidonik asit metabolizmasındaki ürünler ve serbest oksijen radikalleri nedeniyle doku yıkımı olur (28).

İBH' da semptomlar birbiriyle çakışır ve çoğunlukla barsak inflamasyonuna ilişkindir. İnflamasyonun derinliğine ve bulunduğu barsak bölgesine göre semptomlar farklılık gösterir. ÜK' de en önemli yakınma gece gündüz devam eden kanlı, mukuslu ve cerahatli ishaldir. Özellikle karın alt kısımlarında lokalize kramp tarzında ağrılar ile beraberdir. 10-20 arasında değişen defekasyon mevcuttur. Ateş, tenesmus, kilo kaybı, malnutrisyon diğer görülebilen klinik belirtilerdir.

CH' nda belirti ve bulgular çoğu zaman siliktir. Tipik hasta 20-40 yaşlarında uzun süredir karın ağrısı, ishal, kusma ve kilo kaybı olan genç erişkindir. Karın ağrısı patlayıcı, yemeklerle birlikte veya nokturnal ishal ve tam olmayan barsak obstrüksiyonu

mevcuttur. Anorektal ve perianal CH, kanama, fistüller, apseler, fissürler, ağrılı cilt lezyonları, inkontinans, tenesmus diğer görülebilen klinik belirtilerdir.

Patolojik olarak ÜK en sık pankolit şeklindedir. Hastalık barsak duvarında mukoza ve submukozayı ilgilendirir. Kronik olgularda serozal yüzey eksuda ile örtülüdür. Kolon haustrasyonu azalır. Erken dönemde mukoza tabanda dökülen lieberkühn kriptalarında yuvarlak hücre ve polimorf nüveli lökosit infiltrasyonu ve buna bağlı olarak gelişen kript apseleridir. Mukoza kalınlaşır, üzeri granülasyon dokusu ile kaplıdır. Ödemli ve fragil mukoza kolaylıkla kanar. İleri evrede barsak eksenine istikametinde uzanan ülserler görülür. Ülserli kısımlar arasındaki sağlam mukoza kabarıp, ödem iltihap nedeniyle şişer ve polipoid (yalancı polip, pseudopolip) bir görünüm alır.

CH ise gastrointestinal kanalın herhangi bir yerinde görülebilirse de en sık terminal ileum da görülür. Birbirinden bağımsız, arada sağlam alanların da olduğu hastalıklı bölgeler hem proksimaldeki kısımlarda hem de distaldeki kolonda sıklıkla bulunur. Tüm katlarıyla barsak duvarını tutan transmural bir hastalıktır ve lineer ülserler gelişir. En önemli patolojik bulgu submukozal ve subserozal fibrozis ve bunun neden olduğu darlıklardır. Barsak duvarı kalınlaşır, lümen daralır ve serozal yüzey sarkoid granüler hal alır. Mukozada hastalığın ilerlemesiyle büyüyen ülserler oluşur. Segmental tutulum görülür. Fistüller sıktır.

Sonuç olarak inflamasyon veya ülserle epitel bariyerinin zarar görmesi bakteriyel savunmanın hasarlanması, kolonizasyon rezistansının hasarlanması mekanizmalarından en az ikisi İBH' nin belirleyici nitelikleridir (29).

İBH' nde tedavi etiyoloji tam belli olmaması nedeniyle semptomatiktir. Medikal tedavide 5-aminosalisilat türevleri, immünoşüpresif ajanlar ve kortikosteroidler kullanılmaktadır (1,30).

2.5. Bakteriyel Translokasyon

Bakterilerin intestinal translokasyonu, gastrointestinal mikrofloranın lamina propria boyunca lokal mezenterik lenf düğümlerine (MLN) buradan da diğer organlara (karaciğer, dalak gibi) geçmesidir (31). Daha sonra enterik bakteri sistemik dolaşıma geçerek tüm vücut boyunca yayılabilir ve sepsis, şok, multiorgan yetmezliği ve ölüme neden olabilir. Bu geçiş normal şartlarda oluşmaz. Yanık, açlık, barsak tıkanması, cerrahi travma, anestezi, safra yolu tıkanıklığı, şok gibi durumlarda barsak bariyer fonksiyonunun ve mukozal bütünlüğünün bozulması, bakterilerin absorpsiyonunu artırarak barsak dışına çıkmasına, başka organlara bakteriyel translokasyonuna neden olmaktadır.

Barsak içinde kolonize bakterinin intestinal mukozayı geçerek sistemik dolaşıma geçmesini engelleyen bazı savunma mekanizmaları mevcuttur, bunlar:

- Mukoza epitelinin fiziksel bariyer fonksiyonu,
- Lümen içindeki bakteri ile intestinal epitel arasındaki mukus tabakası,
- Sekrete edilen IgA' nın bakteri duvarı üzerindeki epitelyal yapışma bölgelerini bloke etmesi,
- İntestinal peristaltizmin bakterinin uzun süre intestinal mukoza ile temasının engellenmesi,
- Mukozayı oluşturan epitelyal hücrelerin aralıklı olarak dökülmesidir.

Tüm bu lokal savunma mekanizmaları normal barsak florasının kolonizasyonunu sağlar.

Barsak bariyerinin ilk komponenti intestinal mikrofloradır. Anaerobik bakterilerin potansiyel patojen bakterilerin aşırı çoğalmasının sınırlanması ve bu bakterilerin yapışmasını engellemesine kolonizasyon direnci denir (32).

Geniş spektrumlu antibiyotikler ile anaerobik flora değişikliğe uğrarsa, bu koruyucu mekanizma kaybolur (33). Potansiyel patojen bakteriler epitele direkt tutunarak bakteriyel translokasyona neden olabilirler. Bakterilerin normalin üzerinde artışının engellenmesi bu nedenle önemlidir.

Gastrointestinal sistemde diğer önemli bir savunma mekanizması da esas elemanı musin olan normal mukoza tabakasıdır. Musin, goblet hücrelerinden salgılanan yüksek molekül ağırlıklı bir glikoproteindir. Müköz tabakada submukozal plazma hücrelerinden salgılanan sekretuar IgA' yı da içeren bir grup koruyucu ihtiva eder. Müköz tabaka anaerob mikroorganizmaların üreyebilmesi için uygun bir ortam hazırlar ve potansiyel patojen mikroorganizma lokalizasyonunu engeller. Müköz tabakadaki değişiklikler patojenik bakterilerin epitel hücre yüzeyine tutunmasına neden olur (34). Barsağın kolumnar epiteli, goblet hücreleri, lenfositler ve M hücreleri gibi özel hücreler normal epitel hücresinin yapı ve fonksiyonunun ve sıkı junctionlarının korunması bakterilerin transepitelyal ve transselüler göçünü önler.

Normal intestinal peristaltizm de önemli savunma faktörüdür. İleus gibi staz hücrelerine yapışması ile koruyucu mekanizma kırılabilir (35).

Barsağın immünolojik bariyeri; peyer plakları, lenf folikülleri, lamina propria lenfositleri, mezenterik lenfoid hücreler ve lamina propriadaki plazma hücrelerinden salgılanan salgısal IgA' dan oluşur. Salgısal IgA enterositlere bakterilerin yapışmasını engeller. Antijenik uyarı sonrasında oluşan T ve B lenfositleri peyer plaklarından ayrılarak MLN' e oradan da lenfatikler yoluyla vücudun çeşitli bölgelerine giderler (36).

Diğer bir koruyucu mekanizma da barsak-karaciğer aksıdır. Bu sistem öncelikle endotoksin translokasyonunu engeller.

Bakteriyel translokasyonu etkileyen faktörler ise:

-Barsak flora bakterilerinde aşırı çoğalma; Antibiyotik kullanımı, açlık, yanık gibi durumlarda barsak florasının stabilitesi bozularak mikroflorada artış görülür. Bu da bakteriyel translokasyonla sonuçlanmaktadır (37). En sık izole edilen bakteri *Escherichia colidir* (1, 38).

-İmmün savunmada azalma; Bakteriyel translokasyonu uyaran temel faktör immün sistemin fonksiyon bozukluğudur. İmmün sistemi herhangi bir nedenle baskılanmış hastalarda barsak bakterileri sistemik enfeksiyonlara yol açmaktadır. Atimik farelerde mezenter lenf düğümünde %50 translokasyon olduğu gösterilmiştir. Bu da T lenfositlerin translokasyonda rol aldığını göstermektedir. Metotreksat, 5-fluorourasil, siklofosfamid gibi immün sistemi baskılayan ilaçlar da bakteriyel translokasyonu uyarmaktadır (18, 39, 40).

-Barsak mukoza bariyerinde artmış geçirgenlik; Yaş arttıkça bakteriyel translokasyon oranı azalmaktadır. Yenidoğanda barsak bariyeri tam olarak gelişmediği için bakterilerin yapışmasına ve moleküllerin geçişine izin verirler. Henüz T lenfositler de oluşmamıştır. Bu nedenle barsaktan diğer doku ve organlara yayılım kolaylaşır (18).

-Açlık; Açlıkta barsağın kan akımı azalır, incebarsak kitlesi azalır. Katekolaminler gibi vasoaktif hormonların düzeyi artar. Bu da barsak mukozasında hasara yol açarak bariyerin bütünlüğünü bozar. Hücrel ve humoral bağışıklık azalır, fagositoz azalır. Sonuçta barsak permeabilitesi artarak bakteriyel translokasyon gerçekleşir.

-Yanık, travma, cerrahi stres; Açlıkla aynı değişiklikler meydana gelir, immün sistem baskılanır, stres hormonları artar, barsak kan akımı azalır ve sonuçta barsak bariyeri bozularak bakteriyel translokasyon oluşur.

-Kolestaz; Safra yollarında tıkanıklık sonucunda meydana gelen, retikuloendotelial sistem fonksiyonlarında bozulma, immün sistemin baskılanması, barsak duvarında

oksidatif hasar, barsak mukozasının yapı ve fonksiyonundaki değişiklikler bakteriyel translokasyon ile sonuçlanır.

İBH' da barsak duvarında hasarlanma nedeniyle bakteriyel florada eksilmeler meydana gelebilir ve barsak dışı alanlara enterik bakteriler geçebilir. Sistemik endotoksemiye neden olabilir. Sistemik endotoksemi ÜK ve CH 'nda gösterilmiştir. Bakteriyel translokasyonun İBH' da elektif cerrahisinde meydana gelen sepsisin yüksek insidansını açıklayabileceği ve bu şartlarda meydana gelen karaciğerdeki histolojik ve biyokimyasal hasarlara katkıda bulunabileceği öne sürülmüştür (29).

ÜK ile birlikte portal bakteriyemi ve salınan bakteriyel ürünler, toksinler kolonik mukoza inflamasyonunda önemli rol oynar. Her zaman endojen bakteriyel flora şiddetli inflamatuvar durumlarda bakteriyel translokasyonun temelini oluşturur. İntestinal bakteri çoğalması intestinal permeabilityyi artırır ve bu da sepsisten sorumludur.

Bakteriyel translokasyonun ilerlemesinde fiziksel bariyerin önemli bir faktör olduğu görüldü. Proinflamatuvar proteinler olan kemokinlerin, inflamasyonun başlamasında önemli bir rolü vardır. İnfeksiyon ve immün hastalıklarda bu spesifik sitokinlerin patojen ve patolojik süreçlere, genel sellüler enfeksiyona neden olur. Kemokinler, inflamatuvar hastalıklarda önemli bir role sahip olup aracılık ederler. Çoğu çalışmada kemokinler İBH' nın immünopatogenezinde önemli role sahip olduğu iddia edilir (18).

Normal kolonik floradaki değişiklikler sellüler immünite bozukluğu, intestinal mukozada injuri, immünolojik distansiyon, intestinal mekanik bariyerde hasar oluşturur ve bundan dolayı bakteriyel translokasyon, devamında sepsis ve multiorgan yetmezliği oluşur (1).

2.6. Drotrecogin Alfa (Activated, Xigris)

Drotrecogin alfa (DA) insan aktive protein C (APC)' nin rekombinant formudur. Plazma-derive APC ile aynı aminoasit parçalarını içeren serin preteazdır. Disülfid bağlarıyla bağlanmış bir hafif ve bir ağır zincir içeren, takriben 55 kilodalton molekül ağırlıklı bir glikopretindir. DA ve APC glikozilasyonunda yapısal farklılıklar olsa da glikozilasyon noktaları aynıdır.

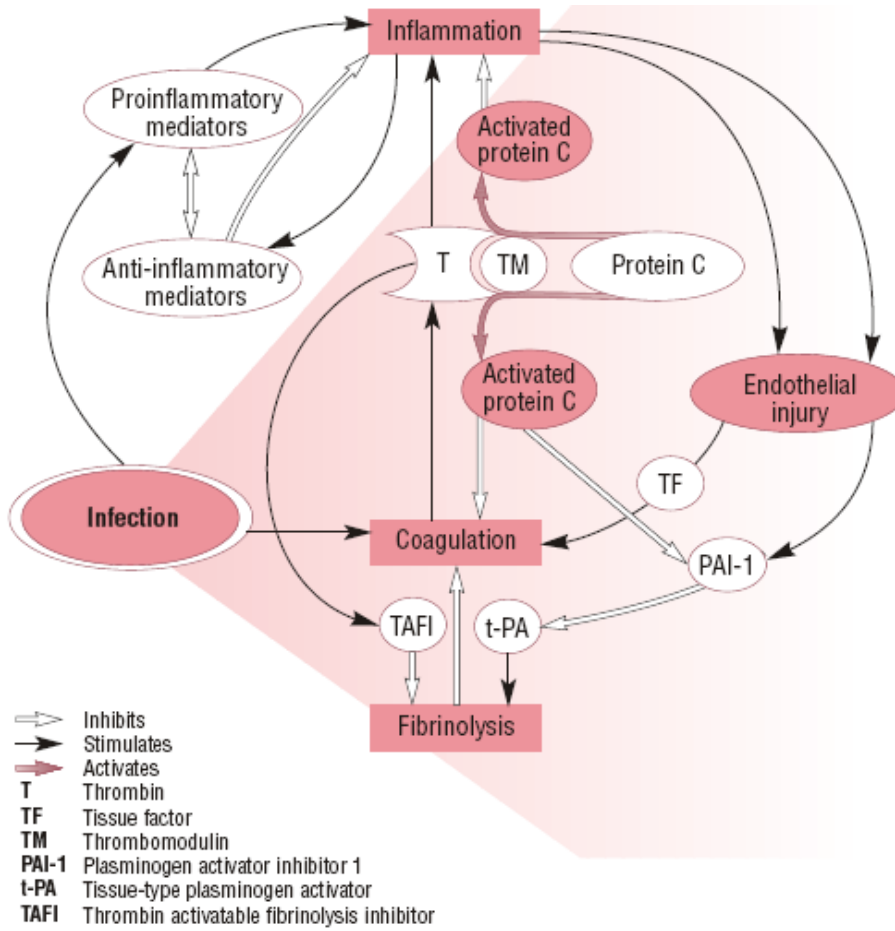
Sepsis, vücudun ciddi enfeksiyonlardan ve vücudun mikrobiyolojik invazyona cevabı sonucu meydana gelen ciddi rahatsızlıkların bir spektrumudur. Bir enfeksiyon sonrasında mikroorganizmalar veya onların toksinleri kana karışabilir ve cevap olarak konağın plazma proteinlerinden veya hücrelerinden salınan mediatörler devreye girer. APC ciddi sepsis tedavisinde önemli mediatör ve inhibitör görevi yapar (41).

Protein C (PC) antikoagülan sistemin bir komponentidir. APC FaktörVa (FVa) ve FaktörVIIIa (FVIIIa)' yı inhibe ederek antitrombotik etki gösterir. Antitrombotik özelliklerinden dolayı APC neonatal trombozis ve purpura fulminans' in eşlik ettiği konjenital PC eksikliği tedavisinde, warfarinin indüklemiş olduğu deri nekrozunda ve disseminated intravascular coagulation (DİC) tedavisinde kullanılmaktadır. Koroner damar reperfüzyonundaki rolü de araştırılmaktadır.

PC vücutta inaktive formda, dolaşım hemostaz dengesini korumayı amaçlar. PC; trombin, trombomoduline bağlandığında, inaktive formdan aktive forma değişir. Trombomodulin glikoprotein yapısında bir membran proteindir. Trombin ile bağlandığında PC'nin aktivasyonunda kofaktör görevi görür. Trombomodulin ile bağlanan trombin, fibrinojeni fibrine dönüştüremez. Sonuç olarak koagülan aktivite düşer, trombinin trombosit aktivasyon yeteneği bloklanır ve tromboliz önlenir. APC doku faktörünü inhibe eder, azalmış trombin ürünleri ve inaktivasyonu FVa ve

FVIIIa' yı inhibe ederek koagülasyonu azaltır. APC plazminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)' i inaktive ederek ve trombin activator fibrinolozis inhibitor (TAFI)' i inhibe ederek fibrinolozisi arttırır. DA uygulanan hastalarda PC ve antitrombin seviyelerinde hızlı artış, plazminojende de normal seviyelerde kalma gözlenmiştir (Şekil 1).

Sitokin üretimi ve salınımı, nötrofil aktivasyonu sağlar. Endotelial hasar inhibe edilerek inflamasyonun düşürülmesi sağlanmış olur. Ayrıca PC, APC' ye dönüştüğünde, trombin inhibe edilir ve trombin kaynaklı inflamatuvar etkilerin ortaya çıkması önlenmiş olur. APC monositler tarafından salgılanır. İnsan TNF' sini inhibe ederek lökositlerin selektinlere adezyonunu engeller ve mikrovasküler endotelde trombin indüksiyonunu sınırlayarak antiinflamatuvar etki gösterir (42).



Şekil 1: Aktive Protein C' nin olaylar zincirindeki rolü.

DA, yüksek ölüm riski olan ağır sepsisli hastalarda mortaliteyi azalttığı gösterilmiştir. Antiinflamatuvar etkisi de bulunmaktadır. Aktif iç kanama, geçirilmiş beyin ve spinal operasyon, kafa travması veya hemorajik strok, travma, intrakraniyal neoplazm, DA' ya karşı bilinen hipersensivite ve epidural kataterli hastalarda kullanımı kontrendikedir. İlaça karşı bilinen en sık olumsuz reaksiyon kanamadır (%2-3.5).

DA; intravenöz (i.v.) infüzyon için beyaz toz halinde steril ve liyofilize şekilde bulunan 5 ve 20 mgr' lık flakonlar halindedir. Flakonlar DA, NaCl, sodyum nitrat, selüloz içerirler.

DA; 24 mikrogram/kilogram/saat 96 saat i.v. infüzyon olarak uygulanır. Flakonlar 5 mgr' lık 2.5 mlt., 20 mgr' lık 10 mlt steril su ile hafifçe rotator hareketlerle, çalkalanmadan karıştırılarak homojen solusyon elde edilir. Elde edilen solusyon izotonik NaCl, ringer laktat, % 5 dekstroz (50-250 mlt' lik) solusyonlarından herhangi birisiyle dilüe edilerek uygulanır. Hazırlanan solusyon ısı ve güneş ışığından korunur. 20-25 °C' de 14 saat içinde kullanılabilir. Saklanacaksa, 2-8 °C' de 12 saat saklanabilir (42, 43).

2.7. Sitokinler

Sitokinler nonspesifik immün sistemin temel haberleşmesini sağlayan protein veya glikoprotein yapıda maddelerdir. Hücre büyümesi ve değişimi, doku tamiri ve yeniden yapılanması, immün cevabın düzenlenmesi, hücreler arasında kimyasal haberleşmesini sağlarlar. Doğal immünyetede sitokinler, mononükleer fagositler ve doğal öldürücü hücreler (natural killer, NK) tarafından üretilirler. Kazanılmış immünyetede ise T hücreleri tarafından üretilirler. Tümör Nekrozis Faktör alfa (TNF- α), IL-1, IL-6 doğal immün cevapta en önemli sitokinlerdir. Bu sitokinler tek başlarına immün cevabın

düzenlenmesinde rol oynamazlar, fakat yardımcı T hücre yanıtına neden olarak edinsel immünite gelişmesine ve yayılmasına neden olurlar (44).

Yara iyileşmesi, iskemi ve reperfüzyon hasarı, septik şok gelişimi gibi inflamatuvar durumlarda sitokinlerin rol ve önemleri anlaşılmıştır. Sitokinler farklı hücrelerde farklı etkiler göstermektedir. Hedef hücrelerde hücre yüzey reseptörlerine (immunoglobulin, hemopoetin, TNF, beta adrenerjik reseptörler) bağlanarak aynı hücreden sitokin sekresyonu, komşu hücrede veya uzak hücrelerde aktivasyona neden olabilirler.

Sitokinler, etki mekanizmasına göre proinflamatuvar ve antiinflamatuvar olarak adlandırılır. Proinflamatuvar sitokinler inflamasyonun başlangıcında salınırlar. İmmün cevabın başlaması ve sürdürülmesi için gereklidir. İnsan immün cevabında temel proinflamatuvar sitokinler TNF- α ve IL-1' dir. Bunlara yardımcı sitokinler ise IL-6 ve IL-8' dir. Antiinflamatuvar sitokinler ise inflamasyonun daha sonraki evrelerinde salınırlar. Bunlar; IL-4, IL-10, IL-11, IL-13' dür (44, 45).

Monosit, makrofaj, granülosit, endotel hücresi, dendritik hücre, keratinosit, T ve B lenfosit, mast hücresi, tümör hücresi gibi hücreler sitokin sentezleme ve salgılama yeteneğine sahiptir. Sitokinlerin etkileri reseptör sayısı ve afinitesi, ikincil haberci, gen kopyalaması, sitokin üretimi ve salınması veya metabolizması ile düzenlenir.

2.7.1. Tümör Nekrozis Faktör Alfa

TNF- α nötrofil birikiminde, granülom oluşumunun indüksiyonunda, adezyon moleküllerinin endotel hücrelerine etkilerinde ve intestinal permeabilite artışına etken olan bir maddedir. Klinik çalışmalarda serum TNF- α düzeyi, CH olan bireylerde normale göre artmış olarak tespit edilmiştir (46). Etkisini IL-6' yı arttırarak gösterir. IL-6 da hepatositler üzerine hem mitojenik hem de antiapoptotik etkiler göstermekte ve hasar sonrası karaciğer rejenerasyonunu olumlu etkilemektedir.

TNF- α , gram negatif bakterilere konak yanıtının temel mediatörüdür. Yüksek konsantrasyonlu lipopolisakkarit (LPS)' e bağlı doku hasarında, damar duvar içi pıhtılaşmada, DIC ve septik şokta temel mediatördür. TNF- α ' nın temel kaynağı LPS 'nin uyardığı mononükleer fagositlerdir. Ayrıca bu protein, antijen ile uyarılmış T hücreleri, aktive edilen doğal öldürücü hücreler ve aktive edilmiş mast hücreleri tarafından da salgılanır. İnflamasyonun patogeneğinde ilk suçlanan sitokindir (47).

Biyolojik aktivasyonunu TNF- α -RI ve TNF- α -RII reseptörlerine bağlanarak gösterir. Biyolojik etkileri vasküler endotel hücrelerinin yeni yüzey reseptörü oluşturmasına yol açarak, endotel yüzeyine lökosit adezyonuna neden olur. Mononükleer fagositlerde ve diğer hücrelerden sitokin üretimini uyarır, virüslere karşı koruyucu etki gösterir, virustan etkilenen hücrelerin immün yanıtla parçalanmasını bozar. Bunu nitrik oksit sentetaz enziminin aktivitesinin artırılmasıyla yapar. Ciddi metabolik bozukluk yaparak glukoz tüketimine ve karaciğerden glukoz üretiminden yetmezliğe neden olur (48).

2.8. Serbest Oksijen Radikalleri (SOR)

SOR bir veya daha fazla çiftlenmemiş elektron taşıyan elektrik yüklü veya yüksüz reaktif atom veya moleküllerdir. Biyolojik sistemdeki en önemli SOR oksijenden oluşan radikallerdir. Hidroksil radikali (HO), süperoksit radikal (O_2^-), hidrojen peroksit, nitrik oksit (NO) en önemlileridir.

SOR, çok kısa yaşam süreli ancak yapısındaki dengesizlik nedeniyle çok aktiftir, tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliği gösterirler (49). Hücre içinde; küçük moleküllerin otooksidasyonu, enzimler ve proteinler ile mitokondriyal elektron transportu, endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri, peroksizom salgılarıyla plazma membranından kaynaklanarak üretilir. Hücre dışında

ise; aerobik organizmaların oksijen ile redüksiyonu sonucunda (O_2^-), antineoplastik ajanlar, kinolon grubu antibiyotikler, radyasyon, alkol, uyuşturucu maddeler, çevresel ajanlar, anestezipler, aromatik hidrokarbonlar, bazı viral ajanlar ile SOR açığa çıkabilir (50, 51). Ayrıca bazı yabancı toksik maddeler tarafından da SOR üretimi arttırılabilir.

SOR' nin plazma membranları ve organellerde çok doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu, sülfhidril içeren enzimlerin oksidasyonu, enzimlerin inaktivasyonu, polisakkarit depolimerizasyonu ve DNA sarmallarının bölünmesi gibi zararlı etkileri vardır.

Lipit peroksidasyonu, serbest radikaller tarafından başlatılan ve membran yapısındaki çok doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren kimyasal bir olaydır. Membrandaki çok doymamış yağ asitlerinden bir hidrojen atomunun uzaklaşmasıyla başlayan bu zincirleme reaksiyon dizisinde, moleküler oksijenin ortama katılmasıyla, zararlı lipit peroksit radikalleri oluşur. Bu radikallerin yan ürünleri olan aldehitler ve hidrokarbon gazları; vasküler permeabilite artışı, ödem, inflamasyon, fosfolipaz aktifleşmesi, kemotaksis ve prostoglandin oluşumuna yol açarak çeşitli patolojik olaylara neden olurlar (49).

2.9. Antioksidanlar

Organizmada sürekli bir şekilde oluşan SOR' in zararlı etkilerini önleyen antioksidan koruyucu bileşikler vardır. Bunlar:

2.9.1. Enzimatik Antioksidanlar

SOR' i tutma ve radikal hasarlarını önlemede rol oynarlar.

-Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi

-Süperoksit dismutaz (SOD): Oksijenin, hidrojenperoksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. Enzimin primer fonksiyonu, hücreleri süperoksit radikalının

zararlı etkilerinden korumaktır. Böylece lipit peroksidasyonunu inhibe eder. Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda O_2^- üretimi olmasına rağmen bu enzim sayesinde intrasellüler O_2^- düzeyleri düşük tutulur. SOD, fagosite edilen bakterilerin intrasellüler öldürülmesinde de rol oynamaktadır. Bu nedenle, SOD granülosit fonksiyonu için çok önemlidir.

-Katalaz (CAT): Dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Hidrojen peroksiti oksijen ve suya parçalar. Enzimin molekül ağırlığı 240.000 daltondur. Her biri ferriprotoporfirin grubu içeren dört adet alt üniteden oluşmuştur. Ferriprotoporfirin, prostetik grubunda +3 değerlikli Fe atomu bulunan protoporfirin IX halkasıdır.

Eritrositler yüksek oranda CAT içermekte olup, CAT aktivitesinin %98'den fazlasını sağlarlar. CAT enzim aktivitesinin en yüksek olduğu dokular karaciğer ve böbrek dokularıdır. Enzim dokularda başlıca mitokondri ve peroksizom partiküllerine bağlı olarak bulunmaktadır. Bundan başka endoplazmik retikulum ve sitoplazmada da aktivite göstermektedir. CAT, okside edici enzimlerin etkisiyle ortamda oluşan hidrojen peroksiti direkt olarak suya dönüştürür. Ortamdaki hidrojen peroksit konsantrasyonunun düşük olduğu durumlarda hidrojen peroksiti substrat olarak kullanan diğer antioksidan enzimler (GSH-Px) devreye girerek hidrojen peroksiti ortamdan uzaklaştırırlar. Aynı etkileri gösteren CAT ve GSH-Px enzimleri, hücre içi yerleşimleri ve etki yerleri bakımından farklılıklar gösterirler. CAT enzimi peroksizomlarda daha etkin iken, GSH-Px enzimi başlıca sitozol ve mitokondride etkindir.

-Glutasyon peroksidaz (GSH-Px): Hidrojen peroksitin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. GSH-Px' in fagositik hücrelerde önemli fonksiyonları vardır. Fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde de oksidan strese karşı en etkili

antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma hidrojen peroksitin artışına ve şiddetli hücre hasarına yol açar.

Glutasyon peroksidaz, hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumludur. Tetramerik yapıdadır ve 4 selenyum atomu ihtiva etmektedir. Diyetteki selenyum desteği enzim aktivitesini modüle etmektedir. Enzim aktivitesi heksoz monofosfat yolunda üretilen NADPH'a bağımlıdır. Düşük konsantrasyonlardaki H₂O₂, öncelikle GSH-Px tarafından temizlenir. Bu enzim, redükte glutasyonun okside glutatyona çevrildiği ortamda hidrojen peroksiti yüksek spesifite ile detoksifiye etmektedir. Redükte glutasyonun (GSH) okside glutasyon (GSSG) haline dönüştüğü reaksiyonda GSH-Px enzimiyle hidrojen peroksit suya indirgenmiş olur. Daha sonra glutasyon redüktaz enziminin katalizlediği reaksiyon ile NADPH harcanarak, okside glutasyon redükte hale dönüştürülür.

2.9.2. Nonenzimatik Antioksidanlar

-Lipitte çözünebilen nonenzimatik antioksidanlar: Vitamin E en önemlisidir. O₂⁻, HO ve lipit peroksit radikalleri tutma özelliğine sahiptir. Vitamin C' nin yüksek radikal tutucu özelliği vardır.

-Suda çözünebilen nonenzimatik antioksidanlar: GSH-Px, tripeptit yapıdadır. GSH-Px hidrojen peroksiti, lipit peroksitleri, disülfidleri, askorbat ve SOR' leri indirgeyebilir. Hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Proteinler sülfür gruplarını redükte halde tutarak protein ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. Yabancı cisimlerin detoksifikasyonunu ve aminoasitlerin membrandan geçişine neden olur (51, 52).

2.10. Myeloperoksidaz (MPO)

Nötrofil ve monositler, primer lizozomal granüllerinde bir hem enzimi olan MPO ihtiva ederler. Polimorf nötrofil lökositlerin % 90' dan fazlasını oluşturan nötrofiller;

kompleman fragmanları, HO, reaktif oksijen radikalleri, ve sitokinler tarafından aktive edilirler. Dokuya gelen aktive lökositler MPO, elastaz, proteaz, kollojenaz, laktoferrin ve katyonik proteinler gibi enzimleri açığa çıkarırlar. Bu enzimler hem dokudaki hasarı arttırır, hem de daha fazla radikal oluşmasına neden olur. İnflamasyon durumunda MPO ekstrasellüler ortama salınır. Bu nedenle nötrofil sekestrasyonunun göstergesi olarak MPO aktivitesinin ölçülmesi duyarlı bir testtir. (53).

MPO aracılıklı antimikrobiale sistem, çeşitli bakteri, mantar, virus, mikoplazma, çok hücreli organizmalar ve memeli hücrelerine karşı etkilidir. MPO çeşitli bileşiklere okside edebilen bir enzim substrat kompleksi oluşturmak için substratı olan hidrojen peroksit ile birleşir. Bunlardan oluşan halidlerin oksidasyonu sonucu, çeşitli yollarla mikroorganizmayı etkileyebilen toksik ajanlar meydana gelir ve bunlar hücre ölümüne yol açar.

Nötrofillerin primer fonksiyonu fagositoz ve mikroorganizmaların sindirimi olmasına rağmen, bu hücrelerden toksik ajanların sızıntısı ve sekresyonu yakın hücrelere zarar verir ve fagositik kaynaklı oksidanlar ototoksik, immünoşüpresif ve mutajenik etki gösterir (54).

3. MATERYAL VE METOD

Çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji laboratuvarında en az 3 aylık 200-250 gram arısında değişen erkek Wistar Albino ratlar kullanılarak gerçekleştirildi. Denekler, çalışmadan bir hafta öncesinden oda ısısında her kafeste rastlantısal olarak 5 adet olacak şekilde serbest su ve yem verilerek saklandı. Deney öncesindeki gece su serbest olmak üzere ratlar 12 saat aç bırakıldı. Çalışma 40 rat randomize olarak 4 gruba ayrıldı (n=10).

3.1. Gruplar

Çalışma grupları şöyle oluşturuldu:

Grup I (Kontrol Grubu) (n=10): Normal ratlar, hiçbir uygulama yapılmadı.

Grup II (Kolit Grubu) (n=10): Kolit oluşumu için anestezi sonrası supin pozisyonda rektuma 5 cm ince bir kataterle girilerek 1 ml % 4 asetik asit (PH=2.3) intrarektal verildi. 30 saniye bekledikten sonra 1.5 ml fosfat tampon (PBS) ile yıkandı (55, 56). Enemayı takiben kafeslerinde standart yem ve su ile tutuldular. Kolit oluşturulmuş gruba, supin pozisyonda kuyruk veninden 4 gün i.v. % 0.09 serum fizyolojik (SF) uygulandı.

Grup III (Xigris Tedavi Grubu) (n=10): Kolit oluşturulmuş gruba, supin pozisyonda kuyruk veninden 24 mikrogram/kilogram/saat 96 saat doz 4 günde 8 saatlik aralıklarla i.v. uygulandı. Tedavi sırasında kafeslerinde standart yem ve su ile tutuldular.

Grup IV (Steroid Tedavi Grubu) (n=10): Kolit oluşturulmuş gruba, supin pozisyonda kuyruk veninden 1 mgr/kilogram/gün metilprednizolon günde 2 kez i.v. uygulandı. Tedavi sırasında kafeslerinde standart yem ve su ile tutuldular

3.2. Cerrahi Prosedür

Gruplar elde edildikten 24 saat sonra cerrahi işleme geçildi. Ratlar üzerindeki çalışmalarda sterilizasyona dikkat edildi. Tüm ratlara 100 mgr/kg ketamin hidroklorür (ketalar ilk, Eczacıbaşı), 40 mgr/kg xylazin (rompun ilk, Bayer) sağ bacağı intramüsküler uygulanarak genel anestezi ve ratların spontan solunumu sağlandı. Ratların karın bölgesi traşı sağlandıktan sonra, % 10 Povidone iodine ile deri temizliği yapıldı. Yalnızca insizyon bölgesi açık kalacak şekilde steril örtüldükten sonra orta hattan yapılan yaklaşık 4 cm' lik insizyonla laparotomi gerçekleştirildi.

Vena kavadan kan kültürü ve biyokimyasal parametreleri çalışmak üzere steril şekilde 5 cc kadar kan alındı. 3-4 cc kadar da biyokimya tüpüne konuldu. Bakteriyel translokasyonu belirlemek amacıyla 1-2 cc kadar kan Pedi-Bac T aerobik kültür şişelerine steriliteye dikkat edilerek konuldu. Bu şişe hemin, menadrn ve piroksin ilavesi ile 2 mlt' ye tamamlanmış beyin-kalp infüzyonu ve antikoagülan olarak sodium polianetol sülfonat (SPS) içermektedir. Bu şişelerin altında karbondioksit duyarlı kalorimetrik bir madde bulunmaktadır ki, bu duyarlı madde pozitif kültürde sarı renge dönüşmektedir.

Daha sonra sakrifikasyona geçildi. Karaciğer, dalak, mezenter lenf nodu, çekumdan rektum ortasına kadar kolon dokuları steril penset yardımıyla ezilerek homojenize edilip, önceden hazırlanmış 3-4 mlt' lik beyin-kalp infüzyon besiyerine taze bakteri elde etmek için pasajlandı. Daha sonra aynı dokular biyokimyasal çalışma için PBS solusyonu içinde, histopatolojik çalışma için de % 10 formaldehit içine alındı. Biyokimyasal çalışma için kanlar santrifüj edilerek -80°C ' de korundu.



Resim 1: Kontrol Grubu Kolon Makroskopik Görünümü.



Resim 2: Kolit Grubu Kolon Makroskopik Görünümü.



Resim 3: Xigris Grubu Kolon Makroskopik Görünümü.



Resim 4: Steroid Grubu Kolon Makroskopik Görünümü.

3.3. Histopatolojik Değerlendirme

Histopatolojik inceleme Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı'nda yapıldı. % 10 Formaldehid solusyonunda fikse edilen kolon, karaciğer, dalak, mezenter lenf noduna ait doku örnekleri 0.5 cm'lik parçalara bölünerek histopatolojik inceleme için standart laboratuvar takiplerinden sonra parafine gömülerek 5 mikron kalınlığında kesitler hazırlandı ve hemotoksilen-eozin ile boyandı. Olympus CX41 ışık mikroskobu ile değerlendirildi. Dokuların histopatolojik incelemesi, örneklerin hangi gruba ait olduğunu bilmeyen tek patolog tarafından yapıldı.

3.3.1. Kolonun Makroskopik Değerlendirmesi

Kolon alındıktan sonra longitudinal açıldı ve SF ile temizlendi. Kolon makroskopik skorlamasında Wallace' nin skorlama sistemi kullanıldı (57).

Kolon Makroskopik skorlama

<u>Skor</u>	<u>Kriter</u>
0.....	Hasar Yok
1.....	Hiperemi
2.....	Hiperemi ve ülseriz duvar kalınlığı
3.....	Tek alanda ülser
4.....	İki veya daha fazla alanda ülserasyon veya inflamasyon
5.....	Kolonda 1 cm' den daha büyük alanda ülserasyon veya inflamasyon
6.....	Kolonda 2 cm' den daha büyük alanda ve her cm' de 1 skor artacak şekilde hasarlanma

3.3.2. Kolonun Mikroskopik Değerlendirilmesi

Kolon dokuları rutin teknikle hazırlandıktan sonra histopatolojik olarak değerlendirildi. Kesitler çok sayıda alınarak doku hasarının uzanımı, kolit varlığı ve kolit aktivitesinin değerlendirilmesi sağlandı. Değerlendirmede Küçük tarafından modifiye edilen Macpherson ve Pfeifer skorlama sistemi kullanıldı (18, 58).

<u>Skor</u>	<u>Kriter</u>
0.....	Hasar yok
1.....	Hafif derecede mukozal veya submukozal inflamatuvar inflamasyon ve ödem, noktasal mukozal erezyon, sıklıkla muskularis mukozaya ilişkili kapiller proliferasyon
2.....	Grade I değişikliklerin kolon dokusunun % 50' sini tutması
3.....	Belirgin inflamasyon ve ödem, muskularis mukozadan submukozaya uzanım gösteren derin ülserasyon alanları, seyrek olarak inflamatuvar hücrelerin muskularis propriaya kas nekrozu olmadan uzanması
4.....	Grade III değişikliklerin kolon dokusunun % 50' sini tutması
5.....	Muskularis propriaya derin şekilde uzanım gösteren koagülasyon nekrozuyla sınırlandırılmış çok sayıda nötrofil ve daha az sayıda mononükleer hücreler içeren yaygın ülserasyon
6.....	Grade V değişikliklerin kolon dokusunun % 50' sini tutması

3.3.3. Karaciğer Dokusunun Histopatolojik Değerlendirilmesi

Karaciğer dokuları rutin teknikle hazırlandıktan sonra histopatolojik olarak dejenerasyon, konjesyon, inflamasyon, nekroz varlığına bakılarak, karaciğer hasarının olup olmadığına karar verildi.

3.3.4. Dalak Dokusunun Histopatolojik Değerlendirilmesi

Dalak dokuları rutin teknikle hazırlandıktan sonra histopatolojik olarak konjesyon varlığına bakıldı.

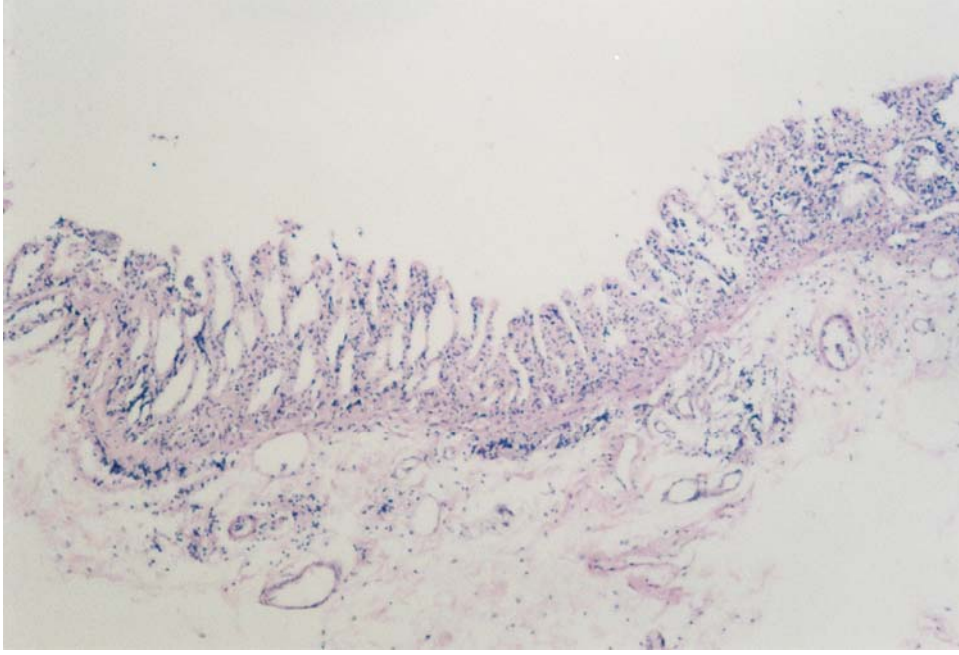
3.3.5. Mezenter Lenf Nodunun Histopatolojik Değerlendirilmesi

Mezenter lenf nodu dokuları rutin teknikle hazırlandıktan sonra histopatolojik olarak reaktif lenf nodu, histiyosit infiltrasyonu, thingle body makrofajlı olan germinal merkezli lenf nodu varlığına bakılarak, mezenter lenf nodunda hasar olup olmadığına karar verildi. Thingle body makrofaj; histiyositlerin parçalanarak makrofaj tarafından fagosit edilmesiyle oluşur. İnflamasyonun göstergesi kabul edilir.

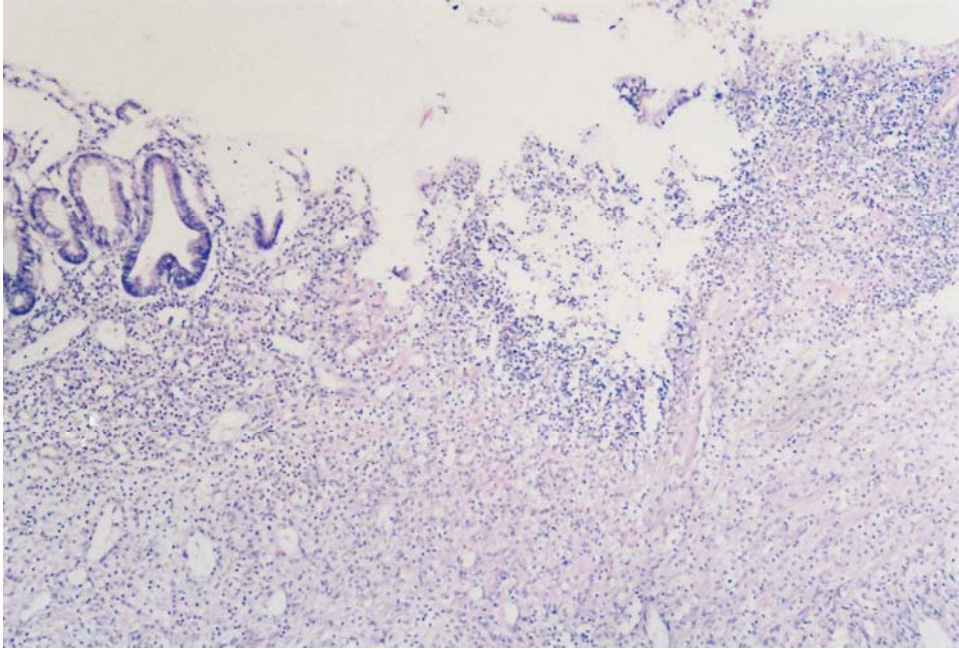
3.4. Mikrobiyolojik Değerlendirme

Mikrobiyolojik inceleme Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı'nda yapıldı. Kan kültürü için Pedi-BacT kültür şişesine alınan örnekler, otomatize kültür sisteminde değerlendirildi. Ekim yapılan şişeler 35-37 °C' de enkübe edilip, sürekli çalkalanmakta ve 10 dakika aralarla izlenmektedir. Sıvı kültür şişelerinde oluşan karbondioksit üretimi sürekli olarak kolorimetrik prensibe göre ölçülmekte ve cihazın her hücrendeki reflektometreler tarafından sürekli izlenmektedir. Pozitif şişe saptandığında görüntülü ve sesli mesaj ile pozitifliği bildirmektedir. Bu sistemde pozitif saptanan şişelerden kanlı agar ve Eosin-Metilen-Blue agar (EMB agar) plaklarına pasaj yapılarak 37 ° C' de 24 saat süreyle inkübe edildi. Bu süre sonunda üreyen mikroorganizmalar geleneksel yöntemlerle tanımlandı.

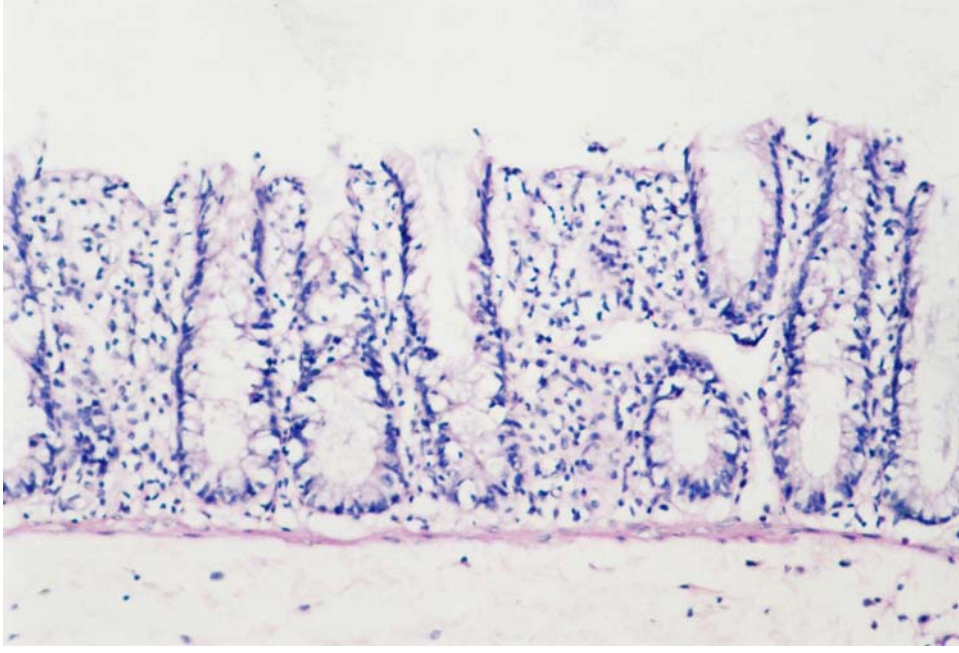
7 gün içinde pozitiflik sinyali vermeyen örnekler negatif kabul edildi. Steril cam ŐiŐelerdeki beyin-kalp infüzyon besi yerine konulan doku rnekleri 37 ° C' de 24-48 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda sıvı besi yerinden kanlı agar ve EMB agar besi yerlerine pasajlar yapılarak 24 saat 37 ° C' de inkübe edildi. Üreyen mikroorganizmalar geleneksel mikrobiyolojik yöntemlerle tanımlandı.



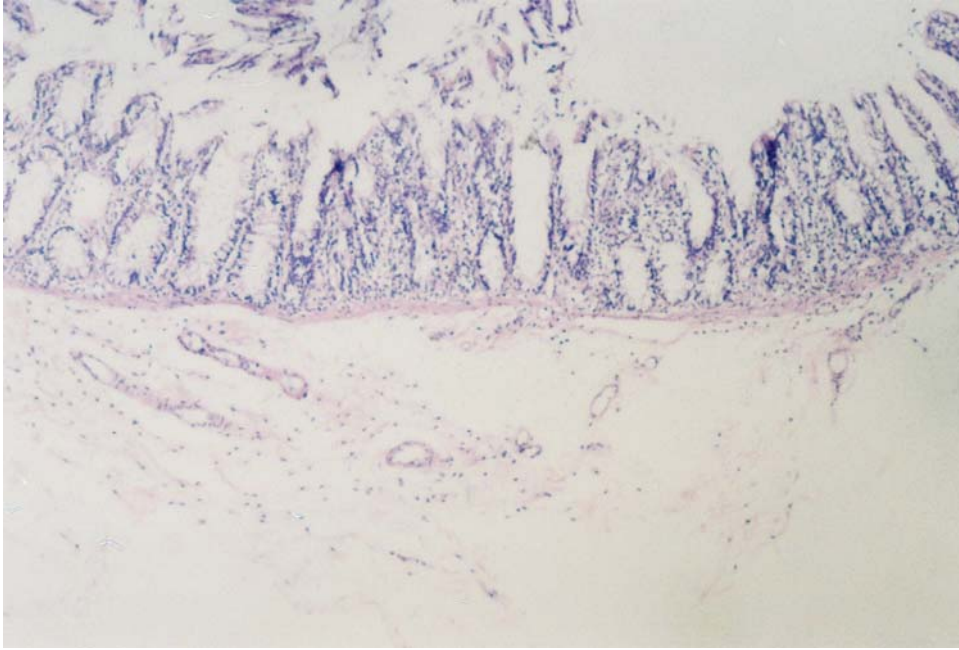
Resim 5: Kolonda Grade 4 Histopatolojik Değişiklik (Kolit Grubu) (X100).



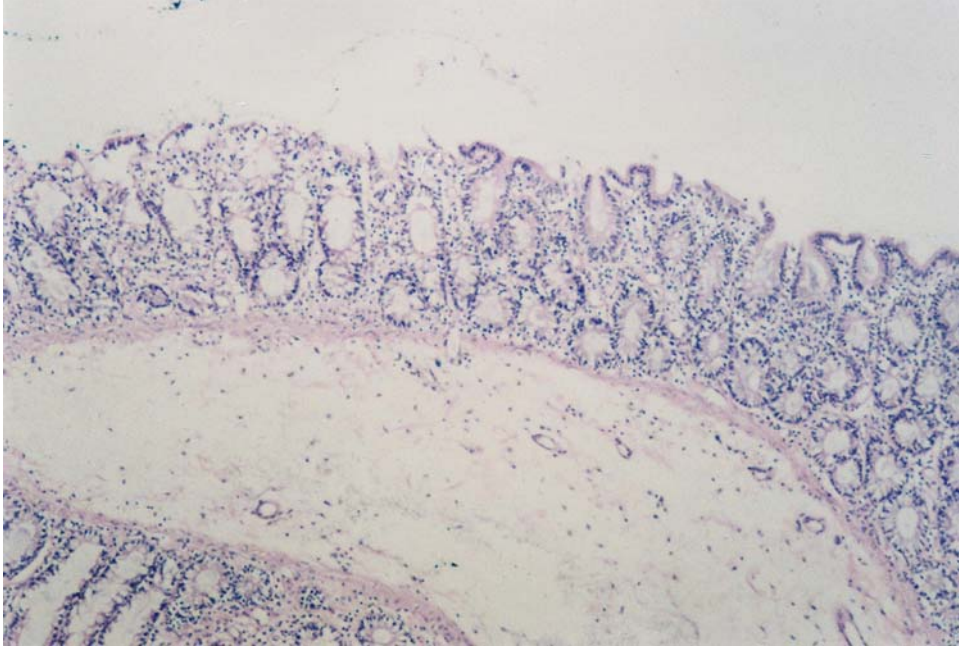
Resim 6: Kolonda Grade 5 Histopatolojik Değişiklik (Kolit Grubu) (X100).



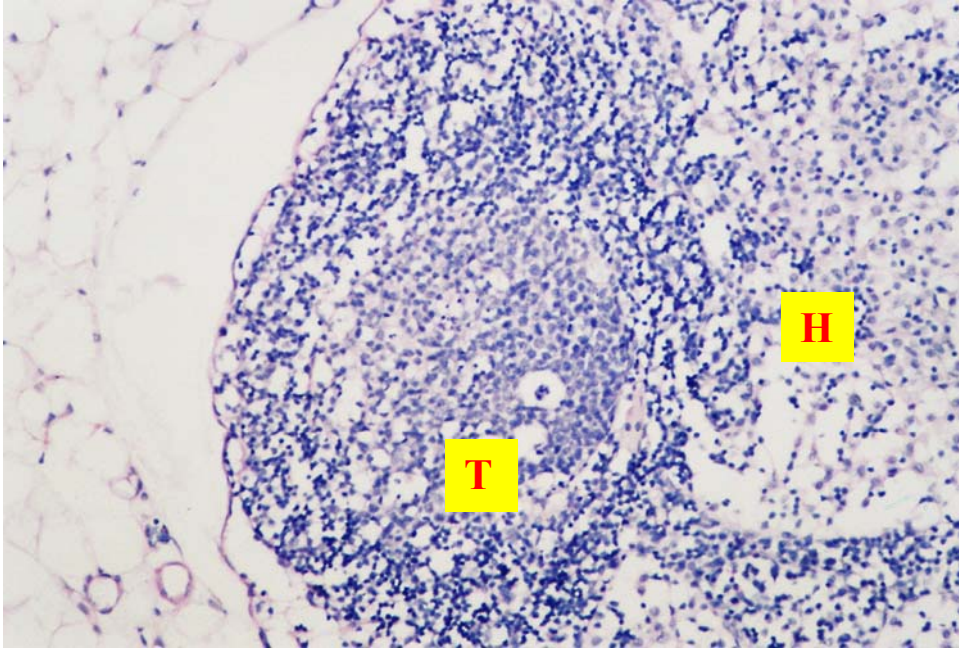
Resim 7: Kolonda Grade 1 Histopatolojik Değişiklik (Xigris Grubu) (X200).



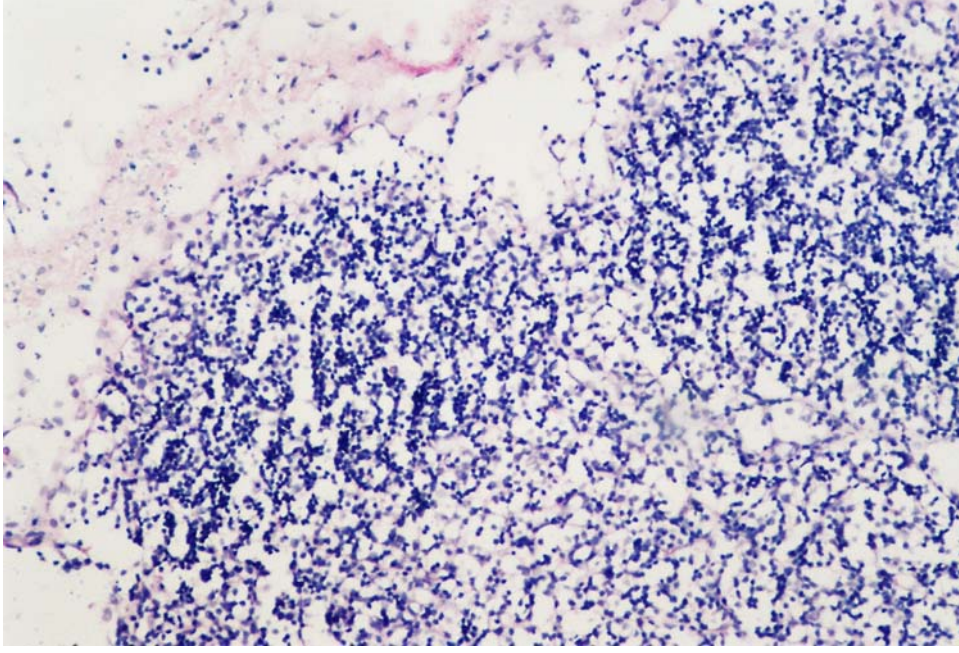
Resim 8: Kolonda Grade 2 Histopatolojik Değişiklik (Xigris Grubu) (X100).



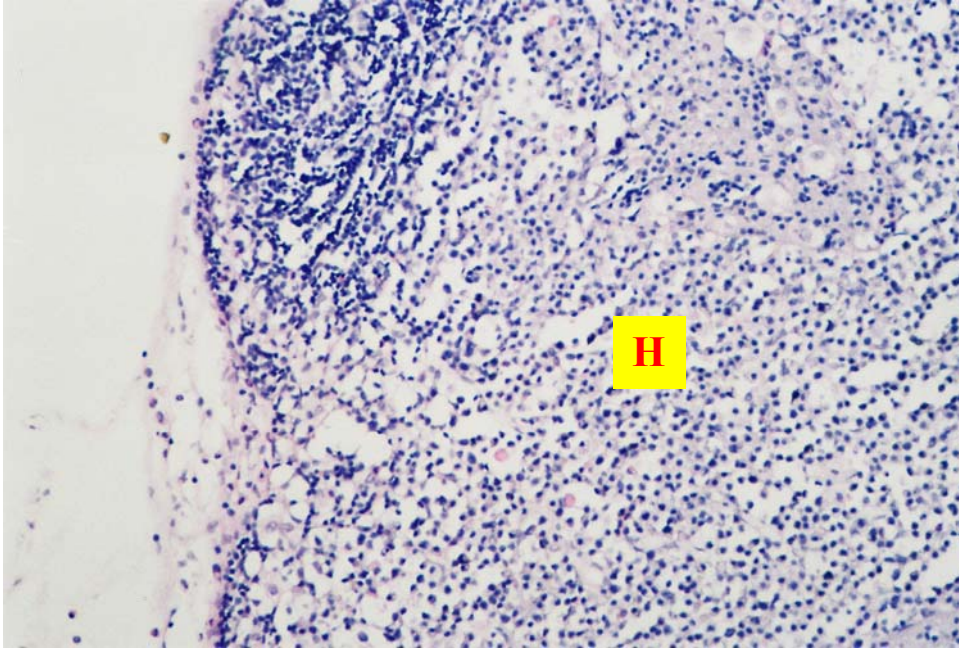
Resim 9: Kolonda Grade 2 Histopatolojik Değişiklik (Steroid Grubu) (X100).



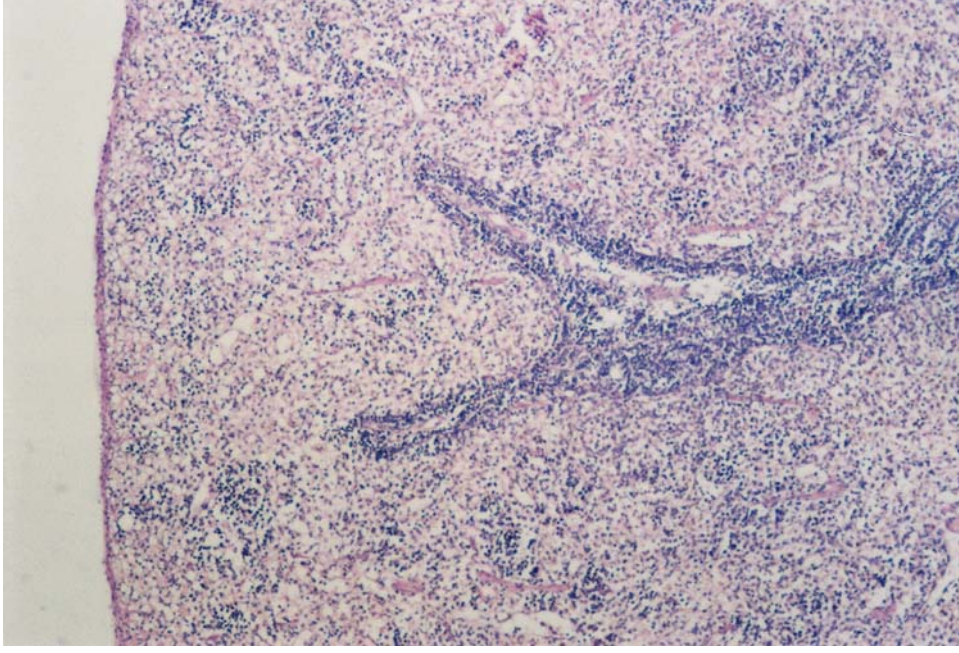
Resim 10: Mezenter Lenf Nodunda Thingle Body (T) Makrofaj İçeren Germinal Merkez ve Histiyosit İnfiltrasyonu (H) (Kolit Grubu) (X200).



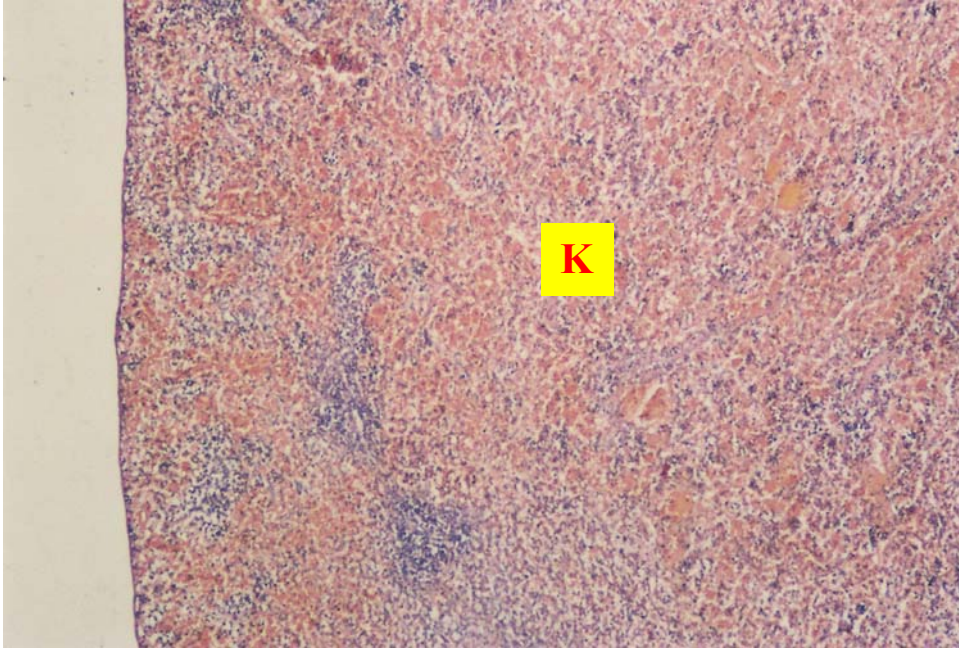
Resim 11: Mezenter Lenf Nodu (Xigris Grubu) (X200).



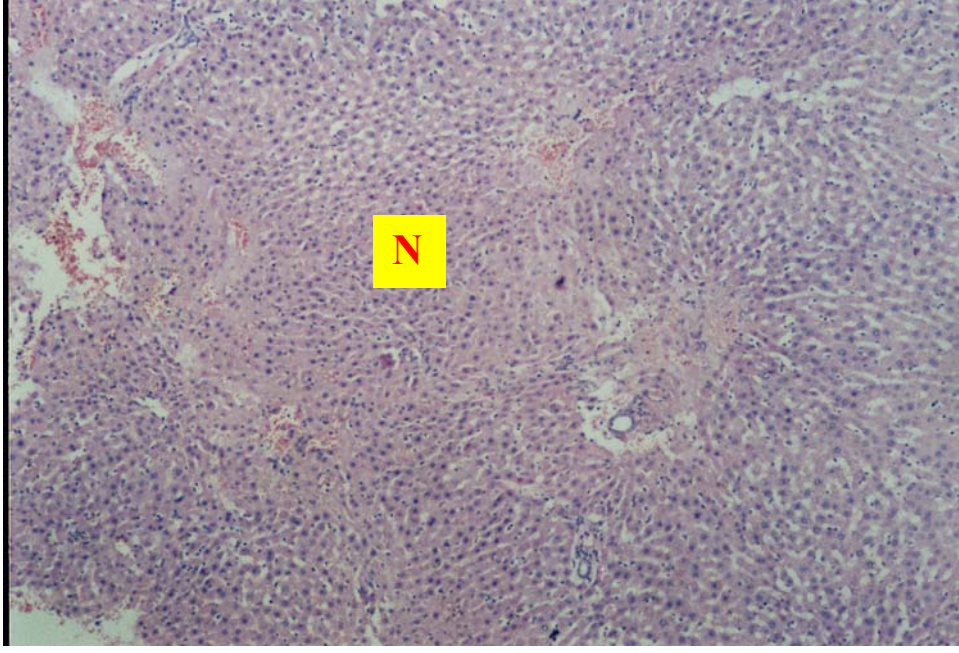
Resim 12: Mezenter Lenf Nodunda Histiyoit (H) İnfiltasyonu
(Steroid Grubu) (X200).



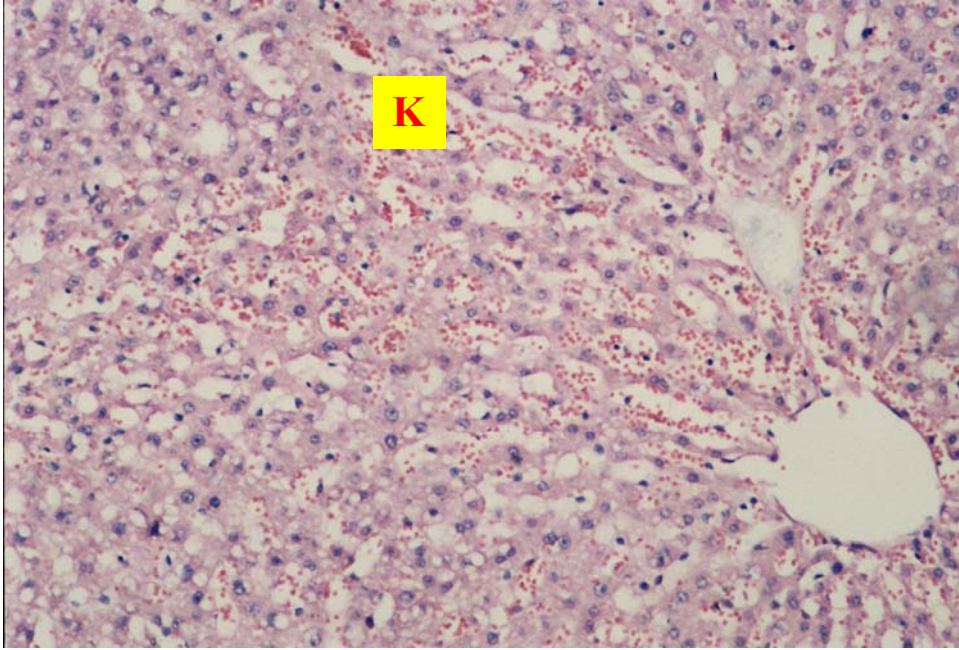
Resim 13: Dalak Histopatolojik Görünümü (Konjesyon Yok)
(Kolit Grubu) (X100).



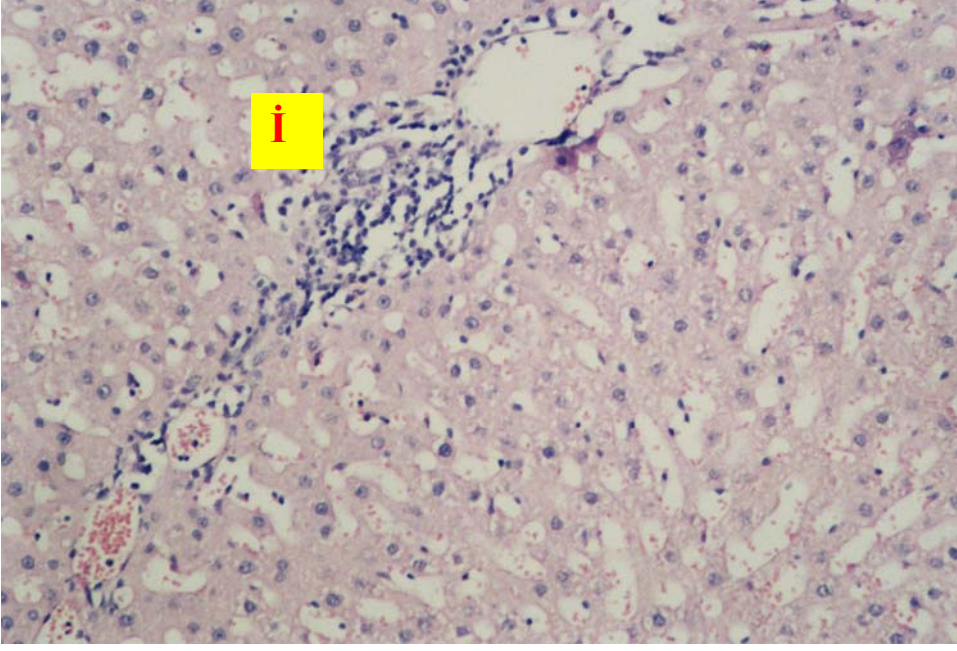
Resim 14: Dalak Histopatolojik Görünümü (Konjesyon Var)
(Xigris Grubu) (X100).



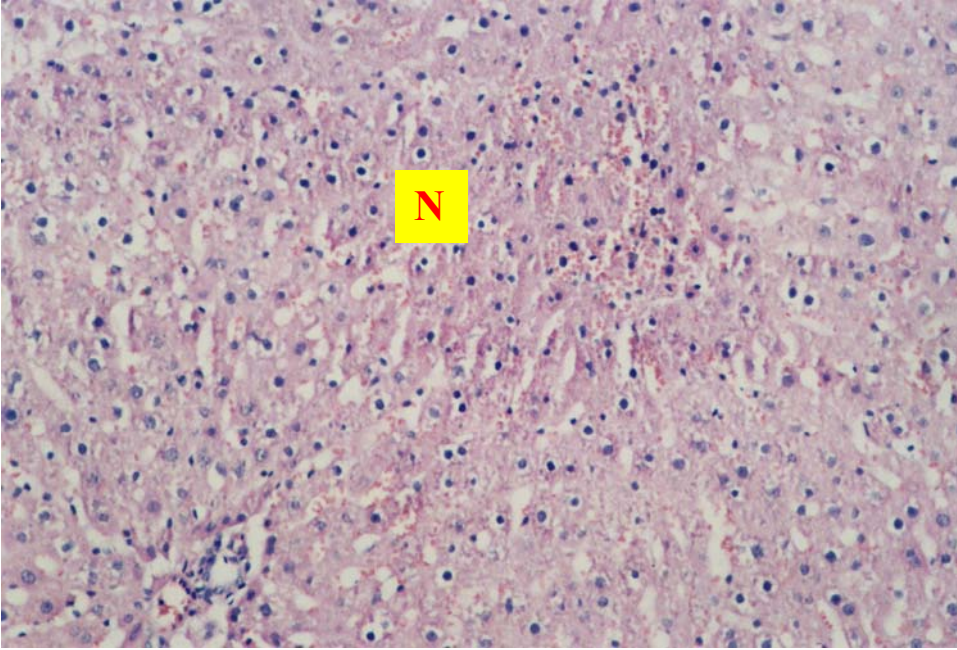
Resim15: Karaciğerde Fokal Nekroz (N) ve Fokal Dejenerasyon
(Kolit Grubu) (X100).



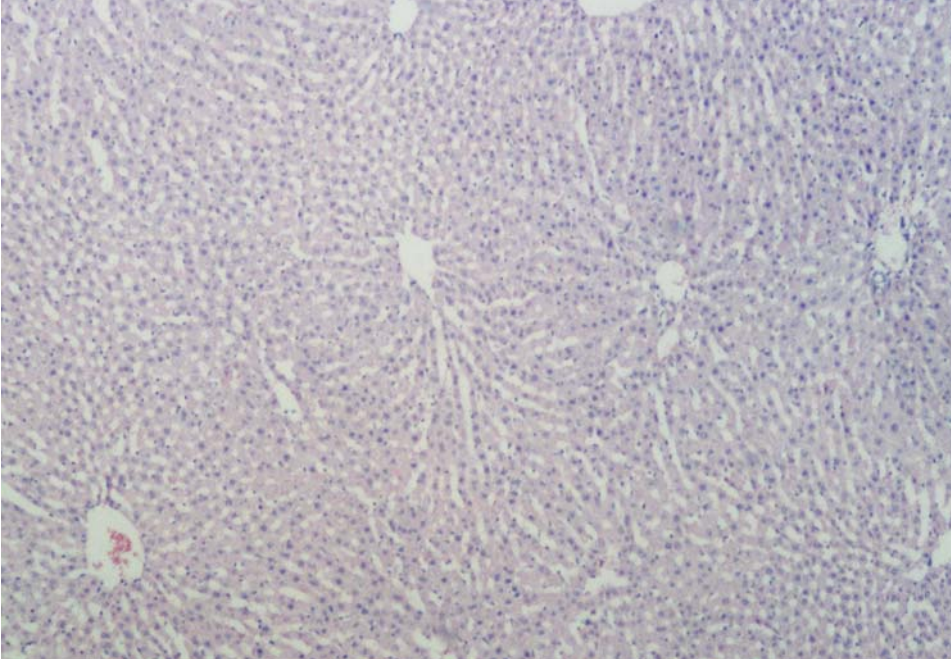
Resim 16: Karaciğerde Yaygın Dejenerasyon ve Konjesyon (K)
(Kolit Grubu) (X200).



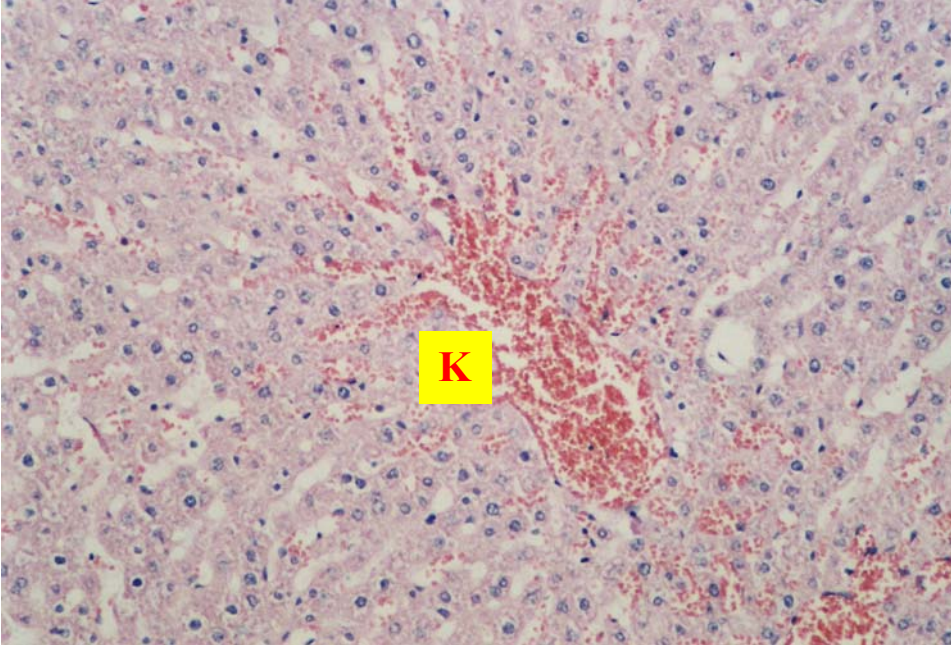
Resim 17: Karaciğerde Fokal Dejenerasyon ve Multinükleer Dev Hücre İçeren Fokal İnflamasyon (İ) (Kolit Grubu) (X200).



Resim 18: Karaciğerde Yaygın Dejenerasyon ve Fokal Nekroz (N) (Xigris Grubu) (X200)



Resim 19: Normal Karaciğer Histopatolojik Görünümü
(Steroid Grubu) (X100).



Resim 20: Karaciğerde Yaygın Dejenerasyon ve Konjesyon (K)
(Steroid Grubu) (X200).

3.5. Biyokimyasal Değerlendirme

3.5.1. Serumda Yapılan Biyokimyasal Değerlendirme

Serumda yapılan biyokimyasal analizlerde TNF- α , alkalen fosfataz (ALP), aspartat transaminaz (AST), alanin transaminaz (ALT), laktat dehidrogenaz (LDH), MPO çalışıldı. Çalışma serum aktiviteleri otoanalizer Abbott Aeroset (IL 60064 USA) ile yapıldı. Serum AST, ALT, LDH, ALP lümü için U / L kabul edildi.

Serum rnekleri için kan örnekleri 4000 devir/dakikada 10 dakika santrifüj edilerek serum ayırırıldı. Serum rnekleri ependorf tüplerine konularak analiz gününe kadar -80   C' de bekletildi.

TNF- α , rat spesifik TNF- α ELİSA assay (Biosource International, Immunoassay kit, Camarillo, California 93012 USA) ile çalışıldı. TNF- α lümü için birim pg/mlt kabul edildi. MPO serum ve doku konsantrasyonları ELİSA (Immunodiagnostik AG, Benheim, Deutschland) ile çalışıldı. MPO lümü için ng/mlt kabul edildi.

3.3.2. Dokuda Yapılan Biyokimyasal Değerlendirme

Biyokimyasal analiz için dokular SF ile yıkandı ve tartıldı. 1/10 oranında PBS ile dilüe edildi. Daha sonra homojenizasyona geçildi. Homojenizatrle 9600 devir/dk'da 60 saniye süreyle mekanik olarak homojenize edildi. Burada parçalanan numuneler 30 saniye süreyle sonifikasyon işlemine tabi tutuldular. Bu süre sonunda elde edilen % 10'luk homojenatlar, +4 C'de 10 dakika süreyle 5000 g'de santrifüj edilerek süpernatantlar elde edildi. Bu süpernatantlarda, MDA düzeyleri ile MPO, GSH-Px, SOD ve CAT aktiviteleri çalışıldı.

-SOD aktivitesinin llmesi:

SOD aktivitesinde kullanılanlar: Potasyum dihidrojen fosfat, Merck (Almanya) Disodyum hidrojen fosfat dihidrat, Merck (Almanya) CAPS, Sigma (Almanya)

Iodonitrotetrazolyum violet, Sigma (Almanya) Ksantin, Merck (Almanya) Ksantin oksidaz, Sigma (Almanya) Titripleks III, Merck (Almanya) CAPS tamponu (pH: 10.2), 40 mM: 8.85 gr CAPS tartılıp 400 ml distile suda çözülüp pH'ı 10.2'ye ayarlandıktan sonra hacmi 1000 ml'ye tamamlandı. 0.94 mM EDTA (0.36 gr) tartılıp CAPS tamponuna katıldı. Ksantin çözeltisi (0.05 mM): 7.6 mg ksantin tartıldı ve hacmi 40 mM CAPS tamponu (0.94 mM EDTA içeren; pH: 10.2) ile 1000 ml'ye tamamlandı. Çözelti, 0.025 mM 2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolyum klorür (INT) içermektedir ve +2 / +8 °C'da muhafaza edildiğinde 10 gün süreyle kararlıdır. Ksantin oksidaz çözeltisi (80 U/L): 56 µl ksantin oksidaz standardından alınır, 10 ml distile su ile seyreltilir. Çözelti, günlük hazırlanır.

Sun ve arkadaşlarının metoduna dayanmaktadır (59).

Deneyin prensibi: SOD çeşitli yollarla ortaya çıkan süperoksit (O_2^-) radikalinin H_2O_2 'ye dismutasyonu reaksiyonunu katalizler. Ksantin-ksantin oksidaz (XOD) sistemi tarafından üretilen O_2^- radikallerinin (reaksiyon 1), 2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-fenil tetrazolyum klorit (INT) ile meydana getirdiği kırmızı renkli formazon boyasının (reaksiyon 2), 505 nm dalga boyunda verdiği optik dansitenin spektrofotometrik olarak okunması esasına dayanmaktadır. Bu reaksiyona dayanan optik dansitedeki azalmadan yararlanarak, reaksiyonun % inhibisyonu belirlendi.

Deneyin Yapılışı: 25 µl homojenattan alındı ve % inhibisyonun % 30-60 arasında olması için örnekler dilüe edilmedi. 0.025 ml homojenata, 0.850 ml 0.05 mM ksantin çözeltisi (0.025 mM INT içeren) ve 40 mM'lık CAPS (0.94 mM'lık EDTA içeren) ilave edildi. 0.125 ml ksantin oksidaz (80 U/L) ilave edildikten hemen sonra 505 nm'de 37 °C'de 30 saniyelik gecikme fazının ardından, havaya karşı başlangıç absorbansı (A_1)

ve 3 dakika sonra da son absorbans (A_2) okundu. Aynı işlemler köre karşı denemeyele de tekrarlandı.

Standart (5.2 U/mL) çalışılarak hazırlanan % inhibisyon-konsantrasyon grafiğinden yararlanılarak konsantrasyonlar saptandı. Enzim aktivitesi U/ml olarak bulundu. Bu değerler homojenizasyon sırasındaki dilüsyon katsayısı ile çarpılıp dokunun protein değerine bölünerek U/mgr protein birimi şeklinde sonuçlar verildi.

-GSH-Px Aktivitesinin Ölçümü:

GSH-Px aktivitesinde kullanılanlar: Potasyum dihidrojen fosfat, Merck (Almanya) Disodyum hidrojen fosfat dihidrat, Merck (Almanya) Glutatyon redüktaz, Fluka (İsviçre) β -NADPH, Sigma (Almanya) Glutatyon-redükte, Sigma (Almanya) Kümen hidroperoksit, Sigma (Almanya) Titripleks III, Merck (Almanya) Kümen hidroperoksit çözeltisi (0.18 mM): Kümen hidroperoksitten 1.62 μ l alınır, 50 ml distile su ile seyreltilir. Çözelti, günlük hazırlanır. Glutatyon çözeltisi (4 mM): 0.0614 gr glutatyon tartılır ve hacmi 50 mM fosfat tamponu (pH: 7.2 olan ve 4.3 mM EDTA içeren) ile 50 ml'ye tamamlanır. Glutatyon redüktaz ($\geq 0,5$ U/L): 10 μ l glutatyon redüktaz alınır, 10 ml distile su ile seyreltilir. Bundan 50 μ l çekilip, 50 mM fosfat tamponu (4.3 mM EDTA içeren ve pH: 7.2 olan) ile 50 ml'ye seyreltilir. Çözelti, günlük hazırlanır. β -NADPH çözeltisi (0.34 mM): 0.0116 gr β -NADPH tartılıp hacmi 50 mM fosfat tamponu (pH: 7.2 olan ve 4.3 mM EDTA içeren) ile 50 ml'ye tamamlanır.

Deneyin prensibi Paglia ve Valentine'nin metoduna dayanmaktadır (60).

Deneyin prensibi: Glutatyon peroksidaz, kümen hidroperoksid ile glutatyonun oksidasyonunu katalizler. Okside glutatyon, NADPH varlığında glutatyon redüktaz tarafından indirgenir. Bu arada NADPH, $NADP^{+}$ ye oksitlenir. NADPH'nin azalmasına

bağlı olarak 340 nm'de meydana gelen absorbans değişimi ölçülerek enzim aktivitesi hesaplandı.

Deneyin yapılışı: Bir deney tüpünde 1 ml; glutatyon (4 mM), glutatyon redüktaz (≥ 0.5 U/L) ve β -NADPH (0.34 mM) çözeltilerini içeren reaktif ile 20 μ l numune karıştırılıp, ölçümden hemen önce 40 μ l kümen hidroperoksit (0.18 mM) ilave edildi. Enzim aktivitesini ölçmek için 340 nm'deki absorbans değişimi hesaplandı. U/L cinsinden bulunan enzim aktivitesi, homojenizasyon esnasındaki dilüsyon katsayısı ile çarpıldıktan sonra doku protein değerine bölünerek sonuçlar U/mgr protein birimi olarak ifade edildi.

-Katalaz Aktivitesinin Ölçümü:

Katalaz aktivitesinde kullanılanlar: Potasyum dihidrojen fosfat, Merck (Almanya) Disodyum hidrojen fosfat dihidrat, Merck (Almanya) Hidrojen peroksit, Merck (Almanya) 50 mM fosfat tamponu: 2.7218 gr KH_2PO_4 ve 5.3397 gr $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tartılarak 500 ml distile suya tamamlanır. 30 mM hidrojen peroksit için: 0.34 ml % 30'luk hidrojen peroksit, 100 ml fosfat tamponu ile dilüe edildi.

Aebi metoduna dayalı olarak yapıldı (61).

Deneyin prensibi: Hidrojen peroksidin CAT tarafından parçalanması temeline dayalı UV spektrofotometrik yöntem ile CAT aktiviteleri tayin edilmiştir.

Hazırlanan homojenat, fosfat tamponuyla 10 kat dilüe (0.2 ml homojenat + 1.8 ml fosfat tamponu) edildi. 2 ml'lik bu dilüe homojenat üzerine taze hazırlanan ve 30 mM H_2O_2 içeren fosfat tampon çözeltilisinden 1 ml eklendi. 240 nm'de ilk 30 saniye içinde 15'er saniyelik absorbans azalması bulunarak, k değeri aşağıdaki şekilde hesaplandı:

$$k = 2.3 / \Delta t \times (\log A_1/A_2) \times (a / b)$$

A_1 : 240 nm deki başlangıç absorbansı ($t_1=0$)

A_2 : 240 nm deki 15. sn'deki absorbansı ($t_2=15$)

a: dilüsyon faktörü

b: homojenatın protein miktarı

Buna göre katalaz birimi U/mgr protein olarak belirlendi.

-Lipit peroksidasyonunun Ölçümü:

Lipit peroksidasyonunda kullanılanlar: Trikloroasetik asit (TCA), Merck (Almanya) Tiyobarbitürik asit (TBA), Merck (Almanya) TCA çözeltisi (% 10): 10 gr TCA tartılıp, bir miktar distile suda eritilir ve son hacim 100 ml'ye tamamlanır. TBA çözeltisi (% 0.67): 0.67 gr TBA tartılıp, bir miktar distile suda eritilir ve son hacim 100 ml'ye tamamlanır.

Lipit peroksidasyon ürünlerinden olan MDA, Draper ve Hadley'in çift kaynatmalı tiyobarbitürik asit reaktivitesi metodu kullanarak ölçüldü (62).

Deneyin prensibi: Yağ asidi peroksidasyonunun son ürünü olan MDA, TBA ile reaksiyona girerek, 532 nm'de maksimum absorbans veren renkli bir kompleks oluşturur.

Deneyin yapılışı: 0.5 ml serum, üzerine 2.5 ml % 10'luk TCA eklenerek karıştırıldı. 15 dakika kaynatılıp soğutuldu. 5000 devir/dk'da 10 dakika santrifüj edildi. 2 ml süpernatant alınıp, üzerine 1ml % 0.67'lik TBA eklendi. Tüpler karıştırıldıktan sonra 15 dakika kaynatıldı ve hemen soğutuldu. 532 nm'de absorbanları, numune yerine distile su konularak hazırlanan köre karşı okundu.

Sonuçlar, MDA-TBA kompleksinin 532 nm'deki ekstinsiyon katsayısından ($1.56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$) yararlanılarak nanomol/mg protein olarak hesaplanıp, $\mu\text{mol/gr}$ protein olarak ifade edildi.

3.6. MPO Tayini

Dokular 1 gr tartılarak 9 ml 50 mMol, PH=6 PBS tamponu içerisinde homojenizatörle (Ultra-Turrax T25 model, Germany) 30 saniye süreyle, buz banyosu içerisinde, homojenize edildi. Bu süre sonunda elde edilen % 10' luk homojenatlar 30 saniye süreyle, buz banyosu içerisinde bekletildi (Bandelin Sonopuls UW 2070, Germany). Elde edilen doku homojenatları +4° C, 12.000 g'de, 15 dakika süreyle santrifüj edildi. Doku homojenatları ve serum MPO 450 nmt' de immünohistokimyasal ELİZA kitiyle (İmmünohistokimyasal, Bensheim, Germany) çalışıldı. Sonuçlar ng / ml olarak değerlendirildi.

3.7. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmeler "SPSS 12.0 for Windows" istatistiksel programı kullanılarak yapıldı. Tüm gruplarda çalışılan parametrelerin ortalama \pm standart sapma' sı hesaplandı. Bakteriyel translokasyon ve histolojik skorlamada genel olarak 4 grup arasında anlamlı bir fark olup olmadığını anlamak için Pearson X^2 testi, kan ve dokuda yapılan biyokimyasal analiz için gruplar arasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. P değerinin 0.05'den küçük olması anlamlı olarak kabul edildi.

4. SONUÇLAR

4.1. Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları

4.1.1. Kolon Makroskopik Değerlendirme Sonuçları

Kolon makroskopik skorlamasına göre; kolon mukozasındaki hiperemi, ülserasyon, inflamasyon değerlendirildi. İstatiksel analiz sonuçlarına göre; kolit grubu ile xigris, steroid grupları arasında anlamlı fark gözlemlendi. Xigris ve steroid grupları arasında ise anlamlı fark gözlenmedi (Tablo 1-2).

Tablo 1: Ratlarda kolon makroskopik skorlama
(Ortalama \pm Standart Sapma)

Gruplar	Makroskopik skor
Grup 1	0
Grup 2	2,10 \pm 0,99
Grup 3	1,10 \pm 0,87
Grup 4	1,10 \pm 0,87

Tüm gruplar arasında $P < 0.05$

Tablo 2: Ratlarda kolon makroskopik skorlama
İstatiksel analiz

Grup Karşılaştırma	P Değeri
Grup 2-3	0,033
Grup 2-4	0,033
Grup 3-4	1

4.1.2. Kolon Mikroskopik Değerlendirme Sonuçları

Kolon mikroskopik skorlamasına göre;

-Mukoza, submukoza veya muskularis mukozaya uzanım gösteren inflamatuvar inflamasyon ve ödem,

-Noktasal mukozal erezyon veya muskularis mukozadan submukozaya uzanım gösteren derin ülserasyon alanları,

-Muskularis propriaya derin şekilde uzanım gösteren koagülasyon nekrozuyla sınırlandırılmış çok sayıda nötrofil ve daha az mononükleer hücreler içeren yaygın ülserasyon değerlendirildi.

İstatiksel analiz sonuçlarına göre; kolit grubu ile xigris, steroid grupları arasında anlamlı fark gözlenmedi. Xigris ve steroid grupları arasında hiç fark yoktu (Tablo 3-4).

Tablo 3: Ratlarda kolon mikroskopik skorlama (Ortalama \pm SS)

Tüm gruplar arasında $P < 0.05$

Gruplar	Mikroskopik skor
Grup 1	0,30 \pm 0,48
Grup 2	2,90 \pm 0,99
Grup 3	2,30 \pm 0,82
Grup 4	2.30 \pm 0,82

Tablo 4: Ratlarda kolon mikroskopik skorlama

İstatiksel analiz

Grup	P Değeri
Karşılaştırma	
Grup 2-3	0,154
Grup 2-4	0,154
Grup 3-4	1

4.1.3. Karaciğer Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları

Tüm gruplarda karaciğerdeki histopatolojik değişikliklerde karaciğerde fokal veya yaygın dejenerasyon, fokal veya yaygın nekroz, konjesyon ve multinükleer dev hücre içeren fokal veya yaygın inflamasyon değerlendirildi.

İstatiksel analiz sonuçlarına göre gruplar arasında karaciğer etkilenmesinde anlamlı fark yoktu (Tablo 5-6).

Tablo 5: Karaciğerdeki patolojik değerlendirme (Ortalama \pm SS).

Patolojik Değişiklik	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
Dejenerasyon	0	0.90 \pm 0.73	1.40 \pm 0.84	1.70 \pm 0.67
Nekroz	0	0.20 \pm 0.42	0.30 \pm 0.48	0
Konjesyon	0	0.20 \pm 0.42	0.20 \pm 0.42	0.20 \pm 0.42
İnflamasyon	0	0.20 \pm 0.42	0.10 \pm 0.31	0

Kolit, xigris, steroid grup $P < 0.05$.

Tablo 6: Karaciğerdeki patolojik değerlendirme istatistiksel analiz

Patolojik Değişiklik	Grup P Değeri	2-3 Grup P Değeri	2-4 Grup P Değeri	3-4 Grup P Değeri
Dejenerasyon	0,169	0,026	0,377	
Nekroz	0,615	0,146	0,067	
Konjesyon	1	1	1	
İnflamasyon	0,542	0,146	0,317	

4.1.4. Dalak Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları

Yapılan çalışmada histopatolojik incelemede; dalakta konjesyon değerlendirildi.

Tüm gruplar arasında konjesyon açısından anlamlı fark yoktu.

4.1.5. Mezenter Lenf Nodu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları

Tüm gruplarda mezenter lenf nodunda Thingle Body makrofaj içeren germinal merkezli lenf nodu, histiyosit infiltrasyonu değerlendirildi.

Yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre gruplar arasında anlamlı fark yoktu

(Tablo 7-8).

Tablo 7: Mezenter lenf nodundaki patolojik değerlendirme (Ortalama \pm SS).

Patolojik Değişiklik	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
Lenf Nodu (+)	0	0.80 \pm 0.42	0.70 \pm 0.48	0.60 \pm 0.51
Makrofajlı Germinal merkez	0	0.50 \pm 0.52	0.50 \pm 0.52	0.40 \pm 0.51
Histiyosit infiltrasyonu	0	0.30 \pm 0.48	0.60 \pm 0.51	0.30 \pm 0.48

Kolit, xigris, steroid grup $P < 0.05$.

Tablo 8: Mezenter lenf nodundaki patolojik değerlendirme istatistiksel analiz

Patolojik Değişiklik	Grup P Değeri	2-3 Grup P Değeri	2-4 Grup P Değeri	3-4 Grup P Değeri
Lenf Nodu (+)	0,615	0,342	0,648	
Makrofajlı Germinal merkez	1	0,661	0,661	
Histiyosit infiltrasyonu	0,189	1	0,189	

4.2. Mikrobiyolojik Değerlendirme Sonuçları

Çalışmada ratlardan alınan karaciğer, dalak, mezenter lenf nodu doku kültürleri ve kan kültürleri değerlendirildi. Karaciğer, dalak, mezenter lenf nodu ve kanda bakteriyel

translokasyon olabileceği düşünöldü. Yapılan költürlerde Escherichia Coli, Saphylococcus Aureus ve Enterococcus Faecalis bakterileri izole edilebildi.

Kontrol grubunda bakteriyel translokasyon gözlenmedi.

Kolit grubunda karaciğer, dalak, mezenter lenf nodu ve kanda bakteriyel translokasyon insidansında artış gözlendi.

Xigris grubunda sadece mezenter lenf nodunda bakteriyel translokasyon insidansında artış gözlenirken, karaciğer, dalak ve kanda bakteriyel translokasyon gözlenmedi.

Steroid grubunda ise karaciğer, dalak, mezenter lenf nodu ve kanda bakteriyel translokasyon insidansında artış gözlendi (Tablo 9).

Yapılan istatıksel analizde karaciğer, dalak, kan költür sonuçlarının incelenmesinde; kolit grubu ile xigris grubu arasında ve xigris grubu ile steroid grubu arasında anlamlı fark mevcuttu iken, kolit grubu ile steroid grubu arasında anlamlı fark mevcut değildi. (Tablo 10-11).

Tablo 9: Gruplardaki bakteriyel translokasyon insidansı

Organ	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
MLN	0	6	3	4
Karaciğer	0	5	0	4
Dalak	0	3	0	5
Kan	0	4	1	3

Kolit, xigris, steroid grup $P < 0.05$.

Tablo 10: Gruplardaki bakteriyel translokasyon insidansı
İstatıksel analiz

Organ	Grup 2-3 P Değeri	Grup 2-4 P Değeri	Grup 3-4 P Değeri
MLN	0,375	0,383	0,648
Karaciğer	0,009	0,661	0,029
Dalak	0,013	0,374	0,012
Kan	0,027	0,648	0,036

Tablo 11: Gruplardaki bakteriyel translokasyon (Ortalama \pm SS).

Organ	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
MLN	0	0.60 \pm 0.51	0.30 \pm 0.48	0.40 \pm 0.51
Karaciğer	0	0.50 \pm 0.52	0	0.40 \pm 0.51
Dalak	0	0.30 \pm 0.48	0	0.50 \pm 0.52
Kan	0	0.40 \pm 0.51	0.10 \pm 0.31	0.30 \pm 0.48

4.3. Biyokimyasal Değerlendirme Sonuçları

4.3.1. Serum Biyokimya Değerlendirme Sonuçları

Serum ALT, AST, LDH, ALP, MPO, TNF- α düzeyleri değerlendirildi.

Yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre;

ALT, AST, LDH, ALP değerleri incelendiğinde; Kontrol grubu ile diğer gruplar arasında çok anlamlı fark gözlemlendi. Kolit grubu ile xigris ve steroid grupları arasında genel olarak anlamlı fark gözlemlendi. Xigris grubu ile steroid grubu arasında genel olarak anlamlı fark mevcuttu.

-MPO ve TNF- α değerleri incelendiğinde tüm gruplar arasında genel olarak fark mevcut değildi. MPO değeri kontrol grubu ile kolit grubu arasında incelendiğinde, anlamlı fark mevcuttu. TNF- α kontrol grubu ile steroid grubu arasında incelendiğinde, anlamlı fark mevcuttu (Tablo 12-13).

Tablo 12: Serum ALT, AST, LDH, ALP, MPO, TNF- α düzeyleri (Ortalama \pm SS)

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
ALT	44.0 \pm 6.48	123.60 \pm 19.04	117.40 \pm 48.40	72.30 \pm 17.10
AST	121.0 \pm 16.09	263.90 \pm 39.89	206.0 \pm 66.83	163.40 \pm 13.73
LDH	1157.90 \pm 235.10	2839.0 \pm 808.79	1712.80 \pm 278.3	1401.90 \pm 220.51
ALP	120.50 \pm 21.15	361.50 \pm 39.14	266.80 \pm 64.03	248.10 \pm 28.32
MPO	1.10 \pm 0.59	4,0 \pm 2.97	4.80 \pm 8.22	1.90 \pm 0.88
TNF- α	173.50 \pm 32.16	122.80 \pm 128.85	137.90 \pm 163.76	104.20 \pm 63.53

Kolit, xigris, steroid grupları arasında $P < 0.05$.

Tablo 13: Serum ALT, AST, LDH, ALP, MPO, TNF- α düzeyleri istatistiksel analiz

	Grup 1-2 P Değeri	Grup 1-3 P Değeri	Grup 1-4 P Değeri	Grup 2-3 P Değeri	Grup 2-4 P Değeri	Grup 3-4 P Değeri
ALT	0,001<	0,001<	0,001<	0,684	0,001<	0,023
AST	0,001<	0,001	0,001<	0,015	0,001<	0,075
LDH	0,001<	0,001<	0,035	0,001	0,001<	0,029
ALP	0,001<	0,001<	0,001<	0,001	0,001<	0,315
MPO	0,023	0,085	0,085	0,436	0,123	0,756
TNF-α	0,123	0,143	0,011	0,971	0,684	0,481

4.3.2. Doku Biyokimya Değerlendirme Sonuçları

Dokuda Katalaz, MDA, SOD, GSH-Px, MPO, TNF- α düzeyleri değerlendirildi.

- Kolon Biyokimya Değerlendirme Sonuçları

Yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre; Katalaz, MDA, GSH-Px, TNF- α değerleri incelendiğinde; Kontrol grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı fark mevcuttu. TNF- α değeri kontrol grubu ile streoid grubu arasında incelendiğinde, anlamlı fark gözlenmedi. SOD, MPO değerleri incelendiğinde; Kontrol grubu ile diğer gruplar arasında genel olarak anlamlı fark gözlenmedi. MPO değeri kontrol grubu ile xigris grubu arasında incelendiğinde, anlamlı fark mevcuttu.

MPO, GSH-Px değerleri incelendiğinde; Kolit-xigris, kolit-steroid, xigris-steroid grupları arasında anlamlı fark gözlendi. GSH-Px değeri kolit grubu ile xigris grubu arasında incelendiğinde, anlamlı fark gözlenmedi (Tablo 14-15).

Tablo 14: Kolon doku Katalaz, MDA, SOD, GSH-Px, MPO, TNF- α düzeyleri

(Ortalama \pm SS)

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
Katalaz	3.533 \pm 0.987	1.479 \pm 1.801	1.814 \pm 2.430	1.655 \pm 1.419
MDA	2.077 \pm 0.424	0.695 \pm 0.526	0.716 \pm 0.280	0.863 \pm 0.938
SOD	7.244 \pm 1.255	10.549 \pm 5.264	7.897 \pm 2.083	7.918 \pm 3.210
GSH-Px	0.544 \pm 0.073	0.416 \pm 0.083	0.435 \pm 0.071	0.339 \pm 0.042
MPO	0.013 \pm 0.002	0.019 \pm 0.010	0.017 \pm 0.003	0.031 \pm 0.051
TNF-α	102.915 \pm 18.122	279.446 \pm 168.543	36.386 \pm 40.807	93.708 \pm 77.594

Kolit, xigris, steroid grupları arasında P< 0.05.

Tablo 15: Kolon doku Katalaz, MDA, SOD, GSH-Px, MPO, TNF- α düzeyleri
İstatiksel analiz

	Grup 1-2 P Değeri	Grup 1-3 P Değeri	Grup 1-4 P Değeri	Grup 2-3 P Değeri	Grup 2-4 P Değeri	Grup 3-4 P Değeri
Katalaz	0,019	0,011	0,009	0,579	0,280	0,525
MDA	0.001<	0.001<	0,002	0,315	0,684	0,353
SOD	0,190	0,353	0,853	0,315	0,315	0,912
GSH-Px	0,001	0,015	0.001<	0,529	0,003	0,002
MPO	0,052	0,002	0,105	0.001<	0,023	0,023
TNF-α	0,011	0,035	0,393	0,525	0,150	0,353

-Karaciğer Biyokimya Değerlendirme Sonuçları

Yapılan istatiksel analiz sonuçlarına göre; Katalaz, MDA değerleri incelendiğinde; Kontrol grubu ile kolit grubu arasında anlamlı fark gözlemlendi. MDA, GSH-Px değerleri incelendiğinde; Kontrol grubu ile steroid grubu arasında çok anlamlı fark gözlemlendi. Katalaz değerleri incelendiğinde ise; Kontrol grubu ile xigris grubu arasında anlamlı fark gözlemlendi.

Katalaz, SOD, GSH-Px değerleri incelendiğinde; Kolit grubu ile steroid grubu arasında anlamlı fark mevcuttu. MDA, GSH-Px değerleri incelendiğinde; Xigris grubu ile steroid grubu arasında anlamlı fark mevcuttu. MPO, TNF- α değerleri incelendiğinde ise; Kolit grubu ile xigris ve steroid grupları arasında anlamlı fark mevcuttu (Tablo 16-17).

Tablo 16: Karaciğer doku Katalaz, MDA, SOD, GSH-Px, MPO, TNF- α düzeyleri

(Ortalama \pm SS)

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
Katalaz	1.459 \pm 0.616	2.599 \pm 1.363	2.224 \pm 0.670	1.467 \pm 0.961
MDA	0.705 \pm 0.407	1.255 \pm 0.304	1.049 \pm 0.410	1.578 \pm 0.358
SOD	36.835 \pm 8.939	33.964 \pm 2.985	31.596 \pm 3.740	30.977 \pm 2.002
GSH-Px	0.335 \pm 0.049	0.327 \pm 0.047	0.320 \pm 0.026	0.498 \pm 0.061
MPO	0	0.048 \pm 0.085	0.160 \pm 0.048	0.169 \pm 0.052
TNF-α	0	3162.788 \pm 627.940	2193.422 \pm 540.450	2254.825 \pm 706.689

Kolit, xigris, steroid grupları arasında P< 0.05.

Tablo 17: Karaciğer doku Katalaz, MDA, SOD, GSH-Px, MPO, TNF- α düzeyleri
İstatiksel analiz

	Grup 1-2	Grup 1-3	Grup 1-4	Grup 2-3	Grup 2-4	Grup 3-4
	P Değeri	P Değeri	P Değeri	P Değeri	P Değeri	P Değeri
Katalaz	0,043	0,015	0,756	0,529	0,019	0,052
MDA	0,004	0,247	0.001<	0,089	0,063	0,007
SOD	0,315	0,105	0,105	0,393	0,015	0,393
GSH-Px	0,796	0,353	0.001<	0,684	0.001<	0.001<
MPO	-	-	-	0,003	0,007	0,971
TNF-α	-	-	-	0,002	0,002	0,579

-Dalak Biyokimya Değerlendirme Sonuçları

Yapılan istatiksel analiz sonuçlarına göre; Katalaz, SOD, GSH-Px değerleri incelendiğinde; Kontrol grubu ile diğer gruplar arasında çok anlamlı fark gözlemlendi. SOD değerleri kontrol grubu ile kolit grubu arasında incelendiğinde, anlamlı fark gözlemlenmedi.

Katalaz, SOD, MPO değerleri incelendiğinde; Kolit grubu ile xigris ve steroid grupları arasında ve xigris grubu ile steroid grubu arasında anlamlı fark mevcuttu. Katalaz değerleri xigris grubu ile steroid grubu ve MPO değerleri kolit grubu ile steroid grubu arasında incelendiğinde, anlamlı fark gözlemlenmedi (Tablo 18-19).

Tablo 18: Dalak doku Katalaz, MDA, SOD, GSH-Px, MPO, TNF- α düzeyleri

(Ortalama \pm SS)

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
Katalaz	1.833 \pm 0.528	0.198 \pm 0.167	0.541 \pm 0.154	0.428 \pm 0.192
MDA	0.722 \pm 0.101	0.717 \pm 0.177	0.702 \pm 0.179	0.634 \pm 0.163
SOD	32.361 \pm 2.571	33.266 \pm 4.263	44.717 \pm 4.2097	40.726 \pm 2.346
GSH-Px	0.279 \pm 0.052	0.101 \pm 0.018	0.112 \pm 0.005	0.107 \pm 0.025
MPO	0	0.315 \pm 0.121	0.512 \pm 0.097	0.355 \pm 0.127
TNF-α	0	106.988 \pm 31.382	97.321 \pm 22.887	132.631 \pm 83.070

Kolit, xigris, steroid grupları arasında P< 0.05.

Tablo 19: Dalak doku Katalaz, MDA, SOD, GSH-Px, MPO, TNF- α düzeyleri
İstatiksel analiz

	Grup 1-2 P Değeri	Grup 1-3 P Değeri	Grup 1-4 P Değeri	Grup 2-3 P Değeri	Grup 2-4 P Değeri	Grup 3-4 P Değeri
Katalaz	0.001<	0.001<	0.001<	0,01	0,019	0,143
MDA	0,481	0,735	0,165	0,971	0,315	0,393
SOD	0,684	0.001<	0.001<	0.001<	0,001	0,011
GSH-Px	0.001<	0.001<	0.001<	0,105	0,971	0,005
MPO	-	-	-	0,002	0,525	0,007
TNF-α	-	-	-	0,315	0,796	0,280

-Mezenter Lenf Nodu Biyokimya Değerlendirme Sonuçları

Yapılan istatiksel analiz sonuçlarına göre; MDA değerleri incelendiğinde; Kontrol grubu ile xigris ve steroid grupları arasında ve xigris grubu ile steroid grubu arasında anlamlı fark gözlemlendi. SOD değerleri incelendiğinde; Kontrol grubu ile xigris grubu arasında anlamlı fark gözlemlendi (Tablo 20-21).

Tablo 20: MLN doku Katalaz, MDA, SOD, GSH-Px, MPO, TNF- α düzeyleri
(Ortalama \pm SS)

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
Katalaz	2.507 \pm 0.613	9.852 \pm 12.451	11.450 \pm 25.072	13.109 \pm 35.507
MDA	0.936 \pm 0.477	2.286 \pm 1.738	2.785 \pm 1.039	1.902 \pm 0.334
SOD	36.209 \pm 4.195	161.118 \pm 339.110	24.909 \pm 38.596	155.690 \pm 340.063
GSH-Px	0	0	0	0
MPO	0	0.252 \pm 0.312	0.236 \pm 0.519	0.160 \pm 0.218
TNF-α	0	771.086 \pm 502.980	621.297 \pm 303.192	667.411 \pm 119.564

Kolit, xigris, steroid grupları arasında P< 0.05.

Tablo 21: MLN doku Katalaz, MDA, SOD, GSH-Px, MPO, TNF- α düzeyleri
İstatiksel analiz

	Grup 1-2 P Değeri	Grup 1-3 P Değeri	Grup 1-4 P Değeri	Grup 2-3 P Değeri	Grup 2-4 P Değeri	Grup 3-4 P Değeri
Katalaz	0,436	0,971	0,089	0,631	0,280	0,579
MDA	0,218	0.001<	0.001<	0,436	1	0,035
SOD	0,481	0,023	0,075	0,023	0,218	0,143
GSH-Px	-	-	-	-	-	-
MPO	-	-	-	0,280	0,123	0,529
TNF-α	-	-	-	0,529	0,436	0,579

5.TARTIŞMA

İBH genellikle gelişmiş ülkelerde ve genç erişkinlerde görülen kronik, nüks edici, immünolojik bozuklukların rol aldığı ÜK ve CH' nı içeren hastalıklardır. Son yıllarda bu hastalıkların insidansında belirgin bir artış dikkati çekmektedir. Çeşitli toplumlarda farklı insidans oranları verilmektedir. Yaklaşık olarak oran 50 / 100000 kabul edilmekte buna göre ülkemizde 350000, dünyada 3 milyon kişiyi etkilemektedir. İlk olarak 1930' larda başlayan epidemiyolojik çalışmalar hastalığın 1970' lere doğru hızla arttığını göstermiştir (63).

İBH' ndaki iki klinik form yakın ilişki içindedir. Değişik antijenlere karşı kontrolsüz immün yanıtı yol açan gastrointestinal (GI) traktüs immün mekanizmasının düzenindeki bozulmadan kaynaklandığı düşünülmektedir. ÜK genelde kalın barsakta mukozayı tutan GI traktüsün herhangi bir yerini etkileyen hastalık olarak bilinir. Klinik tablolar birbirine karışır ve hastaların %15' inde kolit belirsizdir. Belirgin bir kalıtım olmamasına rağmen CH' nda daha fazla olmak üzere ailesel eğilim görülmektedir. Son dönem çalışmalar İBH' nda immünolojik hiperaktivasyona neden olan bir mukozal bağışıklık defekti üzerine odaklanmaktadır. Bu defekt çevresel ajanlara ve antijenlere karşı başlayan kontrol dışı immün reaksiyonlara neden olmaktadır. Ortaya çıkan kontrol dışı immün yanıt da lenfosit proliferasyonu, sitokinlerin salınımı, diğer hücre birikimleri, aşırı nötrofil üretimine neden olur ve sonuçta hücre hasarı gelişir. İmmün sistem aktivasyonu sonucu TNF- α , IL 1- β ve IL 8 aşırı artışı meydana gelir. Aktive mukoza hücrelerinde sitokinler, lökotrienler, tromboksanlar, platelet activated faktör (PAF), NO ve inflame dokuda reaktif oksijen metabolitleri salgılanır. Deplese glutatyon

ile birlikte lipit peroksidaz doku konsantrasyonu artar. Bu da oksidatif stresi desteklemektedir (30, 64, 65, 72).

Bakteriyel veya viral gastroenterit, viral üst solunum yolu hastalıkları ÜK semptomlarının başlangıcında ve daha sonraki nökslerde, mevsimsel bir predominans olarak öne sürülmüştür.

İBH' nda semptomlar genellikle barsak inflamasyonuna bağlıdır. Diare, rektal kanama, tenesmus, karın ağrısı, ateş, kilo kaybı gözlenir. Daha az olarak intestinal fistüller, malnütrisyon, spondilit artrit, eritema nodosum, irit, anemi, trombositoz, nefrolitiazis, sklerozan kolanjit görülebilir. Klinik tablo tutulumun yaygınlığına, inflamasyonun şiddetine ve kronikleşmeye bağlıdır. İnflamatuvar süreç sigmoid kolonun ötesine geçtiği zaman hastalar günde 6-10 kez cıvık gaita, hafif anemiye yol açan sık kanamalar, belirgin karın ağrısı ve düşük derecede ateş ile karakterize olan orta derecede semptomlar görülebilir. Sol tarafta koliti ve hatta distal koliti olan hastalarda bazen ciddi semptomlar olabilmesine rağmen, ciddi ve hatta fulminan tablosu olan hastalarda çoğunlukla tüm kolonu tutan yaygın kolon hastalığı daha sık görülür (66).

İBH tedavisi % 90 oranında medikal yaklaşıma yanıt verir. Stabil seyreden ÜK ve CH idame tedavisinde sülfalazin, daha sıklıkla 5-aminosalisilik asit (5-ASA) kullanılır. İlk başvurularında, akut dönemde olan hastalarda veya daha önce tanı konulmuş hastaların alevlenme döneminde akut faz steroidlerle genellikle kontrol altına alınır. Tedavide genellikle 20-80 mgr / gün prednizon kullanılır. Doz hastanın klinik cevabına göre kısa sürede yavaş yavaş azaltılır. Ciddi klinik tabloya sahip hastalar da hastaneye yatırılarak i.v. sıvı tedavisi, barsak istirahati, i.v. steroidler verilmesi gerekebilir. Eğer birkaç gün içerisinde medikal tedaviye yanıt alınmazsa abdominal kolektomi yapılabilir (30, 64).

İmmünomodulatörlerin (6-merkaptopurin, imuren) etkinliği ve rolü giderek artmaktadır. Hastalığın idame tedavisinde ve kortizon kullanılması istenilmeyen ve sadece 5-ASA kullanılmasına rağmen önemli ölçüde semptomları devam eden hastalarda kullanılır. Steroidlerle kontrol altına alınamayan akut kolit tablosunda kısa aralıklı i.v. siklosporin A tedavisinin başarılı olduğu bildirilmiştir (64).

Günümüzde standart steroid ajanlarla aynı antiinlamatuvar etkiye ve klinik etkinliğe sahip olan ve uzun vadede yan etki potansiyeli olmayan kortikosteroid fomulasyonlar vardır.

Budenozyd lavmanları, mesalamin (5-ASA) lavmanları ile karşılaştırıldığında, 5-ASA lavmanı kadar etkili bulunmuştur. Ayrıca hafif orta derecede yaygın veya sol taraflı aktif ÜK' de budenozidin oral prednizonla benzer tedavi etkinliğine sahiptir (67).

Bizmut diarenin sistemik tedavisinde uzun zamandan beri kullanılmaktadır. Enfeksiyöz diarede dokuda hasar oluşturan toksinlere bağlanır. Ayrıca aktif ÜK' de % 2' lik lidokain jel, hafif orta derecede aktif kolit tedavisinde transdermal nikotinin etkinliğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (68).

Bazı araştırmalar mikrodamar düzeyinde hiperkoagülabilitenin ÜK patogenezinde önemli olabileceği hipotezini ortaya atmışlardır. Bu düşünceye dayanılarak açık çalışmalarda ÜK olan hastalarda hem subkutan hem de i.v. heparin incelenmiştir ve pozitif sonuçlar doğurmuştur. Bu sonuçlar orta derecede veya ciddi ÜK' i olan hospitalize edilmiş hastaların sürekli infüzyon şeklinde heparin tedavisi veya metilprednizolon tedavisi gruplarına randomize olarak ayrıldığı bir çalışmaya yol açmıştır. Metilprednizolon grubunun % 69' unda düzelme veya remisyon görülmüştür.

Ama heparin grubundaki hastalarda belirgin düzelme veya remisyon görülmemiştir (69).

Biz de çalışmamızda günümüzde ÜK hastalarının tedavisinde yeri bulunan steroidi kullanarak, xigrisin ÜK üzerine olan etkinliğini araştırdık. Kolit ve xigris grupları arasındaki farkları gözlemledik. Xigris' in antikoagülan etkisi yanında antiinflamatuvar etkinliği de göz önüne aldık.

DeneySEL kolit modeli için kullanılan ajanlar asetik asit, trinitrobenzen sülfonik asit etanol (TNBS-E), dextran sülfat sodyum, iodoacetamid gibi normal mukoza üzerine çeşitli oranlarda irritatif etkileri görülen genel de asit PH ' ya sahip ajanlardır (70). Asetik asit ile oluşturulan akut inflamatuvar yanıt daha anlamlı olarak kabul edilmektedir (30, 71, 72). İnflamatuvar mediatörlerin üretiminin artması, nötrofil infiltrasyonunun uzaması ve vazopermeabilitenin artışı gibi insandaki kolitin başlangıcındaki majör etken faktörler bu hayvan modelinin kullanımında etkili olmuştur (73). Çalışmamızda, biz de asetik asit ile deneysel kolit modeli oluşturduk.

DeneySEL kolit modellerinde İBH geniş olarak araştırılmıştır. Barsaklar kontrollü bir inflamasyon durumundadır. Enfeksiyon veya nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar gibi çeşitli çevresel tetikleyiciler akut hasara neden olabilir. Normal konakta hasara karşı yanıt, süpresör T hücreleri ve antiinflamatuvar sitokinlerin uyarılması ile inflamasyonun azalması, tolerans ve tam iyileşme ile sonuçlanır. Duyarlı konakta tolerans kaybı gelişirse TNF- α , IL 12, IL 6, IL 1, GM-CSF ve IFN gama gibi proinflamatuvar sitokinlerde artış ile birlikte kontrolsüz inflamasyon görülür. Bu süreçte proinflamatuvar sitokin dengesizliği doku hasarı ile klinik semptomlara yol açar (66, 74). Ayrıca asetik asit ile oluşturulan deneysel kolit modelinde, LDH' in serum seviyelerinin artışı, nitrit, nitrat, MPO ve TNF- α ' nın kolonik konsantrasyonlarının artışı, nötrofil infiltrasyonu,

lipit peroksidaz formasyonu ve GSH-Px depleasyonu ile oksidatif stres gösteren çalışmalar mevcuttur (72).

DA , APC' nin rekombinant formudur. Ölüm riski yüksek olan ağır sepsisli hastalarda mortaliteyi azaltan ilaç olarak kullanılmaktadır. PC antikoagülan sistemde antitrombotik etki göstererek trombin seviyelerini azaltır. Bunun sonucu olarak trombinin prokoagülatif, proinflamatuvar ve antifibrinolitik etkileri azalır. Trombinin, trombosit aktivasyon yeteneği bloklanarak tromboliz önlenmiş olur. APC, doku faktörünü inhibe ederek koagülasyonu azaltır ve fibrinolizisi artırır. DA' nın antiinflamatuvar etkisi trombin üretiminin inhibisyonuyla olur. Trombin inhibisyonuyla platelet aktivasyonu azalır, nötrofillerin toplanmasına, mast hücrelerinde degranülasyona neden olur. Ayrıca monositlerce salgılanan APC, TNF- α ' yı inhibe ederek lökositlerin selektinlere adezyonunu engeller ve mikrovasküler endotelde trombin indüksiyonunu sınırlar. Böylece antiinflamatuvar etki gösterir (42, 75).

Ağır sepsis sırasında TNF- α , IL 1, IL 6' yı içeren proinflamatuvar mediatörler salınır. TNF- α , IL 1, IL 6, d-dimer, prokalcitonin seviyelerinin azalmasıyla antiinflamatuvar etkinlik değerlendirilebilir (75, 76).

GI kanal sürekli olarak toksinlere, mikroorganizmalara, mikrobiyal ürünlere ve diğer antijenlere maruz kalmaktadır. İntestinal epitel, luminal substratlar ve mikroorganizmaların lamina propriaya girişini sınırlayan fiziksel bir bariyer olarak rol oynamak gibi önemli fonksiyonlarda görev alır (77).

Doğal intestinal flora ve sağlam mukoza luminal patolojik bakterilere karşı savunma oluşturur. İntestinal epitel fiziksel bariyer görevini yapmak için çeşitli mekanizmalar oluşturmuştur. Lümen içindeki bakteriyle intestinal epitel arasındaki mukus tabakası bakterinin intestinal epitele yapışmasını engeller. Ayrıca goblet

hücrelerinden salgılanan mukus tabaka potansiyel patojen mikroorganizmaların lokalizasyonunu engeller. İntestinal epitelde salgılanan sekretuvar IgA bakterinin intestinal epitel bağlanma yerlerine bağlanarak bakterinin intestinal epitele bağlanmasını engeller. Ayrıca oluşan antijenik uyarı sonucunda, T ve B lenfositler peyer plaklarından ayrılarak, önce MLN' nda daha sonra sistemik olarak immün savunmaya neden olurlar. İntestinal peristaltizm bakterilerin uzun süre intestinal epitel ile temasını engeller. Mukozayı oluşturan intestinal epitel hücrelerinin aralıklı dökülmesiyle, intestinal epitel ile beraber intestinal epitele yapışmış bakterilerin de lümene dökülmesi sağlanmış olur. Tüm bu lokal savunma mekanizmaları; patojen bakterilerin, sitokin, kemokin ve antijenlerin intestinal epitele yapışarak intestinal epitelin hasarlanmasını önlemektedir. Öncelikle endotoksin translokasyonunu önleyen barsak-karaciğer aksı da önemli savunma mekanizmalarındandır (18, 32, 35, 36).

Bakteriyel translokasyon, intestinal epitelin fiziksel hasarı, doğal barsak florasının bozulması ve fiziksel savunma ve immün savunmanın bozulmasıyla oluşur. Sonuçta barsak flora bakterileri aşırı çoğalır (18, 78). Antibiyotik kullanımı, yanık gibi durumlarda barsak florasının stabilitesi bozularak mikroflorada artış olur (37, 39, 40). İmmün sistem fonksiyonu baskılanmış hastalarda bakteriyel translokasyonda artış görülür. Atimik farelerde yapılan çalışmada mezenter lenf nodunda T lenfositlerin etkisinin azaldığı düşünülmüş ve bakteriyel translokasyonda artış görülmüştür. İmmün sistemi baskılayan ilaçlar da bakteriyel translokasyonu uyarmaktadır (18, 39,40). Ayrıca yenidoğanlarda barsak bariyeri ve immün sistem tam olarak gelişmediği için, açlıkta katekolamin gibi hormonların salgılanması artarak barsak mukozasında hasara yol açtığı için, yanık, travma, stres, kolestaz gibi durumlarda immün sistem baskılanması ve

stresde kan akımının azalarak barsak mukoza beslenmesinin azalması, oksidatif hasar ve hasarlanmasına yol açtığı için, bakteriyel translokasyona neden olurlar (18, 29).

İBH' nda intestinal mukozal bariyer inflamasyon ve ülserasyonla bozulur ve bakteriyel translokasyona izin verir ve bu olay hastalığın ağırlaşmasına neden olur. Enterik bakteriler ve onların ürünleri barsak duvarından karaciğer, dalak gibi ekstraintestinal sisteme uzanmasıyla sonuçlanır. Patojen bakteriler MLN' nda izole edilmiştir (18). Mukozal savunma sistemi luminal antijenlere ve bakterilere karşı direnç göstermede başarısız olursa, inflamatuvar cevap başlar ve makrofaj aktivasyonu ve gecikmiş tip hipersensivite reaksiyonu görülür (78).

Asetik asit ile oluşturulan deneysel kolit modelimizde DA' nın antiinflamatuvar ve antikoagülan etkisi göz önüne alınarak yapılan çalışmamızda bakteriyel translokasyonu değerlendirmek için ratlarda karaciğer, dalak, mezenter lenf nodu ve kan kültürlerini inceledik. Kolit grubunda ve steroid tedavisi verilen grupta dokularda ve kanda bakteriyel translokasyon gözlenirken, DA verilen grupta genel olarak bakteriyel translokasyonda azalma gözlendi. Aynı dokularda yapılan makroskopik değerlendirmede; kolit grubunda kolonik mukozada belirgin hiperemi, inflamasyon, ülserasyon gözlenirken, Steroid ve xigris gruplarında hiperemi, inflamasyon ve ülserasyonun daha hafif seyrettiği gözlendi. Histopatolojik olarak kolonik inflamasyon, erezyon, ülserasyon, nekroz açısından yapılan değerlendirmede ise kolit grubu ile xigris, steroid grupları arasında anlamlı fark olmadığı gözlendi. Karaciğer, dalak, mezenter lenf nodu histopatolojik değerlendirmesinde de kolit grubu ile xigris, steroid grupları arasında anlamlı fark gözlenmedi. Sonuçta; antiinflamatuvar etkinliği olan DA' nın bakteriyel translokasyonu önlediği, steroidin ise önlemediği görüldü. DA' nın bakteriyel translokasyonu önlemedeki etkinliği bu ilacın üstünlüğü olarak kabul edilebilir.

TNF- α ve IL 6 gibi sitokinlerin İBH' nin etiyolojisinde etkili olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiş endojen pirojenlerdir. TNF- α , İBH olan hastaların barsaklarındaki inflamatuvar süreçte en önemli faktörlerden olan, proinflamatuvar bir sitokindir (79, 80). Kolit oluşturulmuş ratların kolonik dokularından alınan örneklerde tedavi edilmemiş ratlara göre belirgin olarak artmış TNF- α seviyeleri saptanmış ve bu ratlara TNF- α sentetaz inhibitörleri verilmesiyle bu yüksek seviyelerde düşme olduğu tespit edilmiştir (81). Nerilly ve arkadaşları ise TNBS-E kolitinde plazma TNF- α seviyelerinin yükselmediğini bildirmişlerdir (82). Ancak birçok yayında ratlarda oluşturulan kolitte ve İBH ' nda serum TNF- α düzeyleri normale göre artmış olarak tespit edilmiştir (81, 83). Biz de çalışmamızda yapılan araştırmalara paralel olarak serum TNF- α düzeyleri yanında doku düzeylerini de değerlendirdik. Serum TNF- α düzeylerinde kolit grubunda artış gözlenmedi ve diğer gruplar arasında da anlamlı fark izlenmedi. Kolon dokusunda yapılan TNF- α ölçümlerinde ise kolit grubunda belirgin bir yükselme görüldü. Xigris grubunda ise önemli ölçüde azalma mevcuttu. Buna göre proinflamatuvar sitokin olan TNF- α ' nin serum düzeyleri yanında, inflamasyonun direk olarak görüldüğü kolonik doku konsantrasyonları da gözardı edilmemelidir. DA, kolonik mukozada etkili olarak, proinflamatuvar sitokin olan TNF- α etkisini önlediği kabul edilebilir.

Son yıllarda T hücrelerinin deneysel kolit oluşumundaki inflamasyonun patogenezinde anahtar rol oynadığı görülmüştür. CD4 (+) hücrelerin intestinal mukozaya inflamatuvar bölgeler oluşturacak şekilde göçü sözkonusudur. Daha önceki bazı çalışmalarda İBH olan veya TNBS-E kolitli ratlarda anti CD4 antikor, artmış CD4 tedavisinde fayda sağladığı görülmüştür. Artmış CD4 nötrofil ve makrofaj sayısı ile birlikte MPO aktivitesi de paralellik gösterir. Bu hücrelerin fonksiyon göstergesi olarak

da bilinen MPO düzeyleri birçok çalışmada bir parametre olarak ölçülmüştür (84). Masuka ve arkadaşları kolit modeli oluşturdukları ratlarda kolit gruplarına göre tedavi gruplarında MPO aktivitelerinin anlamlı olarak gerilediğini izlemişlerdir (85). Domek ve arkadaşları İBH patogenezi araştırmışlar ve nötrofil infiltrasyon ve aktivasyonunun önemli rol oynadığını bunun da dokudaki MPO düzeyi ile belirlediğini öne sürmüşlerdir (86). Karmeli ve arkadaşları tarafından ratlardaki kolit modelinde COX-2 inhibitörlerinin etkileri karşılaştırılmış ve tedaviyle MPO aktivitelerinin kolit modelindeki deneklere göre % 61 azaldığını belirtmişlerdir (83). MPO hasarlı doku ve inflamasyonun iyi bir göstergesi olarak bilinmektedir ve nötrofillerde daha fazla bulunan bir enzimdir. Kolonik MPO aktivitesi asetik asit kolit modelinde inflamasyonun artması ve nötrofillerin aktivasyon indeksi olarak tanımlanmıştır (72). Çalışmamızda kolonik MPO düzeyi ile birlikte inflamasyonun tespit edildiği karaciğer, dalak, mezenter lenf nodu ve serumdaki MPO düzeyleri de değerlendirildi. Kolit grubunda kolonik mukozada MPO düzeylerinin artmış, Xigris ve steroid grubunda ise azalmış olarak izlenmesi; kolit grubunda inflamasyonun artarak nötrofil aktivasyonuna neden olduğunu, xigrisin antiinflamatuvar etkinliği ile nötrofillerdeki aktivasyonun azaldığına böylece enfeksiyonun gerilediğini düşündürmektedir. Ayrıca karaciğer ve dalakta da MPO düzeylerinin xigris grubunda azalması inflamasyonu önlemede bu organlarda da etkili olabileceğini akla getirebilir.

İntraselüler veya ekstraselüler kaynaklı SOR, lipid peroksidasyonuna neden olarak lipid peroksit radikalleri oluşturur. Bunlar da inflamasyonun oluşumunda önemli rol oynamaktadır (49). Antioksidanlar SOR' un zararlı etkilerinden koruyucu bileşiklerdir. En önemli enzimatik antioksidanlar CAT, SOD, GSH-Px' dir. Bu enzimler doğal savunma sisteminin birer parçasıdır. İnflamatuvar süreçte SOR' un oluşturduğu hasara

karşı direncin artmasında rol oynarlar. Deneysel kolit modelinde mukozadaki antioksidan aktivitede azalma görülmüştür (87). İBH' da salınan SOR, kolonik inflamasyon sırasında endojen antioksidan sistemi bozarak oksidatif hasarlanmaya yol açar. Azalmış antioksidan seviyeleri ÜK' li hastalarda rapor edilmiştir (72).

Yapılan çalışmalar inflamasyonun olduğu ÜK' de kolonun mukozal tabakasında yapışkan yüzeyler oluşturarak lipozomların kullanımını tetiklemiştir. Pozitif yüklü lipozomların mukozaya tutunduğu bunun da SOD' nin salınımına neden olduğu bildirilmiştir (88). SOD, CAT, GSH-Px gibi antioksidan enzimler SOR kaynaklı hasarlanmaya karşı doğal hücre savunma sisteminin bir parçasıdır. İnsan kolonundaki antioksidan aktivite karaciğerdeki aktiviteyle karşılaştırıldığında düşük olduğu gösterilmiştir. Ratlardaki deneysel kolitte mukozadaki antioksidanların aktivitesinde azalmanın eşlik ettiği gösterilmiştir. CH hastalarının inflame kolonunda ve kolitli ratların kolonik epitelinde bakır, çinko, SOD konsantrasyon ve aktivitesi azalmıştır. Lipozomal SOD hücre membranına daha iyi bağlandığından oksidatif stresde etkisi artar (88). Çalışmamızda, kolonik ve karaciğer dokularında SOD seviyelerinde anlamlı değişiklik gözlenmezken, dalak ve mezenter lenf nodundaki SOD seviyelerinde kolit grubunda dokuda oluşan antioksidan olaya paralel olarak artmıştır.

GSH-Px, fagositik hücrelerin zarar görmesini önleyen eritrositlerde oksidan strese karşı en etkili antioksidanlardır. GSH-Px aktivitesindeki azalma şiddetli hücre hasarına yol açar. Deneysel kolit modelinde ratlarda antioksidan aktivitede azalma gözlenmiştir (87). Asetik asit ile oluşturduğumuz kolit modelinde, GSH-Px değerleri incelendiğinde; kolit grubu ile xigris grubu arasında anlamlı fark gözlendi. GSH-Px' in oluşturulan kolit modelinde oksidatif strese karşı antioksidan etkinliğinin azaldığı, xigris'in

antiinflamatuvar etkisi ile kolondaki antioksidan etkisinin arttığı böylece hücre hasarının azaltılabileceği düşünülmüştür.

CAT eritrositlerde yüksek oranda bulunan antioksidan enzimdir. Ayrıca karaciğer ve böbreklerde yüksek oranda bulunur. Deneysel kolit modelinde CAT seviyeleri ve aktivasyonu azalır. Çalışmamızda İBH' ndaki göstergelere yakın bir şekilde katalaz seviyeleri kolit grubunda azalmış olarak izlendi.

MDA artışı dokularda lipit peroksidasyon seviyesini yansıtmaktadır ve hasarlı dokunun bir belirteci olarak göz önüne alınmaktadır (89). Aktive nötrofillerin dolaşımdan ayrılarak akut inflamasyonda barsağın mukoza ve submukozasına girer, barsağın hasarlanmasına katkıda bulunabilen lipit mediatörleri, laktoferrin proteazlar, reaktif oksijen ve nitrojen türevlerinin aşırı üretimine neden olur. Çalışmamızda MDA' nın aktivasyonunun xigris ile inhibisyonu kolonik inflamasyon ve hasarın azalmasına neden olan lipit peroksidasyonundaki azalmayı göstermektedir.

Asetik asit ile oluşturulan deneysel kolit modelinde serum LDH, seviyelerinin artışı, nötrofil infiltrasyonu ve MPO artışını gösteren çalışmalar mevcuttur (72). Oluşturduğumuz kolit modelinde oluşan inflamatuvar süreçte karaciğer etkilerinin göstergelerinden kabul edilen serum AST, ALT, LDH, ALP seviyeleri değerlendirildi. Sonuçta karaciğer enzimlerinin kolit grubunda anlamlı olarak yükseldiği, xigris uygulamasından sonra anlamlı şekilde azaldığı gözlemlendi. Antikoagülan ve antiinflamatuvar etkiyle xigris' in karaciğerde etkili olduğu düşünüldü.

Sonuç olarak, günümüzde ağır sepsisli hastalarda mortaliteyi azaltan DA' nın antiinflamatuvar ve antikoagülan etkinliğiyle, asetik asit ile oluşturulan deneysel kolit modelinde; antioksidan enzimlerin genel olarak düzeylerini arttırdığı, karaciğer

enzimlerinin düzeylerini azalttığı, bakteriyel translokasyonu önleyebileceği ve bu etkisinin steroidden daha etkili olduğu düşünülmüştür.

6. KAYNAKLAR

1. Yiğitler C, Güleç B, Aydoğan H, Özcan A, Kılınç M, Yiğit T, Kozak O. Effect of mesalazine, metronidazole and gentamicin on bacterial translocation in experimental colitis. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 19; 1179-1186; 2004
2. Sheron P, Sterson WF. Enhanced synthesis of leukotriene B4 by colonic mucosal inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 86; 453-60; 1984
3. Ardizzone S, Porro GB. İnflammatory bowel disease: New insights into pathogenesis and treatment. *J. Intern Med.* 252; 475-96; 2002
4. Gusland M. Probiotics for chronic intestinal disorders. *Am J. Gastroenterol* 98; 520-1; 2003
5. Rampton DS. Functional aspects of eicosonoids in inflammatory bowel disease. *Eur J. Gastroenterol Hepatol* 1; 145-49; 1989
6. Bernard GR.et al. Efficacy and saffety of recombinant human activated protein C for fevere sepsis. *N. Engl J. Med.* 344; 699-705; 2001
7. Knaus WA. et al. APACHE II: A severity of disease classification system. *Crit Care Med.* 13; 818-29; 1985
8. Moore KL. *The developing human: Clinically oriented ebryology*, 4th ed. Philadelphia, WB Saunders. 1988
9. Fry RD, Kodner IJ. Anorectal disorders. *Ciba Clinical Symposia* 37; 6; 1985
10. Kodner IJ, Fleshman JW, Fry RD. In Maingot' s abdominal operations. 1989
11. Guyton AC. *Textbook of medican pshiology (Tıbbi fizyoloji)*. Çeviren Çavuşoğlu HA. Cilt 2, 8 Baskı, Nobel Yayınevi, İstanbul 981-1108; 1998

12. Gaurner F, Mabgelada JR. Gut flora in lealth and disease. Lancet 361; 512-9; 2003
13. Volland EJ, Clasene HA. Coloniation resistance. Antimicrob Agents Chemother 38; 409-14; 1994
14. Schultz M, Scholmerich J, Roth HC. Rationale for probiotic and antibiotic treatment strategtes in inflamatory bowel diseases. Dig Dis. 21; 105-28; 2003
15. Dickinson RJ, Vortan SA, Axon AT. et al. Increased incidence of faecal coliforms with in vitro adhesive and invasive progenties in patients with ülserative colitis. Gut 21; 787-972; 1980
16. Matsuda H, Fujiyama Y, Andoh A. et al. Characterization of antibody responses against rectal mucosa-associated bacterial flora in patients with ülcerative colitis. J. Gastroenterol Hepatol. 15; 61-8; 2000
17. Çalışkan C. Sıçanlarda oluşturulan deneysel kolit modelinde N-Acetylcystein etkileri. Tıpta uzmanlık testi İzmir, 2003
18. Kucuk C., Sozuer E., Gursoy S., Canoz O., et al. Treatment with Met-RANTES decreases bacterial translocation in experimental colitis. The AM. J. Of Surgery 191; 77-83; 2006
19. Retsky JE, Kraft SC. The extraintestinal manifestations of in inflamatory bowel disease. İn Shorter EG (ed), İnflamatory Bowel Diease Williams and Wilkins, Baltimore pp; 474-91; 1995
20. Devecioğlu S., Şen D., Tufan T. Ülseratif kolit. Temel Cerrahi 781-791; 1991
21. Devecioğlu S., Şen D., Tufan T. Ülseratif kolit. Temel Cerrahi 1124-1133; 1996
22. Sayek I. Temel Cerrahi 3. baskı Güneş Kitabevi Ltd Şti .s; 1203-1204; 2004

23. İşler M. İnflamatuvar barsak hastalığı ve probiyotikler. Güncel Gastroenteroloji 135 2005
24. Sartor R.B. Microbial factors in the pathogenesis of Crohn's disease, ulcerative colitis and experimental intestinal inflammation. In J.B. Kirsner (ed). İnflammatory bowel disease. Williams and Wilkins, Baltimore pp 153-78; 1999
25. Behmann R., Meyer Z., Boschenfelder K. Tolarence towards residant intestinal flora in mice is abrogated in experimental colitis and restored by treatment with interleukin 10 or antibodies interleukin 12. Eur J. İmmunology 26; 934-8; 1996
26. Niederans C., Backenhoff F., Schumader B., Niedarau C. İnflammatory mediators and acute phase proteins in patients with Crohn' s disease and Ulcerative colitis. Hepato Gastroenterology 90-107;1997
27. Vetkamp C., Ruhwald R., Giesem T., Autschbach F. CD4+ CD25+ cell depletion from the normal CD4+ T cell pool prevents tolarence toward the intestinal flora and leads to chronic colitis in immündeficient . Mice İnf Bowel Dis 12; 437-46; 2006
28. Aşık M., Bayraktar Y. İnflamatuvar barsak hastalığında patogenez ve tedavide yenilikler. Güncel Gastroenteroloji 2; 156-62; 1998
29. Gardnier K.R., Erwin P.J., Anderson N.H. Colonic bacteria and bacterial translocation in experimental colitis. Br. J. Surg. 801; 512-516; 1993
30. Mirshafiey A., Khodaldi A., Rahm B.H. et al. Sodium alginate as a novel therapeutic option in experimental colitis Journal of Immunology 61; 316-321; 2005

31. Wolochow H, Hildebrand GJ, Lamanne C. Translocation of microorganisms across the intestinal wall of the rat: Effect of microbial size and concentration. *J Infect Dis.* 116; 523-28, 1966
32. Van der Waaij, D, et al. Berghuis de Vries. Colonization of the digestive tract in conventional and antibiotic treated mice. *J. Hyg.* 69; 405; 1971
33. Bery RD. Promotion of the translocation of enteric bacteria from the gastrointestinal tracts of mice by oral treatment with penicillin, clindamycin or metronidazole. *Infect Immun.* 33; 854; 1971
34. Banwell JG, Howard R, Cooper D. et al. Intestinal microbial flora after feeding phytohemagglutinin lectins to rats. *Ap. Environ Microb.* 50; 68; 1985
35. Deitch EA. Simple intestinal obstruction causes bacterial translocation in man. *Arch surg* 124; 699; 1989
36. Spitz J, Yuhan R, Koutsouris A et al. Enteropathogenic *Escherichia coli* adherence to intestinal epithelial monolayers diminishes barrier function. *AM J. Physiol* 268; 374; 1995
37. Alexander JW., Boyce ST., Babcock GF., et al. The process of microbial translocation. *Ann Surg.* 212 (4); 496-510; 1990
38. O' Bayle CJ., Mac Fie J. Microbiology of bacterial translocation in humans. *Gut* 42; 29-35; 1998
39. Albillos A, Hara A. Multifactorial gut barrier failure in cirrhosis and bacterial translocation: Working out the role of probiotics and antioxidants. *J Hepat.* 37; 523-526; 2002
40. Owens WE., Barg RB. Bacterial translocation from the gastrointestinal tracts of thymectomized mice. *Curr Microbiol* 7; 169-74; 1982

41. Joseph E., Parillo. Severe sepsis and therapy with activated protein C. The New England Journal of Medicine 353 (13); 1398-400; 2005
42. Eli Lilly and Company. Product information: Xigris, Drotrecogin alfa (Activated). 1-10; 2005
43. Tazbir J., RN, MS, CCRN. Sepsis and the role of activated protein C. Critical care nurse 24; 40-45; 2004
44. Oberhalzer A., Oberhalzer C., Moldover LL. Cytokine signaling regulation of the immune response in normal and critically ill states. Crit Care Med. 28; 3-12; 2000
45. Akhorthy KM., Kellum JA., Matzke GR. Unintended immunomodulation. Part II. Effects of pharmacological agents on cytokine activity. Shock 13; 346-60; 2000
46. Murch SH., Camkin VA., Savaga MO. et al. Serum concentrations of related tumor necrosis factor alpha in childhood chronic inflammatory bowel disease. Gut 32, 913-17; 1991
47. Beutler B., Caroni A., Cachectin: More than a tumor necrosis factor. N. Engl. J. Med. 316; 379-85; 1987
48. Groir BP. Mediators of septic shock. New approaches for interrupting the endogenous inflammatory cascade. Crit Care Med. 21; 780-6; 1993
49. Freeman BA., Crago JD. Biology of the disease free radicals and tissue injury. Lab. Invest 47; 412-26; 1982
50. Duthie GG., Arthur JR., James WP. Effects of smoking and vitamin E and blood antioxidant status. Am. J. Klin. Nur. 53 (4); 1061-63; 1991

51. Erden M., Yüce K., Kiper H., Çolak Ö., Aktaş Ö. Böbrek transplantasyonunda peroksit redükte glutatyon ve glutatyon enzim aktivitelerinin araştırılması. T. J. Med. Sci. 15; 1-7; 1991
52. Supino K., Dohi K., Yamada K., Kawasaki T. The role of lipid peroxidation in endotoxin induced damage and the protective effect of antioxidants. Surgery 101; 746-52; 1987
53. Krawisz JE., Sharon P., Stenson WF. Quantitative assay for acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity. Assesment of inflammation in rat and hamster models. Gastroenterology 87; 1344-50; 1984
54. Özbal Y. Temel immünoloji. Nobel Tıp Kitapevleri Ltd s; 51-53; 2000
55. Yamada T., Marshall S., Specian RD., Grisham MB. A comparative analysis of two models of colitis in rats. Gastroenterology 102; 1524-34; 1991
56. Morris GP., Back PL., Herridge MS., Depew WT., Szewezuk MR., Wallage JL. Hapten induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. Gastroenterology. 96; 795-803; 1989
57. Wallace JL., Mac Naughton WK., Morris GP. et al. İnhibition of leukotriane synthesis markedly accelerats healing in a rat model of inflammatory bowel disease. Gastroentrolology 96; 29-36; 1989
58. Macpherson BR., Pfeifer CJ. Experimental production of diffuse colitis in rats. J. Invest Dermatol. 78; 206-9; 1982
59. Sun Y., Larry WO., Ying Li. Simple method for clinical assy of superoxide dismutase. Clin Chem. 34 (3); 497-500; 1988

60. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase J. Lab. Clin. Med. 70 (9); 158-169; 1967
61. Aebi H. Catalase in vitro. Enzymol 105; 121-126; 1984
62. Drapper HH., Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. Methods Enzymol. 186; 421-431; 1990
63. Calkins BM., Mendelhoff AI. The epidemiology of idiopathic inflammatory bowel disease. In: Kirsner JB., Shorter RG (eds). Inflammatory bowel disease. Williams and Wilkins, Baltimore pp; 31-68; 1995
64. Bullard KM., Rethenberg DA. Colon, rektum and anus. In: Brunnicardi FC., Anderson DK., Billier TR., Dunn DL., Hunten JG., Pollock RE (ed). Schwartz's Principles of Surgery (8 th ed). Mc Graw Hill Companies, New York. Pp; 1055-117; 2005
65. Monsen U., Brostrom O., Nordewall B., et al. Prevalance of inflamatory bowel disease among relatives of patients with ulcerative colitis. Scand J. Gastroenterol 22; 214-8; 1987
66. Pepercorn MA. Contemporary diagnosis and menagement of ulcerative colitis and proctitis (2 nd ed). Hendbooks in Health Care Co Pennsylvania. Pp; 5-17; 2001
67. Lofberg R., Danickson A., Suhr Cet., et al. Oral budenoside versus prednisolone in patients with active extensive and left sided ulcerative colitis. Gastroenterology 11; 1713-8; 1996
68. Green JT., Thomas GA., Rhodes J., et al. Nicotine enemus for active ulcerative colitis apilot study. Aliment Pharmacol Ther 11; 859-63; 1997

69. Evans RC., Rhodes JM., Treatment of corticosteroid resistance ulcerative colitis with heparin asept of 9 cases. *Gastroenterology* 202; 968-72; 1997
70. Swapne M., Anindita U., Sudipon K., et al. The major polyphenol of black tea ameliorates mxomal injury in trinitrobenzene sulphonic acid-induced colitis. *Eur J. Pharmacol* 407; 103-12; 2003
71. Allgayer H., Descryver K., Stenson WF., Treatment with 16 dimahl prostoglandin E2 before and after induction of colitis with trinitrobenzene sulphonic acid in rats decreases inflamation. *Gastroenterology* 96; 1290-300; 1989
72. Hagar H., Medany A., Etor A., Arafa M. Ameliorative effect of pyrrdidinedithiocarbomose on acetic acid induced colitis in rats. *Europen Journal of Pharmacology* 554; 69-77; 2007
73. Elson CO., Sartor RB., Tennyson GS., Riddell RH. Experimental models of inflamatory bowel disease. *Gastroenterology* 109; 1344; 1999
74. Sartor RB. Pathogenesis and immune mechanisms. Of choronic inflamatory bowel disease. *Am J. Gastroenterol* 92; 105-15; 1997
75. Bruechmann M., Wizenmann J., Hoffmann U., et al. Clinical and laboratory effects of recombinant human activated protein C in the treatment of a patient with sepsis induced multipl organ failure. *Thrombosis Research* 109; 259-263; 2003
76. Hosac AM. Drotrecogin alfa (activated) the first FDA approved treatment for severe sepsis. *BUMC proceeding* 15; 224-27; 2002
77. Zamuner SR., Werrier N., Bunet AG., et al. Cyclooxygenase 2 mediates post inflamatory colonic secretary and barrier dysfunction. *Gut* 52; 1714; 2003

78. Gardnier KR., Erwin PJ., Anderson NH., et al. Colonic bacteria and bacterial translocation in experimental colitis . Br. J Surg. 80; 512; 1993
79. Fiocchi C. Inflammatory bowel disease; etiology and pathogenesis. Gastroenterology 115; 182-205; 1998
80. Derlez B., Teminiau J., Rodema S., et al. Tumor necrosis factor antibody treatment in Crohn' s disease. Lancet 342; 173; 1993
81. Dubigean BC., Collin X., Grinaud N., Robert JM., Legaut G., Petit JY. Effects of tumor necrosis factor alpha synthesis inhibitors an rat trinitrobenzene sulphonic acid induced chronic colitis. Eur Pharmacol pp; 103-10; 2001
82. Neilly DJ., Gardner KR., Kirk SJ., et al. Endotoksemia and cytokine production in experimental colitis. Br. J. Surg. 82; 1479-82; 1995
83. Karmeli F., Cohan P., Rachmilewitz D. Cyclooxygenase-2 inhibitors ameliorative the severity of experimental colitis in rats. Eur J. Gastroenterol Hepatol 12; 223-31; 2000
84. Pfeiffer CJ., Qui BS. Recombinant human interleukin 11 decreases trinitrobenzene sulphonic acid induced colitis in rats. Gastroentology 108; 88-93; 1995
85. İba Y., Sugitamo Y., Kaemei C. Perticipation of mast cells in colitis inflammation inducede by dextrane sulfate sodium. Methods Find Exp Clin Pharmacol 24; 15-18; 2002
86. Domek MJ., İwata F., Blackma H. Antineutrophil serum attanuases dextran sulfate sodium induced colonic damage in rat. Scand J. Gastroenterology 30; 1089-94; 1995

87. Blau S., Kohen R., Bass P., Rubinstein A. Relation between colonic inflammation severity and total low molecular weight antioxidant profiles in experimental colitis. *Dig. Dis. Sci.* 45; 1180; 2000
88. Juteh T., Nalar M., Baranholz Y., Rubinstein A. Local treatment of experimental colitis in the rat by negatively charged liposomes of catalase TMN and SOD. *Journal of Drug Targeting* 14 (3); 155-163; 2006
89. Drapper H., Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods, Enzymol.* 186; 421; 1990