



T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL KOLİT MODELİNDE
TİYOREDOKSİN'İN ETKİLERİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Fatih YAZAR

KAYSERİ – 2007



T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL KOLİT MODELİNDE
TİYOREDOKSİN'İN ETKİLERİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Fatih YAZAR

Danışman
Prof. Dr. Erdoğan M. SÖZÜER

KAYSERİ – 2007

İÇİNDEKİLER

ŞEKİL VE TABLO DİZİNİ	III
KISALTMALAR	V
ÖZET.....	VII
ABSTRACT.....	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. KOLİT.....	3
2.2. TİYOREDOKSİN	8
2.3. SİTOKİN BİYOLOJİSİ	12
3. MATERYAL ve METOD.....	19
3.1. GRUPLAR	20
3.2. CERRAHİ PROSEDÜR	21
3.3. MAKROSKOPİK SKORLAMA	22
3.4. MİKROSKOPİK ANALİZ	22
3.5. MPO AKTİVİTE ÖLÇÜMÜ	23
3.6. SERUM TNF- α , IL1, IL-6 VE IL-10 DÜZEYLERİNİN SAPTANMASI....	24
3.7. MDA AKTİVİTE ÖLÇÜMÜ	24
3.8. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	25
4. BULGULAR.....	26
4.1. MAKROSKOPİK DEĞERLENDİRME SONUÇLARI	26
4.2. MİKROSKOPİK DEĞERLENDİRME SONUÇLARI.....	28
4.3. TNF- α SONUÇLARI.....	30
4.4. IL-1 SONUÇLARI.....	32
4.5. IL-6 SONUÇLARI	33

4.5. IL-10 SONUÇLARI.....	34
4.6. MPO SONUÇLARI.....	35
4.7.MDA SONUÇLARI.....	36
5. TARTIŞMA.....	37
6. SONUÇLAR.....	46
7. KAYNAKLAR.....	47

ŞEKİL VE TABLO DİZİNİ

Şekil-1	: Kolonik mukozanın sitokin üretimindeki etkisi.....	5
Şekil-2	: TRX'in çeşitli transkripsiyon faktörleri üzerine olan etkileri.....	11
Tablo-1	: İnflamatuvar özelliklerine göre sitokinlerin sınıflandırılması	14
Tablo-2	: Kolonik Mukozadaki Makroskopik Bulguların Sınıflandırılması	22
Tablo-3	: Kolonik Mukozadaki Mikroskopik Bulguların Sınıflandırılması.....	23
Tablo-4	: Gruplara göre makroskopik ve mikroskopik skorlar	26
Tablo-5	: 1. 10. ve 21. günde alınan örneklere TNF- α sonuçlarının değerlendirilmesi	31
Tablo-6	: IL-1 Sonuçlarının Gruplara Göre Karşılaştırılması.....	32
Tablo-7	: 1. 10. ve 21. günde alınan örneklerde IL-6 sonuçlarının değerlendirilmesi	33
Tablo-8	: 1. 10. ve 21. günde alınan örneklere IL-10 sonuçlarının değerlendirilmesi	34
Tablo-9	: MDA ve MPO Sonuçlarının Gruplara Göre Karşılaştırılması	35
Resim-1	: TNBS-E Uygulanması.....	20
Resim-2	: Vena Kava İnfериordan Kan Alınması.....	21
Resim-3	: TNBS-E. (kolit) grubunda izlenen inflamasyon ve nekroz görünümü	27
Resim-4	: Kontrol grubundan normal kolonik epitel görünümü	29
Resim-5	: Kolit grubundan epitel hücre kayıpları, kriptit, erozyon ve lenfoid follikül görünümü	29
Resim-6	: Tedavi grubunda epitelyumda orta derecede ödem, hafif inflamasyon görünümü	30
Grafik-1	: Gruplara göre makroskopik olarak kolit formasyonu.....	27
Grafik-2	: Gruplara göre mikroskopik olarak kolit formasyonu.....	28

Grafik-3 : Gruplara ve zamana göre TNF- α yoğunlukları	31
Grafik-4 : Gruplara ve zamana göre IL-1 yoğunlukları.....	32
Grafik-5 : Gruplara ve zamana göre IL-6 yoğunlukları.....	33
Grafik-6 : Gruplara ve zamana göre IL-10 yoğunlukları.....	34
Grafik-7 : Gruplara ve zamana göre MPO yoğunlukları	35
Grafik-8 : Gruplara ve zamana göre MDA yoğunlukları.....	36

KISALTMALAR

ASA	: Asetil Salisilik Asit
ASK1	: Apoptozis Sinyal Düzenleyici Kinas 1
CH	: Crohn Hastalığı
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DSS	: Dekstran Sülfat Sodyum
EGF	: Epitelyal Büyüme Faktörü
FAD	: Flavin Adenin Dinükleotid
G-CSF	: Granülosit Koloni Stimüle Edici Faktör
GM-CSF	: Granülosit Makrofaj Koloni Stimüle Edici Faktör
HLA	: İnsan Lökosit Antijeni
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
İBH	: İnflamatuvar Barsak Hastalığı
IFN-γ	: İnterferon γ
IgG	: İmmünglobilin G
IL-1	: İnterlökin 1
IL-2	: İnterlökin 2
IL-4	: İnterlökin 4
IL-6	: İnterlökin 6
IL-8	: İnterlökin 8
IL-10	: İnterlökin 10
LPS	: Lipopolisakkarit
MPO	: Myeloperoksidaz
MDA	: Malondialdehit
MIB	: Makrofaj İnflamatuvar Protein

MnSOD	: Mitokondrial Süperoksit Dismutaz
NK	: Doğal Öldürücü Lenfosit. (Natural Killer)
PAF	: Platelet Aktive Edici Faktör
PG	: Prostaglandin
PMNL	: Polimorfonükleer Lökosit
RA	: Romotoid Artrit
RNA	: Ribonükleikasit
ROM	: Reaktif oksijen metabolitleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
S CuZn SOD	: Stoplazmik Bakır-Çinko Süperoksit Dismutaz
Sptrx	: Spermatik Spesifik Thioredoxin
TGF β	: Tümör Büyüme Faktörü β
Th	: T Helper
TRX 1	: Thioredoxin 1
TNBS-E	: Trinitrobenzen Sülfonik Asit-Etanol
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktör Alfa
ÜK	: Ülseratif Kolit
VIP	: Vazoaktif intestinal Polipeptit

MODELİNDE TİYOREDOKSİN'İN ETKİLERİ

ÖZET

Amaç: İnflamatuvar barsak hastalıklarında epitelyal fonksiyon bozuklukları ile birlikte oluşan inflamasyonda yaygın olarak oksidan ajanlar, proinflamatuvar sitokinler ve kemokinlerin patogeneizde önemli rol aldığı ortaya konmuştur. Bu çalışmada sıçanlarda deneysel kolit modelinde oluşan inflamasyon üzerine antiinflamatuvar ve antioksidan bir ajan olan tiyoredoksin'in etkileri incelenmiştir.

Materyal ve Metod: Çalışmada ağırlıkları 225–275 gram arasında değişen 24 adet Spraque–Dawley cinsi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar randomize olarak eşit sayıda 3 gruba ayrıldı (kontrol, kolit ve tedavi grupları). Kontrol grubundaki sıçanlara rektal yoldan serum fizyolojik (SF), kolit grubuna trinitrobenzen sülfonik asit ve etanol karışımı (TNBS–E), tedavi grubuna ise TNBS–E ile kolit oluşturulduktan sonra 40 µg/kg dozunda tiyoredoksin intraperitoneal olarak gün aşırı yirmi gün boyunca verildi. Birinci, onuncu günlerde deneklerden 1 cc kan örnekleri alındı. Deneklere, yirmibir gün sonra laparotomi yapıldı. Öncelikle kan örnekleri alındı. Eş zamanlı olarak kolektomi yapıldı. Kolondaki inflamasyon makroskobik ve mikroskobik olarak derecelendirildi ve derecelendirildi. Doku düzeyinde myeloperoksidaz ve MDA serumda ise Tümör Nekroz Faktör–α. (TNF–α), interlökin-1 (IL-1,) interlökin-6 (IL-6), interlökin-10 (IL-10) düzeylerine bakıldı.

Bulgular: Kolit ve tedavi grupları karşılaştırıldığında gruplar arasında makroskobik ve mikroskobik açıdan belirgin farklılık mevcuttu ($p<0,05$). Tedavi grubunda doku düzeyinde ölçülen myeloperoksidaz ve MDA aktiviteleri kolit grubuna göre anlamlı düzeyde düşüktü ($p<0,001$). Serumda çalışılan Tümör TNF–α, IL-1, IL-6 düzeyleri tedavi grubunda kolit grubuna göre belirgin şekilde düşük saptanmıştır. Kolit grubunda düşük olan interlökin-10 (IL-10) düzeyleri tedavi grubunda anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p<0,01$).

Sonuç: Deneysel olarak TNBS–E ile oluşturulmuş kolit modelinde uygulanan tiyoredoksin, histopatolojik ve biyokimyasal parametrelere bakıldığında inflamasyonu

belirgin düzeyde azaltmıştır. Kolit grubunda belirgin düzeyde oluşan inflamasyon verilen tiyoredoksin'in etkisiyle (tedavi grubu) azalmıştır ($p<0,01$).

Anahtar Kelimeler: tiyoredoksin , deneysel kolit, TNBS-E koliti, MDA, MPO

THE EFFECTS OF THIOREDOXIN-1 ON THE EXPERIMENTAL COLITIS MODEL ON RATS

ABSTRACT

Aim: Epithelial function is impaired in inflammatory bowel disease (IBD), and recent studies have shown the important role of proinflammatory cytokines and chemokines including thioredoxin-1 on pathogenesis. In this study, the effects of thioredoxin-1, an antiinflammatory and an antioxidant agent, have been investigated on the inflammatory process of the experimental colitis model.

Materials and Methods: In this study, 24 Sprague–Dawley male rats weighing 225–275 g were used. Rats were divided into 3 groups randomly, each including 8 (control, colitis and treatment groups). Normal saline (SF) were given to control group rectally. To the colitis group, trinitrobenzene sulfonic acid and ethanol mixture (TNBS–E) instilled rectally for colitis formation. Finally; to the treatment group, after instillation of TNBS–E, 40 µg/kg of thioredoxin-1 administered intraperitoneally every other day during 20 days. Blood samples were taken on the days 1st and 10th. On the 21st day, a midline laparotomy was performed. Blood samples were taken from vena cava inferior and santrifugated, and the left colon was resected. Microscopic and macroscopic findings of specimens evaluated and graded. Myeloperoxidase (MPO) and MDA activity of the colonic tissues, and tumor necrosis factor- α . (TNF- α), interleukin-1. (IL-1), interleukin-6. (IL-6) and interleukin-10. (IL-10) levels of blood samples measured.

Results: In terms of macroscopic and microscopic grades, colitis and treatment groups' grades were statistically different ($p < 0,05$). In the treatment group, tissue myeloperoxidase and MDA levels were significantly lower than study group ($p < 0,001$). TNF- α , IL-1 and IL-6 levels were decreased significantly in treatment group when compared to colitis group ($p < 0,05$). Treatment group's IL-10 levels were significantly higher than the colitis group ($p < 0,01$).

Conclusion: According to histopathological and biochemical findings, administration of thioredoxin-1 reduced the inflammation on TNBS–E colitis formed rats. Results suggest that the inflammation formation in colitis group, decreased significantly in treatment group by the effects of thioredoxin-1 ($p<0,01$).

Key words: Thioredoxin-1, Experimental colitis, TNBS–E colitis, MDA, MPO

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnflamatuvar barsak hastalıkları (İBH), gastrointestinal sistemi tutan ve hastanın yaşam kalitesini etkileyen, nedenleri tam olarak bilinmeyen, birden çok faktöre bağlı olabilen hastalıklardır. Kesin olarak bilinmemekle beraber immün sistemin, genetik yatkınlığın ve çevre faktörlerinin patogeneizde rol oynadığı düşünülmektedir. Son yıllarda bu hastalıkların görülme sıklığında belirgin bir artış dikkati çekmektedir. Ülseratif kolit (ÜK) ve Crohn hastalığı (CH), İBH olarak değerlendirilmekte ve benzerliklerinden ötürü aynı grupta incelenmektedir. Etkilenen dokuya karşı olan inflamatuvar hücre göçü ve sitokinlerin etkisiyle ilerleyici doku yıkımı gelişmektedir (1).

Kolit üzerine yapılan çok sayıdaki araştırma sonucunda etkinliği gösterilen tedavi yöntemlerine rağmen halen başarılı şekilde tedavi mümkün olamamaktadır. Hastalığın başlama, ilerleme ve kronikleşme aşamalarının açıklanması için yapılan çalışmaların çoğunluğu B ve T lenfositler, makrofajlar, nötrofiller, sitokinler ve inflamasyon mediyatörleri üzerine yoğunlaşmıştır (2,3). Son yıllarda ise reaktif oksijen metabolitlerinin (ROM) inflamasyon üzerindeki etkisi ile ilgili giderek artan sayıda yayın bulunmaktadır (4). ROM'nin doku hasarı ile ilgisini gösteren birkaç bulgu vardır. Öncelikle, birçok dokudaki inflamatuvar hastalıklarda hasarın ortaya çıkması ile ROM ilişkili bulunmuştur (5). Aynı zamanda, kolon da dahil olmak üzere, gastrointestinal sistemin bu metabolitleri oluşturduğu gösterilmiştir (6,7). İlave olarak, ülseratif kolit tedavisinde kullanılan azulfidin, 5-aminosalisilik asit bilinen güçlü anti-ROM ajanlardır (8,9). ROM artışının önemli kaynaklarından birisi de iskemi-reperfüzyon hasarını veya inflamasyonu takiben mukozadaki aktive olmuş fagositlerdir (10). Fagositik özellikteki

nötrofiller süperoksid (O_2^-) üretebilmekte ve birçok ROM'nin oluşumuna neden olan yolağı başlatmaktadırlar. Bu yolağın sonucunda H_2O_2 ve myeloperoksidaz (MPO) reaksiyonunu takiben hipoklorik asit oluşmaktadır (11). İkinci olası ROM ise, ksantin oksidaz yoludur. Bu yolda kolonositler ksantin/hipoksantin'in ürik asite dönüşümü sırasında O_2^- anyonlarını oluşturmaktadırlar (6). Süperoksid anyonu (O_2^-) ve H_2O_2 oluşumunun üçüncü mekanizması ise araşidonik asitin, lipooksijenaz (lokotrienleri oluşturarak) veya siklooksijenaz (prostaglandinleri oluşturarak) yollarıyla oksidasyonudur(7). Ortaya çıkan O_2^- kolonositlerde veya nötrofillerde diğer ROM'nin oluşumuna neden olmaktadır. Daha önce yapılan çalışmalarda, tedavi amacıyla dışardan verilen süperoksid dismutazın (SOD) asetik asit kolit modelinde olumlu etkileri olduğu görülmüştür (11). Crohn hastalığı ve ÜK hastalarında yapılan klinik çalışmalarda SOD'nin tedavi edici etkisi olduğu gösterilmiştir. Sıçanlarda asetik asit ile tetiklenen kolit modelinde intraperitoneal olarak verilen katalazın inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir (11). Ülseratif kolit hastalarından alınan biyopsilerle yapılan bir çalışmada ise katalazın ROM'ini azalttığı görülmüştür (12).

Daha çok kolit kliniği ile izlenen inflamatuvar barsak hastalıklarının immünoopatogenezindeki gelişmelere paralel olarak bu hastalıkların tedavisinde değişik ajanlar kullanılmaya başlanmıştır.

İlk olarak E. Coli'de tanımlanan tiyoredoksin'in (TRX) vivo ve invitro ortamda etkili disülfid bağı indirgeni olarak bulunmuştur. Tüm canlı hücrelerinde doğal olarak bulunur ve aktif bölgesi sayesinde sistein rezidülerinin reversibl oksidasyonu ile çeşitli farklı indirgenme olaylarında rol alırlar. Yine bu aktif bölge sayesinde hücrelerin farklı alanlarında tamamen zıt reaksiyonları gerçekleştirebilirler; örneğin disülfid bağlarının redüksiyonu veya sistein tiollerinin oksidasyonu. H_2O_2 'nin ortadan kaldırılmasını metionin sülfoksit redüktaz veya peroksiredoksinlerin bir çok izoformu ile birleşerek gerçekleştirir. (13-18)

Bu çalışma; kolitte artan oksidan ajanların ve sitokin üretiminin ve bunun paralelinde artan inflamasyonla birlikte barsak hasarı sürecinin TRX kullanımı ile azaltılabileceği düşüncesiyle tasarlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KOLİT

2.1.1. Etyoloji ve Patogenez

İnflamatuvar barsak hastalıkları hakkında söylenmesi gereken en önemli nokta, halen etyolojilerinin tam olarak bilinmiyor olmasıdır. İBH tanımında yer alan ÜK ve CH yerleşimleri, kronik, alevlenme–remisyonlarla seyreden klinik seyirleri ve aynı tedavi yöntemlerine cevap vermeleri açısından birbirine çok benzer. Ancak komplikasyonları, barsağın farklı bölgelerine lokalize olmaları, klinik görünümleri ve histopatolojileri açısından birbirinden farklı heterojen bir hastalık grubunu oluştururlar. Etyoloji tam olarak ortaya konamamış olduğu için de tedavisi semptomatiktir. Tedavi 5–aminosalisilat türevleri, immünsüpresif ajanlar ve kortikosteroidler ile tedavide olumlu etkileri olduğu düşünülen deneysel aşamadaki farmakolojik ajanları içermektedir (19).

Etyoloji halen sırrını korusa da bugün için geçerli olan görüş, zeminde yer alan inflamatuvar hücreler ve sitokinlerle oluşan inflamasyondur. Etyolojik olarak bir takım genetik bozukluklar, enfeksiyöz ajanlar, emosyonel stres, alkol ve sigara kullanımı, oral kontraseptif alımı ve rafine yiyeceklerin tüketimi gibi çevresel bazı faktörler sorumlu tutulmaktadır. Etyolojiden sorumlu olan ajan ne olursa olsun her iki hastalık da sonuçta doku düzeyinde hasar ile seyretmektedir (19).

Kapalı Yahudi topluluklarında, beyaz ırkta ve birisi İBH olan tek yumurta ikizlerinin diğerinde de yüksek oranda İBH görülmesi hastalığın genetik altyapısı

fikrini desteklemektedir. Yine her iki hastalık ile HLA grupları arasında ilişki saptanmıştır. ÜK'de HLA-DR2'ye Japonlar ve Yahudilerde, HLA-DRB1-0103, DR12'ye Kuzey Avrupa ülkelerinde ve beyaz ırkta rastlanmaktadır (19).

İntestinal içeriğin İBH patogenezi ile ilişkili olduğu yolundaki düşünce, son zamanlarda güç kazanmaktadır. Hayvan deneylerinde, aşırı miktarda enterik bakteri hücre adezyon moleküllerinin ekspresyonunda artışa ve granülosit infiltrasyonuna neden olmakta, her iki olay da antibiyotik kullanımı veya fekal akım artışı ile azaltılabilmektedir. Sözü edilen klinik ve deneysel gözlemler, kronik intestinal inflamasyonun gelişimi ve seyrinde, mikrobiyal dengesizliğin önemli rolüne işaret etmektedir (20).

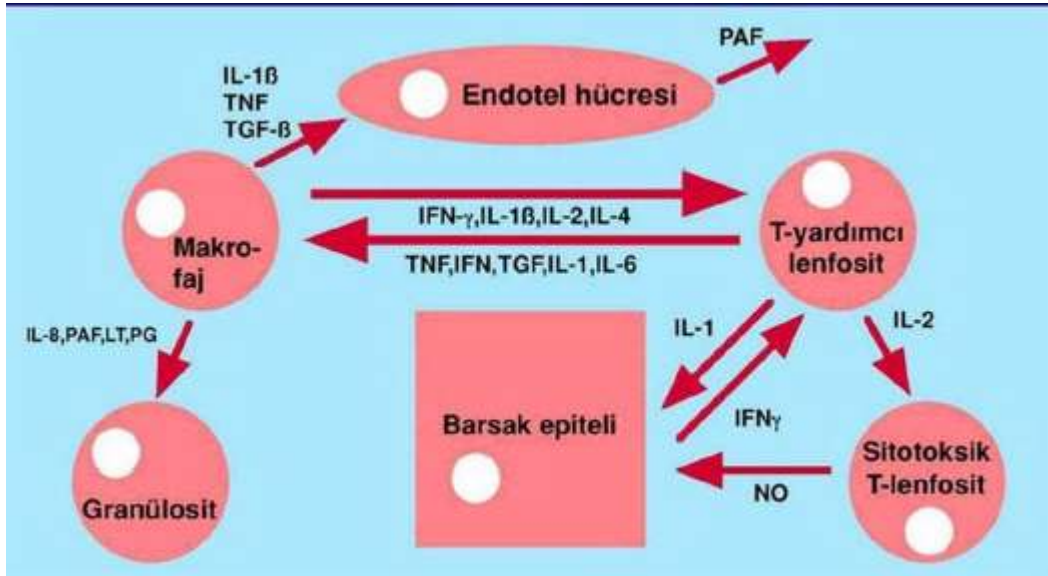
Genetik ve otoimmün teoriler kadar ilginç olan bir başka konu da enfeksiyöz ajanların olayların tetiklenmesinde ya da sürecinde rol aldığı düşüncesidir. İBH'nın alevlenme döneminde enfeksiyöz barsak hastalıklarından tamamen ayırt edilmesi neredeyse olanaksızdır. CH'nın alevlenme dönemlerinde sıklıkla *Yersinia enterocolitica* ve *Mycobacterium tuberculosis* suşları identifiye edilebilmektedir. Benzer şekilde *Campylobacter*, *Shigella*, *Amip* ya da *Cytomegalovirus* enfeksiyonları ÜK ile benzerlik gösterebilmektedir. İntravasküler granülomlarda yapılan elektronmikroskopik incelemeler, kızamık virüsü ile uyumlu paramiksovirus hücre parçacıkları ortaya koymuştur. Bu konuyla ilişkili yapılan iki çalışmanın birincisinde 30 yaşın altında oluşmuş Crohn hastalığı ile kızamık epidemisi arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. İkinci çalışmada ise hamileliğin başlangıcında geçirilmiş kızamık enfeksiyonunun çocuğu gelecek yaşamında artmış Crohn hastalığı riski ile karşı karşıya bıraktığı saptanmıştır (21,22).

Enfeksiyöz ajanların bu şekilde doku destrüksiyonu ile giden bir tablodan tek başına sorumlu tutulmaları pek akılcı görünmemektedir. Çünkü antijenik yapıdaki bu proteinler hemen her insanın intestinal florasında bulunabilmektedir. O zaman yanıt aramamız gereken sorular mukozal bariyerindeki bozukluk nedir? Hastalığı oluşturan etkenler nelerdir?

Günümüzde İBH'nın patogenezi ile ilgili en geçerli açıklama İBH'nın olası nedeninin multifaktöryel olup "genetik yatkınlığı olan bir konakta barsak kökenli antijenlere karşı abartılı bir immün yanıt gelişmesidir". CH'da daha sıklıkla olmak üzere her iki

durumda da ailevi tutuluma rastlanması, hastalığın bazı ırklarda daha fazla görülmesi ve HLA gruplarıyla hastalık arasında ilişki saptanması İBH'nın genetik özelliklerini destekleyen bulgulardır. Familial CH ya da ÜK olgularında yapılan genom taramalarında, özellikle CH'da kromozom 16'da, her iki hastalıkta da kromozom 3, 7 ve 12'de yakınlık loküsü bulunması, bazı kişilerde HLA genleri ve sitokin genlerinde (TNF- α , IL-1) polimorfizm saptanması, genetik faktörlerin önemini ortaya koymaktadır (22).

Neden olan uyaran ne olursa olsun sonuç olarak inflamatuvar yanıt tetiklenmektedir. Bunun sonucunda da makrofajlardan salınan sitokinler, özellikle TNF- α , IL-2 ve T hücrelerini sitotoksik hale getirmekte, proliferasyonlarını uyarılmaktadır. Bu yanıt özellikle yardımcı T ve B hücrelerini stimüle ederek hem özgül olmayan sitotoksik etkiyi hem de özgül antikor yapımını artırarak, antikora bağımlı sitotoksikiteyi körüklemektedir. Sonuçta, lenfositlere ek olarak diğer lokositlerin de katılımıyla arşidonik asit metabolizmasındaki ürünler ve serbest oksijen radikalleri nedeni ile doku yıkımı oluşur (23).



Şekil-1: Kolonik mukozanın sitokin üretimindeki etkisi (19)

İmmün sistemdeki kolonik mukoza, hem deneysel hem de klinik bir çok çalışmada sitokin üretimi açısından incelenmiştir (24,25). Bu çalışmalarda sitokinler mukozal immün yanıtın bileşenleri olarak anılmıştır. Lamina propriadaki hücreler tarafından sentezlenen ve salınan sitokinler hem proinflamatuvar hem de antiinflamatuvar etkilere sahiptir. Proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler arasındaki dengesizlik

intestinal inflamatuvar hastalıklarda çalışılmıştır. Bu hastalıklarda IL seviyeleri artmakta ve proinflamatuvar sitokin olarak da IL-1, IL-6, IL-8 ve TNF- α artmaktadır (25,26).

İBH olan kişilerde proinflamatuvar sitokinlerin artışı, lokal ve sistemik doku hasarı ile birlikte olur. Bu inflamatuvar sitokinler, bir çok hastalığın yaygınlığını belirlemede kullanılabilirler. Sitokinlerin lokal artışlarında, vasküler permeabilitede artış, vasküler konjesyon ve ödem görülebilir (27). Diğer sitokinlerin üretimi, vasküler endotel aktivasyonu, inflamatuvar hücrelerin toplanması ve koagülasyon sisteminin aktivasyonuna neden olur (28).

Reaktif oksijen metabolitlerinin kaynağı ve etkileri:

Reaktif oksijen metabolitlerinin kaynaklarının başlıcaları; mitokondriyal elektron taşıma sistemlerinin bileşenleri, endoplazmik retikulum, prostaglandin sentetaz, lipoksijenaz sistemleri, bazı enzimler ve proteinler (hemoglobun, triptofan deoksijenaz, ksantin oksidaz v.b.), çeşitli küçük moleküller (flavinler, tiol bileşikleri, iki değerlikli metaller v.b.) ve çevresel etkenlerdir (radyasyon, hava kirliliği, zararlı kimyasallar v.b.).

Oluşan reaktif metabolitler, hücre içinde çeşitli metabolik bozukluklara yol açarak hücre hasarı ve nihayet hücre ölümüne sebep olurlar. Hücre membranlarının fosfolipid tabakasında yer alan doymamış yağ asitlerine saldırarak, lipid peroksidasyonunu başlatırlar. Lipid peroksidasyonu, reaktif metabolitler tarafından başlatılan ve zar yapısındaki doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna kadar ilerleyen bir kimyasal olay olarak tanımlanmaktadır. Lipid peroksidasyonu, kuvvetli yükseltgen bir radikalın, zar yapısında yer alan doymamış yağ asiti zincirindeki alfa-metilen gruplarından bir hidrojen atomu uzaklaştırması ve yağ asiti zincirinin radikal özellik kazanması ile başlar. Dayanaksız olan lipid radikalinden önce lipid konjuge dien molekülü, daha sonra da moleküler oksijenin bağlanmasıyla lipid peroksi radikali oluşur. Lipid peroksi radikali ise, ya başka bir lipid molekülü ile etkileşerek lipid hiperoksid molekülünü oluşturur, ya da lipid endoperokside dönüşür. Oluşan lipid peroksi radikalleri, zar yapısındaki diğer doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumunu sağlar ve olay kendi kendini katalizleyerek devam eder.

ROM'ne bağlı hücre hasarında üç ana mekanizma rol oynar;

a) ROM'nin belirli bir hedefe saldırarak yaptıkları direkt etki,

b)Yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu lipid membranlarının hasarı ve buna bağlı olarak membran enzimleri ve membran taşıma sistemlerinin zarar görmesi,

c) Toksik, non-radikal lipid parçalanma ürünlerinin belirli bir hedef ile reaksiyona girmesi.

Özellikle sonuncu mekanizma hücre içinde oluşan radikallerin ne şekilde zincirleme yayılım gösterdiklerini açıklamak açısından önemlidir. Gerçekten de endojen oluşan bazı non-radikal maddeler, kaynaklandıkları yerden difüze olarak ana radikale ait hasar verici potansiyeli hücre membranına, mitokondriyuma, ribozomlara, nükleusa ve diğer hücre içi organellere taşırlar (29).

İnflamatuvar Barsak Hastalığının Tedavisinde Antioksidan Tedavinin Yeri

Hastalığın yaygın olmasına rağmen, neden ve patofizyolojinin bilinmemesinden dolayı CH ve ÜK hastalıkları için tam bir tedavi geliştirilememektedir. İBH'da inflamatuvar reaksiyonu başlatan özgül nedenler bilinmediği için, inflamatuvar yanıtın çeşitli aşamaları nonspesifik olarak tedavi edilmeye çalışılmaktadır. İmmünolojik ve inflamatuvar yanıtların daha iyi anlaşılması, daha uygun tedavilerin geliştirilmesini sağlayacaktır. Nötrofiller ve makrofajlar tarafından üretilen toksik oksidanların yol açtığı inflamatuvar yanıt, özellikle en çok çalışılması gereken konular arasındadır. Kortikosteroidler, aminosalisilatlar, immünomodülatuar ilaçlar, antibiyotikler ve eikosanoid metabolizması üzerinde etkili ilaçlar, inflamasyonun genel bulgularını baskılayan spesifik olmayan ilaçlardır. Mast hücresi stabilizatörleri, balık yağı, sükralfat ve kısa zincirli yağ asitleri içeren lavmanlar ise mekanizmaları bilinmeyen ajanlardır. Dolayısıyla diğer çeşitli radikal tutucu ajanların (örn. süperoksid dismutaz) ÜK ve CH tedavisinde yeni farmakolojik ajanlar olarak kullanılmaları üzerinde araştırmalar devam etmektedir (30).

ROM'ler bütün dokularda metabolik yan ürünler olarak üretilmektedir. Bu ürünlere karşı tüm hücrelerde mevcut olan anti-oksidan mekanizmaların başında süperoksid dismutaz gelmektedir. Memelilerde SOD'ın iki izoenzimi bulunmaktadır. Sitoplazmada bakır-çinko SOD (S-CuZn-SOD), mitokondride ise Mn-SOD işlev

görmektedir. Her iki izoenzim, O_2 'nin dismutasyonunu katalize ederek H_2O_2 ve O_2^- oluşumunu sağlamaktadır.

Bu dismutasyon reaksiyonunun yan ürünü olarak H_2O_2 oluşumuna rağmen, bu madde de katalaz ve glutatyon peroksidazın katalizlediği reaksiyonlar ile ortamdan uzaklaştırılmaktadır (30).

Katalaz, karaciğer ve eritrositlerde belirgin olmak üzere tüm dokularda bulunan bir hemoproteindir ve H_2O_2 'in parçalanmasını sağlamaktadır.

Glutatyon peroksidaz, yapısında selenyum içeren antioksidan bir enzimdir. Bu enzimin katalizlediği reaksiyonda glutatyon, hidrojen donorü olarak kullanılmakta ve peroksidlerin parçalanması sağlanmaktadır.

2.5. THIOREDOXİN 1

TRX hemen hemen tüm canlı hücrelerinde bulunan yaşayan hücreler için esansiyel özellik taşıyan küçük multifonksiyonel proteinler olup oksidoredüktaz aktivitesi taşırlar ve hücre içi redoks reaksiyonlarında önemli rolleri vardır

Yapısı

İnsan genomunda üç farklı tipi tanımlanmıştır.

TRX 1 sitozolik form

TRX 2 mitokondrial form

Spermatik spesifik tiyoredoksin

TRX 1 sitozolik form

İlk olarak E coli'de tanımlanmıştır. 12 kDa ağırlığında, 104 amino asit içeren küçük globüler bir proteindir. Primer olarak sitozolde bulunur. E. coli tiyoredoksin 1'i in vivo ve invitro ortamda en etkili disülfid bağı indirgeni olarak tanımlanmıştır. Ailenin farklı üyeleri verimli bir şekilde, tamamen zıt reaksiyonları gerçekleştirebilirler; örneğin disülfid bağlarının redüksiyonu veya sistein tiollerinin oksidasyonu. Hücrenin içinde, bu iki antagonistik reaksiyon, genellikle farklı subselüler alanlarda meydana gelir. Redüksiyon, sitoplazmada oksidasyon ise ekstrasitoplazmik alanda meydana gelir. Aynı zamanda intraselüler ve ekstraselüler alanda ribonükleotid redüktaz için elektron donörü olarak rol alır. Hücre büyümesi ve apoptozun düzenlenmesinde, embriyonik

implantasyonda transkripsiyon faktörlerinin DNA bağlanma aktivitelerinin düzenlenmesinde ve co-sitokinler ve serbest oksijen radikallerine karşı koruyucu mekanizmalarda rolü vardır (31).

TRX 2 mitokondriyal form

18,2 kDa ağırlığında, 166 aa asit uzunluğunda olup mitokondride bulunur. Uzunluk ve ağırlığındaki fark, TRX 2 'nin N terminalindeki 60 aa'lık mitokondriyal translokasyon sinyalinden kaynaklanır (32). TRX2, mitokondriye lokalize olup TRX-1'le sekans benzerliği göstermektedir. Bu benzerlik aktif bölge sekansında bulunmaktadır. TRX2, mitokondriyal ROM ile etkileşim yapmamaktadır. Bu maddenin, oksidan ilişkili sinyal iletiminde herhangi bir rolü saptanmamıştır (33).

Son çalışmalarda tiyoredoksin ailesinin yeni farklı tipi tanımlanmıştır. Spermatik spesifik tiyoredoksin (Sptrx) olarak adlandırılmıştır. Ve spermatogenezin haploid fazını sınırlar. (14)

Okside TRX'deki aktif disülfid bölgesinin redüksiyonu, elektron vericisi olarak NADPH içeren TRX redüktaz enzimi tarafından katalizlenir.

Tiyoredoksin'in etki mekanizması:

Trx'in fonksiyonel alanı, proteinin tersiyer yapısı içerisinde bulunur ve disülfid bağlarının reversibl oksidasyonunu içerir. TRX'in aktif hidrofobik bölgesi ile (Cys 32) disülfid bağı arasında nükleofilik atak oluşur. Daha sonra Cys32 ile Cys 35 arasında nükleofilik atak ve bir disülfid köprüsü oluşur ve hedef bağdan tamamen indirgenmiş olarak ayrılır. (34)

TRX'in indirgenmesi, TRX Redüktaz tarafından olmaktadır. Memeli TRX redüktaz, FAD içeren bir proteindir ve C terminalinde selenosistein rezidüsü bulunur. (35)

Tiyoredoksin'in Fonksiyonları

Redoks mekanizması TRX'e bir çok biyolojik fonksiyon sağlamaktadır.

1) Kofaktör

İndirgenmiş TRX, DNA sentezinin ilk basamağını katalizleyen ribonükleotid redüktaz için hidrojen donörüdür (36). Epitelyal büyüme faktörünün (EGF) reseptörüne

bağlanması tirozin kinaz aktivitesini stimüle eder. Böylece DNA replikasyonunun ve hücre bölünmesinin aktivasyonu ile sonuçlanan bir fosforilasyon kaskadını başlatır (37).

2) Transkripsiyon faktör regülasyonu üzerine olan etkisi

TRX, NFkB, glukokortikoid reseptörü gibi transkripsiyon faktörlerinin redoks regülasyonunda rol alır (38-40).

3) Proteine bağlı regülasyon

Transkripsiyon faktörlerinin regülasyonu direkt olabildiği gibi diğer proteinlerle etkileşimle de olabilir. P53 tümör süpresör proteini protein Ref-1 redüksiyonu aracılığıyla aktive edilir ve tümör büyümesi engellenmiş olur (41-43).

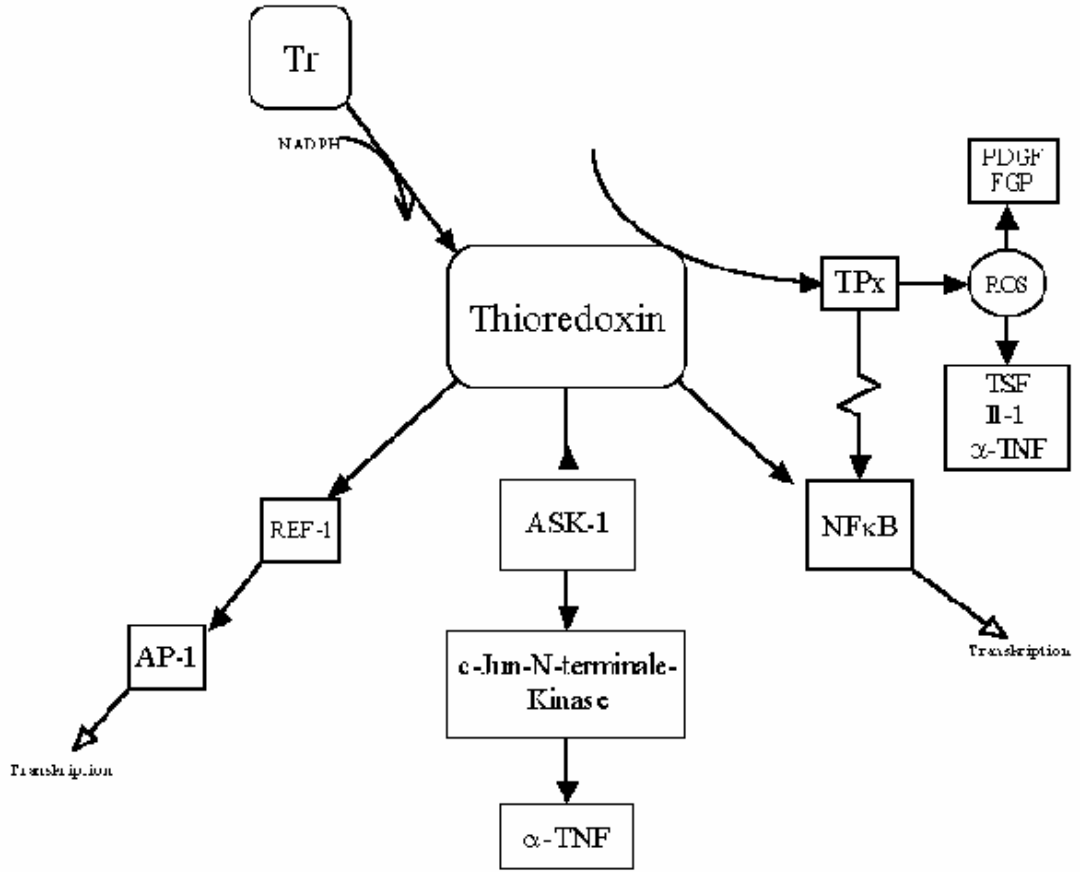
4) Büyümeye etkisi

TRX'in, lenfosit ve fibroblastlarda büyümeyi artırdığı gösterilmiştir. Bu etkiyi hücrelerin bazı otokrin büyüme faktörlerine hassasiyetini artırarak yaptığı gibi, otokrin faktörlerin üretimini artırarak da yapar (44-47).

5) Antioksidan etkisi

TRX, hücrelerdeki hidrojen peroksidazı direkt olarak uzaklaştırabildiği gibi, glutatyon peroksidaz ve TRX peroksidaz gibi antioksidanları aktive ederek de bu etkisini gösterebilir (48,49). Yapılan bir çalışmada; TRX bağımlı peroksinitritlerin de, H₂O₂'nin regülasyonunda görevli olduğunu göstermişlerdir (50). TRX'in EGF'ye yanıt olarak oksidasyonda görev aldığı da gösterilmiştir (51). TRX aynı zamanda H₂O₂'nin ortadan kaldırılmasında metionin sülfoksit redüktaz veya peroksiredoksinlerin bir çok izoformu ile birleşerek rol alırlar (51).

TRX, ASK1 üzerine de (apoptozis sinyal regülating kinas 1) inhibitör etkiye sahiptir (52).



Şekil-2: TRX'in çeşitli transkripsiyon faktörleri üzerine olan etkileri (54)

- Hücre büyümesi ve apoptozun düzenlenmesinde, (36,37)
- Embriyonik implantasyonda (14,31)
- Transkripsiyon faktörlerinin DNA bağlanma aktivitelerinin düzenlenmesinde (37)
- Co-sitokinler ve serbest oksijen radikallerine karşı koruyucu mekanizmalarda (31)
- Ribonükleotid redüktazın katalitik fonksiyonunda (36,37)
- Çok yönlü bir nükleer transkripsiyonel faktör olan NFkB'nin aktivasyonu; hem hücre aktivasyonu, hem de sitokin ve kemokin gibi çeşitli inflamatuvar mediatörlerin üretiminde ortak bir yoldur. NFkB apoptoza olan direnci de düzenler. Aktif CH olanlarda mukozal T lenfositleri apoptoza nisbeten dirençlidirki bu da hastalardaki kontrolsüz aktivasyonu açıklayabilir.

- TRX'de NFkB, API, P53 ve NRF2 gibi transkripsiyon faktörlerinin redoks regülasyonunda rol alır (38-40)
- H₂O₂'nin ortadan kaldırılmasını metionin sülfoksit redüktaz veya peroksiredoksinlerin bir çok izoformu ile birleşerek gerçekleştirir (31)
- Strese yanıt olarak hücre sağ kalımının sağlanmasında yer alan Akt Kinazı aktive eder
- ASK1 üzerine de (apoptozis sinyal regülatör kinas 1) inhibitör etkiye sahiptir (52).

Liu ve ark. (18) yaptıkları çalışmada myokardit modeli oluşturulduktan sonra ratlara her iki günde bir intraperitoneal olarak salın ve TRX verilmiş ek olarak tavşan antimaus TRX serumu veya normal tavşan serumu verilerek hayvanlar 21. günde kurban edilmiş. Kalbin histopatolojik analizinde TRX verilen grupta kontrol grubuna göre myokardial hasarın anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir. Anti TRX antikorunun verildiği ratlarda ise hastalığın şiddetinde belirgin artış olduğu görülmüştür. Yapılan immünohistokimyasal incelemelerde TRX'in kardiyak makrofaj inflamatuvar protein 1 alfa. (MIP 1 alfa), MIP2 ve miyokarditteki makrofaj infiltrasyonunu belirgin olarak azalttığı görülmüştür (18)

TRX'in uygulanması

40 µgr/fare TRX 0-20. günler arası her iki günde bir intraperitoneal olarak verilerek. 21. günde sıçanlara ötenazi yapılmış ve verilen TRX'in farmakokinetiğini araştırmak üzere TRX'in serum seviyeleri ELİSA yöntemiyle ölçülmüştür. TRX'in İP enjeksiyonundan 4 saat sonra yoğunluğu 100 µgr/ml'nin üzerine çıktığı gösterilmiştir. Bu düzeyde lökosit kemotaksisini baskılayacak seviyedir (18,53,54).

2.6. SİTOKİN BİYOLOJİSİ

Sitokinler, nonspesifik immün sistemin temel haberleşmesini sağlayan proteinleridir. Sitokinler, protein veya glikoprotein yapısında moleküllerdir. Hücre büyümesi ve değişimi, doku tamiri ve yeniden yapılanması, immün cevabın

düzenlenmesinde, hücreler arasında kimyasal haberleşmeyi sağlarlar (55). Doğal immünyetede sitokinler, mononükleer fagositler ve doğal öldürücü (natural killer, NK) hücreler tarafından üretilirler. Kazanılmış immünyetede ise, T hücreleri tarafından üretilirler. TNF- α , IL-1 ve IL-6 doğal immün cevapta en önemli sitokinlerdir (58). Bu sitokinler tek başlarına immün cevabın düzenlenmesinde rol oynamazlar, fakat yardımcı T hücre yanıtına neden olarak edinsel immünyetenin gelişmesine ve yayılmasına neden olurlar. Sitokin biyolojisinin önemi anlaşıldıkça, cerrahi hastalardaki önemide artmaya başlamıştır. Yara iyileşmesi, iskemi ve reperfüzyon hasarı ve septik şok gelişimi gibi inflamatuvar durumlarda sitokinlerin oynadığı rol ve önemleri artık tamamen anlaşılmıştır. İnsan genomunun anlaşılması ile birlikte, bilinen sitokin sayısında dramatik bir artış olmuştur. İnterferon α / β 'nin kronik hepatit-C enfeksiyonunda kullanılması, son dönem böbrek yetmezliğinde meydana gelen anemide eritropoetin kullanılması ve kemoterapiye bağlı nötropeni tedavisinde G-CSF kullanılması sitokin terapi rejimlerine verilebilecek örneklerdir.

Sitokinler, farklı hücre tiplerinde farklı etkiler göstermektedirler. Bir sitokin diğerlerinin sentez ve salgılanmasını artırarak ya da azaltarak, immün ve inflamatuvar cevabı baskılayabilir veya aktive edebilir (59).

Sitokinler, etki mekanizmalarına göre proinflamatuvar ve antiinflamatuvar olarak adlandırılırlar. Proinflamatuvar sitokinler, inflamasyonun başlangıcında salınırlar, immün cevabın başlaması ve sürdürülmesi için gereklidirler. İnsan immün cevabında temel proinflamatuvar sitokinler, TNF- α ve IL-1'dir. Sekonder veya bunlara yardımcı sitokinler ise, IL-6 ve IL-8'dir (56-58). Bunun zıttı olarak anti-inflamatuvar sitokinler ise, inflamasyonun daha sonraki evrelerinde salınırlar. İnterferon α / β sitokinler ise, inflamasyonun daha sonraki evrelerinde salınırlar. İnterferon α / β sitokinler ise, inflamatuvar yanıtın kontrolünü sağlarlar (59,60).

Tablo-1: İnflamatuvar özelliklerine göre sitokinlerin sınıflandırılması

Proinflamatuvar	Anti-İnflamatuvar	Çift etki
TNF α	IL-4	IL-6
TNF β	IL-10	TGF β
IL-1	IL-11	
IL-2	IL-13	
IL-8		
IL-12		
IL-15		
IL-17		
IL-18		
INF- γ		

Monosit, makrofaj, granülosit, endotel hücresi, dendritik hücre, keratinosit, T ve B lenfosit, mast hücresi, tümör hücresi ve diğer pek çok hücre sitokin sentezleme ve salgılama yeteneğine sahiptir (61). Sitokinler, genellikle geçici olarak etki gösterirler. Normal koşullar altında düşük yoğunluklarda bulunurlar. Özellikle zar bağımlı reseptörler sitokinlerin biyolojik aktivitelerini düzenlerler. 4 çeşit reseptör ailesi tanımlanabilir. Bunlar:

- 1) İmmunglobulin reseptör ailesi (IL-1 reseptörleri).
- 2) Hemopoetin süper ailesi (örneğin IL-2, IL-6, INF α ve CSF reseptörleri).
- 3) TNF reseptör ailesi (örneğin TNF- α reseptörleri).
- 4) β adrenerjik reseptörler (62).

2.7.1. İnterlökin-6

İnterlökin-6 (IL-6); çeşitli hücreler üzerinde çok sayıda biyolojik aktivitesi olan bir sitokindir. IL-6 geni, insan 7. kromozomunda yer alır. Aktive T ve B hücreleri, monositler, endotel hücreleri, epitel hücreleri, fibroblastlar, keratinositler, hepatositler, nöroglial hücreler gibi çok değişik hücreler tarafından sentezlenir. IL-1, IL-2, TNF,

interferonlar, platelet-kaynaklı büyüme faktör, IL-6 sentezini artırırken; IL-4, IL-10, IL-13 inhibe eder (62). IL-1 ve TNF- α ile birlikte sinerjik etki ile T hücre stimülasyonu yapar. T hücrelerinin, sitotoksik T hücrelerine farklılaşması da dahil olmak üzere farklılaşma, aktivasyon ve büyümesinde görev alır.

IL-6, IL-1 gibi ateş ve akut faz cevabında rolü vardır. Doku hasarı ve enflamasyon durumunda, hepatositleri aktive ederek C- reaktif protein, fibrinojen, haptoglobulin, amiloid gibi akut faz proteinlerinin sentezini uyarır. IL-6, IL-1 ile birlikte proinflamatuvar protein olarak sınıflandırılır. Hipotalamik ateş merkezini uyurarak endojen pirojen olarak aktive eder.

IL-6'nın en önemli biyolojik etkinliği, B lenfosit matürasyonunu stimüle etmesidir. IL-6'nın etkisi ile B Lenfositler immünglobulin sentezleyebilen olgun plazma hücrelerine farklılaşırlar. Hematopoezi ve trombopoezi uyarır. IL-6, nötrofil aktivatörüdür. Kemik iliği kök hücrelerinin matürasyonunda diğer sitokinlerle sinerjistik etki gösterir (63). Malign plazmasitom hücreleri otonomik aktivite ile IL-6 üretir ve bunu otokrin büyüme faktörü olarak kullanırlar. IL-6, bundan başka B lenfositlerinin plazma hücrelerine dönüşümünü uyurarak monoklonal antikör üretimine neden olmaktadır. Bu etkilerine ek olarak in vitro deneyler göstermiştir ki; IL-6 T hücrelerinin ve timositlerin aktivatörü olarak rol oynar (63).

Bakteriyel enfeksiyonlarda, bakteriyel hücre komponentlerine cevap olarak ya da diğer sitokinlerin (TNF- α ve IL-1 β) stimülasyonu ile salınır. IL-6 düzeyleri ile inflamasyona bağlı mortalite ve morbidite arasında direkt bir korelasyon vardır. IL-6 artışı ile organ sistem disfonksiyonları ve mortalite oranları artmaktadır (63) .

2.7.2. Tümör Nekrozis Faktör Alfa (TNF- α)

TNF- α 'nın vücuttaki biyolojik etkileri çok çeşitlidir. Düşük yoğunluklarda TNF, lökosit ve endotel hücrelerinin parakrin ve otokrin düzenlenmelerine lokal olarak etki eder. Düşük yoğunlukta TNF- α 'nın biyolojik etkileri şu şekilde özetlenebilir

TNF- α vasküler endotel hücrelerinin yeni yüzey reseptörü oluşturmaya yol açarak endotel yüzeyine lökosit adezyonuna neden olur. TNF- α nötrofilleri uyardır güçlü bir araçtır. Aynı zamanda eozinofil ve mononükleer fagositleride aktive eder. TNF- α mononükleer fagositlerden ve diğer hücrelerden sitokin üretimini uyarır.

Cerami ve Beutler kronik inflamasyonlu hastalarda şiddetli kilo kaybına neden olan faktörleri incelerken, monositlerden salınan bir faktörün bundan sorumlu olduğunu bulmuşlardır. Bu proteine kaşektin adını vermişler, daha sonra bu proteinin TNF- α 'nın protein yapısına benzediğini bulmuşlardır. Yapılan bir çalışmada, kaşektin-TNF- α 'nin sepsis patogenezindeki rolünü keşfedebilmek için LPS'nin etkilerine dirençli bir fare grubu kullanılmıştır. LPS verilen hayvanların kanlarında yapılan incelemelerde TNF- α yoğunluğu düşük bulunmuştur. Daha sonra LPS dirençli farelere TNF- α verildiğinde sepsise benzer bir tablo görülmüştür (63).

Etkisini IL-6'yı artırarak gösterir. IL-6 hepatositler üzerine hem mitojenik, hem de anti-apoptotik etkiler göstermekte ve hasar sonrası karaciğer rejenerasyonunu olumlu etkilemektedir. Parsiyel hepatektomi sonrası TNF- α ve IL-6 kanda hızla yükselmektedir (70).

TNF- α gram negatif bakterilere konak yanıtının temel mediyatörüdür. TNF- α yüksek yoğunluklu lipopolisakkaride (LPS) bağlı doku hasarında, damar içi pıhtılaşmada (DIC) ve septik şokta temel mediyatördür. TNF- α 'nın temel hücrel 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 salgılanır. Aktive olan hücrelerin TNF sentez ve salgılama olayı çok sayıda ardışık olayı içerir. T hücreleri tarafından üretilen interferon γ , reseptör defekti olan farelere verildiğinde, TNF- α üretiminin azaldığı çalışmalarda gösterilmiştir (64).

TNF- α , inflamasyon patogenezinde ilk suçlanan sitokindir. TNF- α ve TNF- β birbiri ile yakın ilişkili olan benzer biyolojik aktiviteleri paylaşan proteinlerdir. TNF- α , monosit ve makrofajlar tarafından üretilir. TNF- β ise, aktive edilmiş T lenfositleri tarafından üretilir (65).

TNF- α 'nın vücuttaki biyolojik etkileri çok çeşitlidir. Düşük yoğunluklarda TNF, lökosit ve endotel hücrelerinin parakrin ve otokrin düzenlenmelerine lokal olarak etki eder. Düşük yoğunluklarda TNF- α 'nın biyolojik etkileri şu şekilde özetlenebilir:

TNF- α vasküler endotel hücrelerinin yeni yüzey reseptörü oluşturmaya yol açarak endotel yüzeyine lökosit adezyonuna neden olur. TNF- α nötrofilleri uyardır güçlü bir araçtır. Aynı zamanda eozinofil ve mononükleer fagositleride aktive eder.

TNF- α mononükleer fagositlerden ve diğer hücrelerden sitokin üretimini uyarır. TNF- α virüslere karşı koruyucu etki gösterir. Sınıf I major histokompatibilite (MHC) antijenlerinin çoğalmasına ve virüsten etkilenen hücrelerin immün yanıtla parçalanmasına neden olur (65).

İNERLÖKİN 10

T helper (Th) hücreleri, lenfokin üretimine göre farklı alt gruplara ayrılmaktadırlar. Th1 hücre klonları, IL-2 ve IFN-g; Th2 hücre klonları IL-4 ve IL-5 üretirler. Her iki grup hücre klonları , IFN- γ , IL-3 ve GM-CSF gibi sitokinlerin üretiminden de sorumludurlar (66).

Th1 hücreleri esas olarak gecikmiş tip hipersensitivitede, Th2 hücreleri antikor üretiminde rol almaktadır. Ayrıca Th1 ve Th2 hücreleri çapraz düzenleyici etkiye sahiptir. Th1 hücrelerince üretilen IFN- γ , Th2 hücre proliferasyonunu inhibe ederken; Th2 hücrelerince üretilen sitokin sentez inhibitör faktör, IFN- γ ve Th1 hücrelerince üretilen sitokinleri inhibe eder. Günümüzde bu sitokin sentez inhibitör faktör, IL-10 olarak isimlendirilmiştir (66).

IL-10'un etkileri

IL-10 T hücreleri yoluyla sitokin sentezini inhibe eder. IL-10 hem makrofajlar yoluyla indirekt hem de Th1 hücrelerini etkileyerek direkt olarak sitokin üretimini inhibe eder. Ancak Th1 hücreleri üzerindeki direkt etkilerinin mekanizması hala tam olarak anlaşılammıştır (67).

IL-10, insan monosit ve makrofajlarında inhibitör etkiye sahiptir. IFN- γ ile aktive olmuş monositler yüksek seviyede IL-10 üretirler. IL-10 monosit aktivasyonundan yedi saat sonra ilk olarak tesbit edilebilir seviyeye gelir ve maksimum üretim 24-48 saat sonra oluşur. Bu süre monositlerde üretilen IL-1, IL-6, IL-8 ve TNF- α 'nın üretiminden daha geçtir. İlginç olan IL-10,'un monositler tarafından üretilip yine monositlerden salınan diğer sitokinleri inhibe etmesidir.

IL-10, antiinflamatuvar etkisi nedeniyle otoimmün hastalıkların, akut ve kronik inflamasyonun tedavisinde kullanılabilir. Ayrıca IL-10 allojenik T hücre cevabını inhibe etmesiyle de transplant rejeksiyonunun önlenmesinde yeni bir ajan olarak denenebilir (67).

Yapılan alışmalarda IL-10'un stafilokoklara bağlı gelişen letal şoka karşı sıçanları koruduğu ortaya konmuştur (68).

2.7.3. Miyeloperoksidaz

Miyeloperoksidaz (MPO) fagositik hücrelerde bulunan lizozomal bir enzimdir. Polimorfonükleer lökositlerin azurofil granüllerinde fazla miktarda bulunur. Diğer inflamatuvar hücreler olan monosit ve makrofajlarda çok az miktarda bulunur veya hiç bulunmaz. Bu nedenle nötrofil sekestrasyonunun kantitatif bir göstergesi olarak lmlmesinde kullanılan ve duyarlı bir gösterge oluşturan MPO aktivitesi giderek artan bir popularite kazanmaktadır (69). MPO'n görevi nötrofiller tarafından fagosite edilen ürünlerin yıkımını oluşturan bazı tepkimeleri katalizlemektir (69).

MPO moleküler ağırlığı 140 kDa olan bir kan proteindir. İki ift alt birim içeren tetramer yapıda bir enzimdir. Alt birimlerinden ikisi ağır (55.000–62.000 Da), ikisi de hafif (10.000–15.000 Da) alt birim olarak adlandırılır. Ağır olanların her birine bir prostatik grup bir de karbonhidrat grubu bağlıdır (70). Nötrofiller savunma sisteminin en önemli bakterisidal silahıdır. Bu etkileri Hipoklorik asit (HOCl) retimini katalize etmeleri sonucu ortaya çıkan hidrojen peroksit ve klor iyonundan gelen güçlü bir antioksidan olmalarına bağlıdır. İNFLAMASYON durumunda MPO ekstrasellüler ortama salınır. Bunun lm nötrofil aktivasyonunun bir göstergesi olarak kullanılır. Bir başka deyişle dokulardaki nötrofillerin çokluğunun bir göstergesidir (70).

3. MATERYAL ve METOD

Bu deneysel çalışma Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nde (DEKAM), Ekim 2006-Haziran 2007 tarihleri arasında yapıldı. Çalışma ile ilgili olarak Tıp Fakültesi Etik Kurulunun onayı alındı (Etik kurul onay no: TT-06-38).

Çalışmada ağırlıkları 225–275 gram arasında değişen, 28–32 haftalık 24 adet Spraque–Dawley erkek sıçan kullanıldı. Gruplar randomize olarak her biri 8'er sıçandan oluşan 3 gruba ayrıldı:

Grup 1 (kontrol) = Bu gruptaki deneklere her hangi bir işlem uygulanmadı

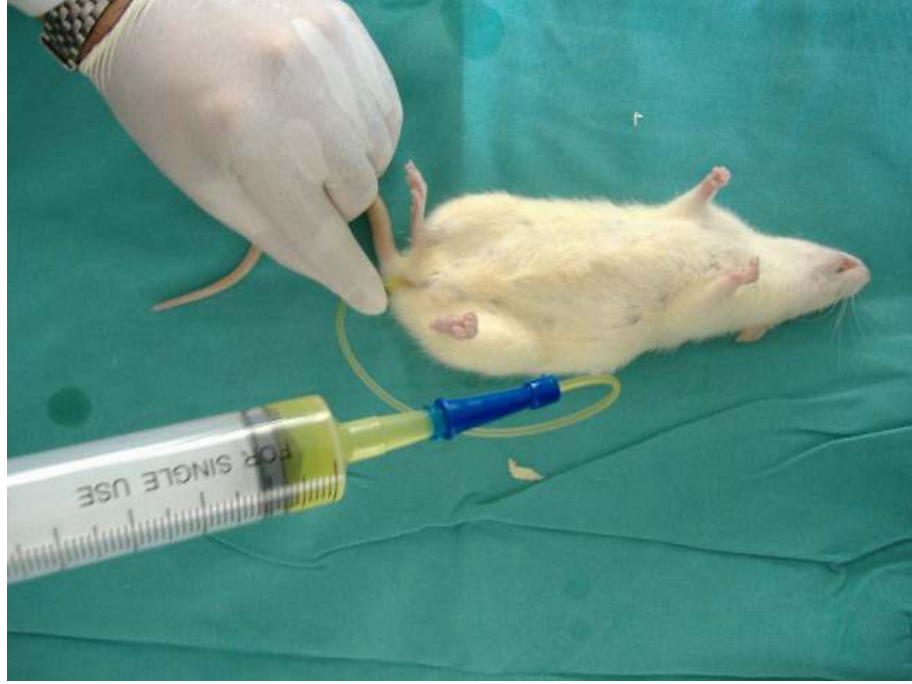
Grup 2 (kolit) = TNBS–E maddesi ile kolit oluşumu tetiklendi ve tedavi verilmedi,

Grup 3 (tedavi) = Kolit tetiklendikten sonra tiyoredoksine 1 uygulandı.

Sıçanlar deneyden 1 hafta önce laboratuvar koşullarına alınarak, 21⁰C'de barındırıldı ve standart rat yemi ile beslendi. Deneylerden önceki gece su serbest olmak üzere 12 saat aç bırakıldı. Bütün cerrahi işlemler sabah 08:00 – 11:00 saatleri arasında yapıldı. Anestezi intraperitoneal 50 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg xylazine ile sağlandı. Deney süresince spontan solunuma bırakıldı. Anestezi sonrası sıçanlar tartılarak ağırlıkları kaydedildi.

Kolit oluşumu Yano ve ark.'ın tarif ettikleri şekilde oluşturuldu (71). Bu metoda göre 3.5 F plastik kanül rektal yoldan 8 cm içeri itildi. Bu kanülden %50 TNBS+%50

etanol (TNBS-E) olacak şekilde 15 mg/0,3 ml/rat TNBS-E kolon içerisine yavaşça instile edilerek kolit tetiklendi. Daha sonra sıçanlar verilen maddenin kaçmasını engellemek için supin pozisyonunda anesteziden çıkana kadar bekletildi (yaklaşık 15 dk.).



Resim-1. TNBS-E Uygulanması

3.1. GRUPLAR

Kontrol grubunda (grup 1) rektal yoldan yapılan kateterizasyonla kolona sadece % 0,9'luk NaCl verildi.

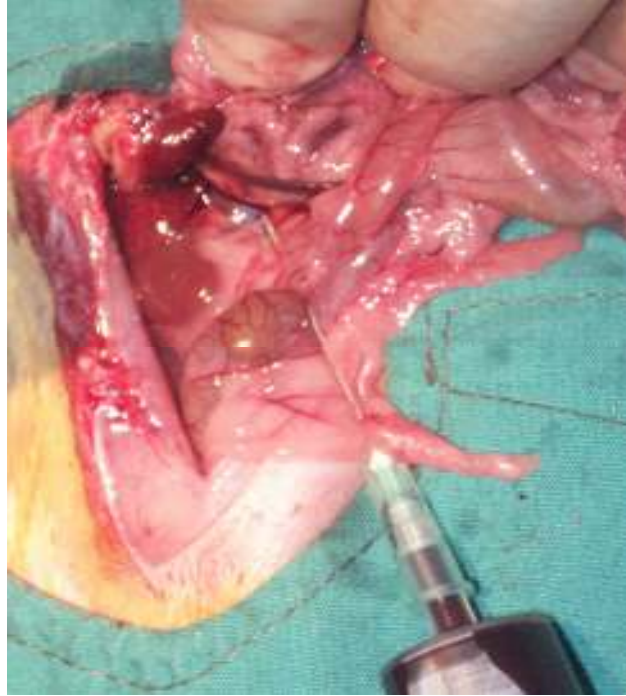
Kolit grubunda (grup 2) kateterizasyon ile 15 mg 2, 4, 6-trinitrobenzene sulphonic acid ile 0.25 ml %30'luk etanolün karışımı (TNBS-E) intrakolonik olarak verilip kolit oluşumu tetiklendi.

Tedavi grubuna ise (grup 3) kateterizasyon ile TNBS-E intrakolonik olarak verilip kolit oluşumu tetiklendikten hemen sonra başlanarak intraperitoneal olarak günaşırı 40 µg/kg tiyoredoksin-1 20 gün boyunca enjekte edildi (18).

Tüm sıçanlar yirmi gün boyunca standart sıçan yemi ile beslendi.

3.2. CERRAHİ İŞLEM

Kolit indüksiyonunun 1. günü ve 10. günü TNF- α , IL1-IL-6 ve IL-10 çalışılmak üzere anestezi uygulanan sıçanlardan intra kardiak olarak 1 cc kan örneği alındı ve 21. günün sonunda İntraperitoneal olarak 50 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg xylazine ile sağlanan anestezi sonrasında sıçanlara orta hat laparotomi yapıldı. Vena kavadan TNF- α ve IL1-IL-6 ve IL-10 çalışılmak üzere yaklaşık 5 cc kan örnekleri alındı (Resim 2). Ardından transvers kolonun ortasından rektuma kadar kolon rezeksiyonu yapıldı.



Resim-2. Vena Kava İnferiordan Kan Alınması

Sıçanlar letal doz tiopental sodyum verilerek sakrifiye edildiler. Kan örnekleri santrifüj edilip -80C'de korundu. Alınan kolon rezeksiyon materyali longitudinal olarak açılıp fekal içerik %0.9 salin ile hafifçe temizlendi ve %10'luk formaldehit içerisinde saklandı.

3.3. MAKROSKOPİK SKORLAMA

Kolonik mukozadaki makroskopik değişiklikler Pedro ve Campos tarafından tarif edildiği gibi 5 farklı şekilde sınıflandırıldı (72). Makroskopik morfoloji skorlamaları Tablo-2’de gösterilmiştir.

Tablo-2: Kolonik mukozadaki makroskopik bulguların sınıflandırılması (72)

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

3.4. MİKROSKOPİK ANALİZ

Mukozanın makroskopik olarak değerlendirilmesinden sonra çıkarılan kolon patolojik değerlendirme ve biyokimyasal çalışmalar için ikiye bölündü. Yarısı dokuda miyeloperoksidaz çalışılmak üzere –80°C’de dondurularak saklandı. Diğer yarısı 6 mm’lik kesitler alınarak % 10 formaldehit içerisinde tespit edildi. Histolojik analizler Yamamoto ve ark tariflediği şekilde yapıldı. Kısaca, parafin bloklar oluşturulduktan alınan kesitler H&E ile boyanıp mikroskop altında incelendi. Kolonik mukozadaki mikroskopik değişiklikler 0–3 değerleri arasında derecelendirildi (73).

Tablo-3: Kolonik mukozadaki mikroskopik bulguların sınıflandırılması (73)

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

3.5. MPO AKTİVİTE ÖLÇÜMÜ

Kolon mukozasındaki miyeloperoksidaz aktivitesi kolon homojenatları oluşturularak Krawisz ve ark'ın tariflediği şekilde ölçüldü (69).

Bu tekniğe göre kolonik mukoza buz soğukluğunda potasyum fosfat buffer ile (PH:6.0) heksadesiltrimetil amonyum bromid içeren çözeltide homojenize edildi. Homojenat 3 kez freeze low döngüsüne tabi tutuldu. 15 dk boyunca 40000 g'de 4 derecede santrifüj edildi. O-Dianisidin-H₂O₂ buffer süpernatanta eklendi ve absorbans değişikliği ($\lambda=460$ nM) 2 dk boyunca ölçüldü. 1 MPO aktivite ünitesi 1 dk'da degrade olan 1 mMol H₂O₂'e karşılık gelmektedir. Sonuçlar gram doku başına enzim aktivite ünitesi (U/g doku) olarak saptanmıştır.

3.6. SERUM TNF- α IL-1, IL-6 VE IL-10 DÜZEYLERİNİN SAPTANMASI

Serum TNF- α , IL-1, IL-6 ve IL-10 düzeyi için kan örnekleri 4000 devir/dakikada 10 dakika santrifüj edilerek serum ayrıştırıldı. Serum örnekleri eppendorf tüplerine konularak analiz gününe kadar -70°C'de saklandı. Serum İL-1, IL-6 ve IL-10 düzeyi pg/ml olarak rat İL-1, IL-6 ve IL-10 Elisa kiti ile saptandı (rat İL-1, IL-6 ve IL-10 Enzyme KRC 0061 Immunometrik Assay Kit, Biosource, Catalog, USA). Serum TNF- α düzeyi pg/ml olarak rat TNF- α Elisa kiti ile saptandı (Rat TNF- α Enzyme Immunometric Assay Kit, Biosource, Catalog KRC 3011, USA).

3.7. MALONDİALDEHİD (MDA) AKTİVİTESİNİN ÖLÇÜMÜ

Rat kolon dokusu MDA tayininde, Okhawa ve arkadaşları tarafından geliştirilen metod kullanıldı (74).

Rat kolon dokusu %10 (w/v) olacak şekilde pH 7.4 fosfat tamponu içinde homojenize edildi. Dokular santrifüj edildi ve süpernatant MDA tespitinde kullanıldı.

Süpernatantlardan 0.1 ml alınarak kapaklı cam tüplere aktarıldı. Üzerlerine sırasıyla %8.1'lik 0.1 ml sodyum dodesil sülfat, 0.75 ml asetik asetik, 0.75 ml tiyobarbitürik asit ve 0.3 ml distile su ilave edilerek vortekslendi. Kapakları sıkıca kapatılan tüpler kaynar su banyosunda 60 dk. süreyle tutuldu. Bu sürenin bitiminde tüpler musluk suyu altında soğutuldu. Soğuyan tüplere 0.5 ml distile su ve 2.5 ml n-butanol-pridin karışımı ilave edilerek iyice vortekslendi. Tüp içerikleri PVC tüplere aktarıldı ve 4°C'de 4000 rpm'de 15 dk. süreyle santrifüj edildi. Tüplerin üst kısmındaki pembe renkli organik fazın absorbansı 532 nm'de distile su ile aynı şekilde çalışılan köre karşı okutuldu. Değerlendirme standart eğri üzerinden yapıldı. Standart seri hazırlamak için stok MDA çözeltisinden 100 nmol/ml yoğunlukda olacak şekilde hazırlandı. Ara stoktan 2.5; 5; 10; 20; 40; 50 nmol/ml yoğunluklarda olacak şekilde tetrametoksipropana karşı MDA üretimi sağlandı. Sonuçta oluşan MDA yoğunlukları dokunun yağ ağırlığının her bir gramındaki nmol cinsinden MDA olarak tariflendi

3.8. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistik değerlendirme; bilgisayar ortamında, Statistical Package for the Social Sciences (SPSS,11.0 version) programında yapıldı. $P<0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. İL-1, MPO ve MDA değişken dağılımları ortalama \pm standart sapma. ($X\pm SD$) olarak tanımlandı. Bu değişkenlerin gruplar arasındaki farkına Anova testi kullanılarak bakıldı. Makroskopik ve mikroskopik değerlendirmede kullanılan veriler medyan (min–max) değerleri ile tanımlandı. IL-6, IL-10, TNF-alfa değişken dağılımları non parametrik olarak saptandı. Bunlara Mann Whitney U ve student T testi kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. MAKROSKOPİK DEĞERLENDİRME SONUÇLARI

Çalışmamızda, TNBS-E ile kolit oluşturulan gruptaki makroskopik skorların hesaplanması sonucunda tedavi grubuna (Tiyoredoksine-1) göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık saptandı ($p<0,05$). Kolit ve tedavi gruplarının makroskopik skor değerleri, kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Tablo-4'te gruplardaki makroskopik skorlar ve grup ortancaları gösterilmiştir. Kolit grubunda belirgin düzeyde oluşmuş olan inflamasyon tedavi grubunda anlamlı şekilde azalmıştır ($p<0,05$).

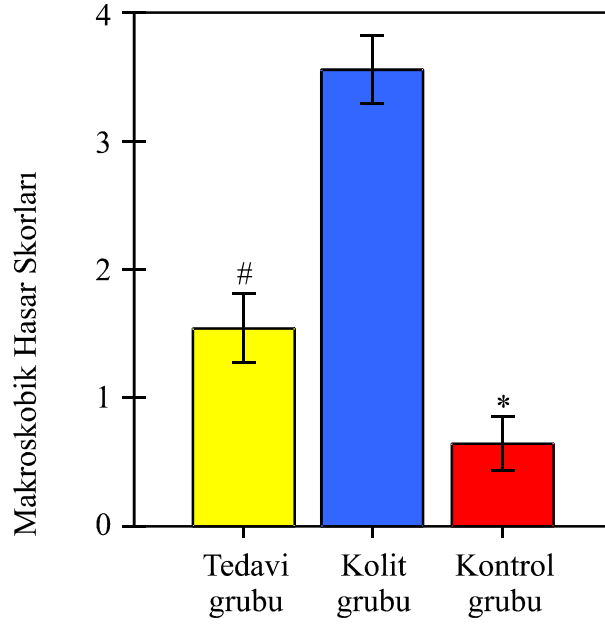
Tablo-4: Gruplara göre makroskopik ve mikroskopik skorlar.

	Tedavi Tiyoredoksine-1 median (aralık)	Kolit median (aralık)	Kontrol median (aralık)	F	p1	p2	p3
Makroskopik skor	1.0. (0-2)	2. (0-3)	0. (0-1)	8	$p<0.05$	$p<0.05$	$p<0.05$
Mikroskopik skor	1.0. (0-2)	2. (1-3)	0. (0-1)	10	$p<0.05$	$p<0.05$	$p<0.05$

p1 : Kolit ve tedavi grubunun karşılaştırılması

p2 : Kontrol ve tedavi grubunun karşılaştırılması

p3 : Kontrol ve kolit grubunun karşılaştırılması



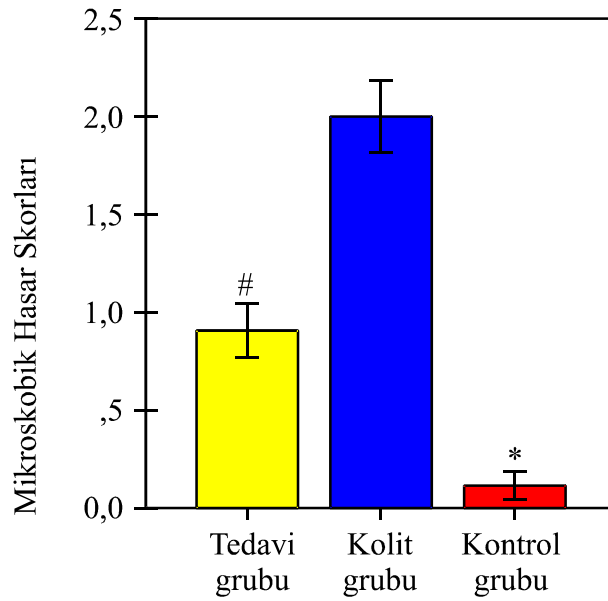
Grafik-1. Gruplara göre makroskopik olarak kolit formasyonu. Değerler mean (ortalama) (\pm SEM) olarak ifade edilmiştir. # $P < 0,05$ kolit grubuna karşı tedavi grubu değeri. * $P < 0,01$ kolit grubuna karşı kontrol grubu değeri ifade edilmektedir.



Resim-3: TNBS-E (kolit) grubunda izlenen inflamasyon ve nekroz görünümü

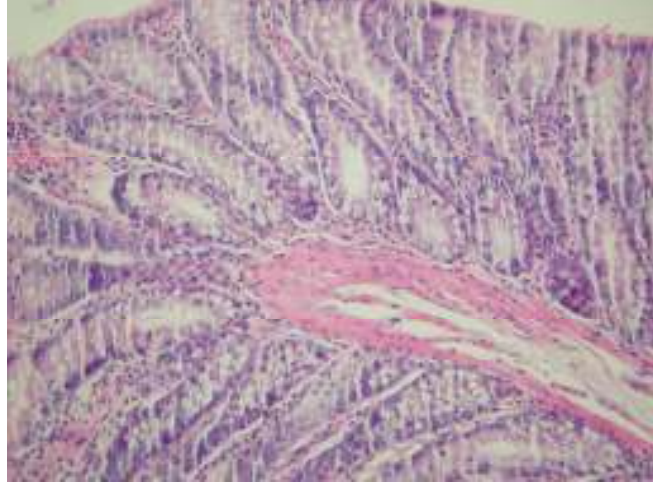
4.2. MİKROSKOPİK DEĞERLENDİRME SONUÇLARI

Kolit grubundaki mikroskopik skorların hesaplanması sonucunda tedavi grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık saptandı ($p < 0,05$). Kolit ve tedavi gruplarının mikroskopik skor değerleri, kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. ($p < 0,05$) Tablo-4'te gruplardaki mikroskopik skorlar ve grup ortancaları gösterilmiştir. Kolit grubunda belirgin düzeyde oluşmuş olan inflamasyon tedavi grubunda anlamlı şekilde azalmıştır ($p < 0,05$).

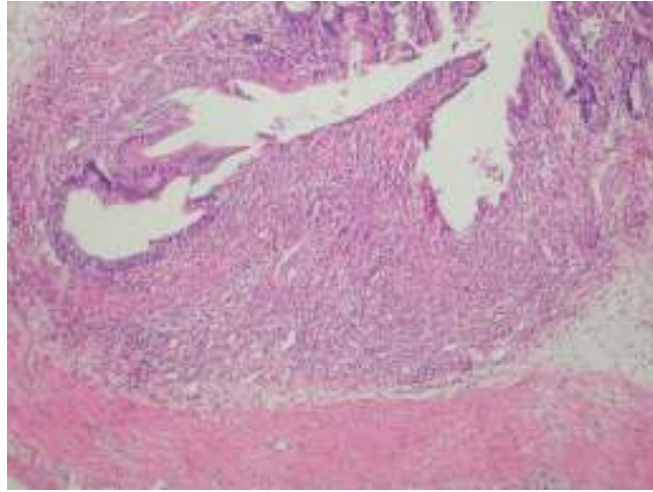


Grafik-2. Gruplara göre mikroskopik olarak kolit formasyonu. Değerler mean (ortalama) (\pm SEM) olarak ifade edilmiştir. # $P < 0,01$ kolit grubuna karşı tedavi grubu değeri. * $P < 0,01$ kolit grubuna karşı kontrol grubu değeri ifade edilmektedir.

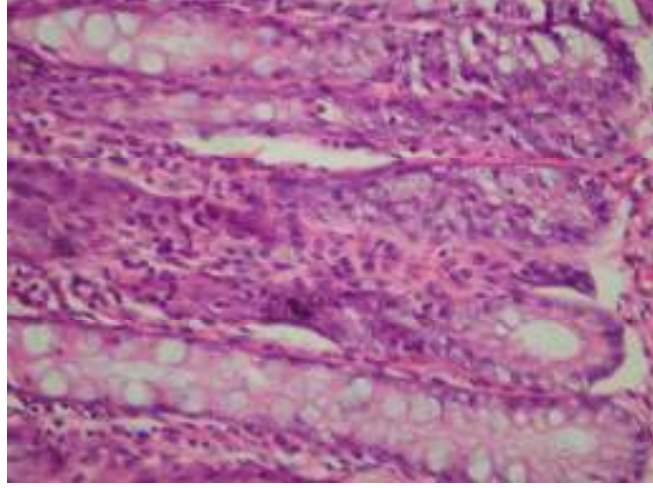
Gruplardan histopatolojik görünüm örnekleri;



Resim-4: Kontrol grubundan normal kolonik epitel görünümü



Resim-5: Kolit grubundan epitel hücre kayıpları, kriptit, erozyon, lenfoid follikül görünümü ve mukozal ülserasyon



Resim-6: Tedavi grubunda epitelyumda orta derecede ödem, hafif inflamasyon görünümü lamina propriada nötrofil infiltrasyonu

4.3. TNF- α SONUÇLARI

Serumda çalışılmış olan TNF- α değerleri karşılaştırıldığında 1. gündeki kan örnekleri incelendiğinde hem kolit hem de tedavi grubunda TNF- α değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü ($p<0,05$) ancak tedavi ile birlikte kolit grubunda 10, ve 21, günlerde hem tedavi hemde kontrol gruplarından belirgin şekilde daha yüksek değerler saptanmıştır ($p<0,01$). Tiyoredoksine-1 verilen grupta TNF- α değerleri kolit grubuna göre belirgin düzeyde azalmıştır ($p<0,01$). Tedavi ve kontrol gruplarında TNF- α düzeyleri 10, ve 21, günlerde istatistiksel olarak farklı değildir ($p>0,05$). (Tablo-5)

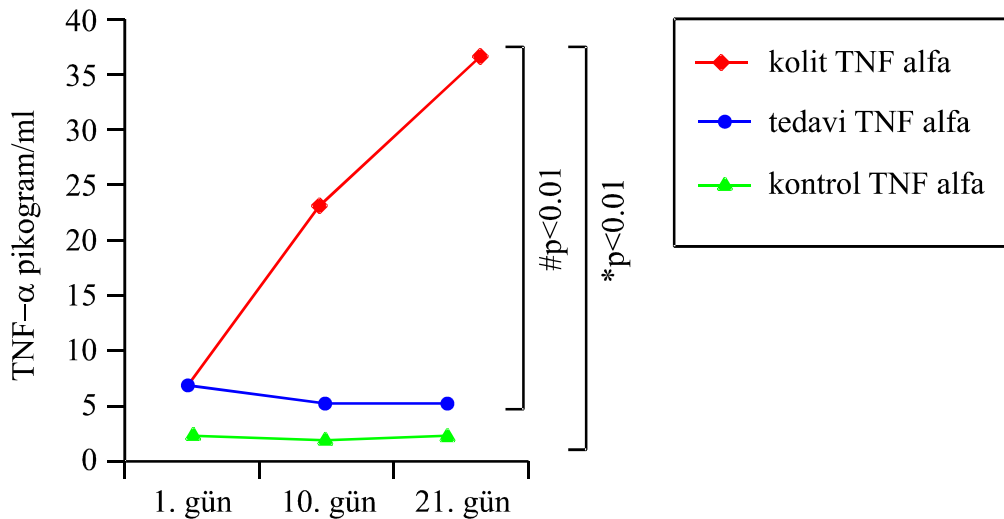
Tablo-5: 1. ve 10. günde alınan örneklere TNF- α sonuçlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi için student T testi uygulandı. 21. günde alınan örneklere TNF- α sonuçlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi için Mann-Whitney U testi uygulandı

Grup	Kolit	Tedavi	Kontrol	P1	P2	P3
TNF- α 1.gün	0,0560	0,0564	0,0414	p>0.05	p<0.05	p<0.05
TNF- α 10.gün	0,0858	0,0452	0,0421	p<0.01	p>0.05	p<0.01
TNF- α 21.gün	35,75	5,75	3,40	p<0.01	p>0.05	p<0.01

p1 : Kolit ve tedavi grubunun TNF- α açısından karşılaştırılması

p2 : Kontrol ve tedavi grubunun TNF- α açısından karşılaştırılması

p3 : Kontrol ve kolit grubunun TNF- α açısından karşılaştırılması



Grafik-3: Gruplara ve zamana göre TNF- α yoğunlukları. #p<0,01 kolit grubuna karşı tedavi grubu değeri. *p<0,01 kolit grubuna karşı kontrol grubu değeri ifade edilmektedir.

4.4. IL-1 SONUÇLARI

IL-1 değerleri karşılaştırıldığında kolit grubunda artmış olan yoğunluk tedavi grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştır ($p < 0,01$). Tedavi ve kontrol grubu değerleri istatistiksel olarak farklı değildir ($p > 0,05$). Ortalama ve standart sapmalarının karşılaştırılması Tablo-8’de gösterilmiştir.

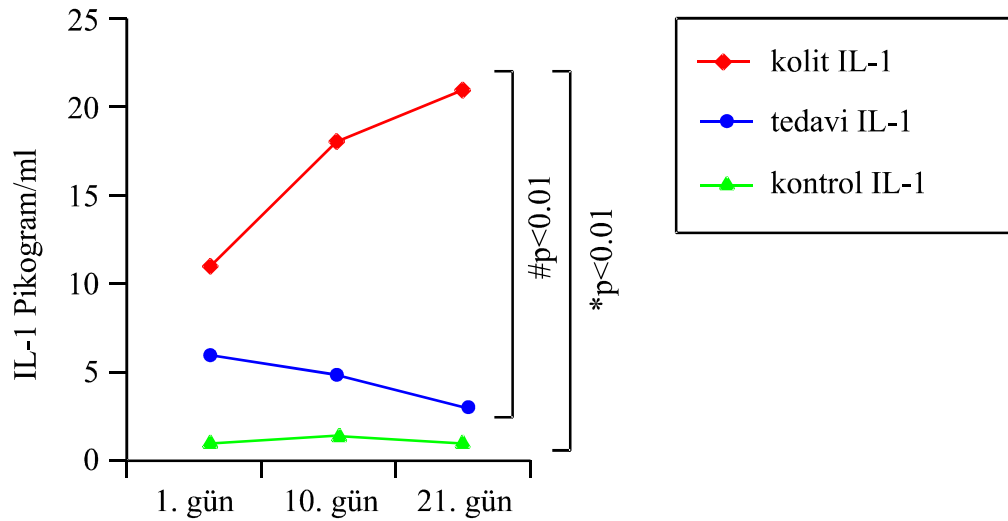
Tablo-6: IL-1 Değerlerinin Gruplara Göre Karşılaştırılması

	TRX (X±SD)	TRX (X±SD)	TRX (X±SD)	Kolit (X±SD)	Kolit (X±SD)	Kolit (X±SD)	Kontrol (X±SD)	Kontrol (X±SD)	Kontrol (X±SD)	P1	P2	P3
	1.gün	10.gün	21.gün	1.gün	10.gün	21.gün	1.gün	10.gün	21.gün			
IL1	5,81 ±1.2	4,14 ±2.1	1,82 ±2.4	10,84 ±4.5	16,75 ±5.4	19,75 ±4.9	0,84 ±2.1	0,92 ±2.4	0,76 ±1.8	p<0.01	p>0.05	p<0.01

p1 : Kolit ve tedavi grubunun karşılaştırılması

p2 : Kontrol ve tedavi grubunun karşılaştırılması

p3 : Kontrol ve kolit grubunun karşılaştırılması



Grafik-4: Gruplara ve zamana göre IL-1 yoğunlukları. #P < 0,01 kolit grubuna karşı tedavi grubu değeri. *P < 0,01 kolit grubuna karşı kontrol grubu değeri ifade edilmektedir.

4.5. IL-6 SONUÇLARI

IL-6 değerleri karşılaştırıldığında kolit ve tedavi grubunda 1. günde artmış olan yoğunluk tedavi grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştır ($p<0,01$). Kolit ve kontrol grubu değerleri istatistiksel olarak farklıdır ($p<0,01$).

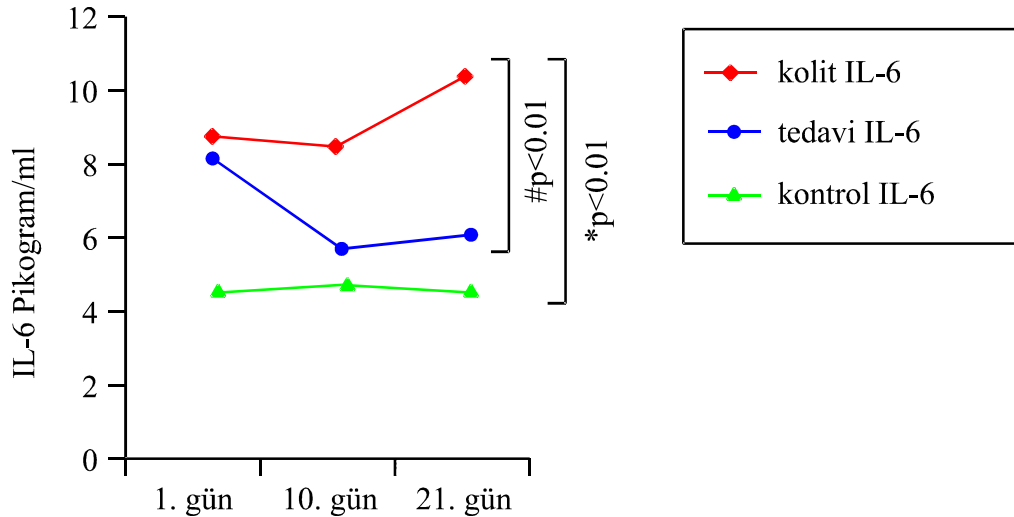
Tablo-7: 1. ve 10. günde alınan örneklerde IL-6 sonuçlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi için student T testi uygulandı. 21. günde alınan örneklere IL -6 sonuçlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi için Mann-Whitney U testi uygulandı

Grup	Kolit	Tedavi	Kontrol	P1	P2	P3
IL-6 1.gün	0,0815	0,0795	0,0456	$p>0,05$	$p<0,01$	$p<0,01$
IL-6 10.gün	0,0739	0,0511	0,0464	$p<0,01$	$p>0,05$	$p<0,01$
IL-6 21.gün	11,75	5,25	4,95	$p<0,01$	$p>0,05$	$p<0,01$

p1 : 1. gün Kolit ve tedavi grubunun IL-6 açısından karşılaştırılması

p2 : 1. gün Kontrol ve tedavi grubunun IL-6 açısından karşılaştırılması

p3 : 1. gün Kontrol ve kolit grubunun IL-6 açısından karşılaştırılması



Grafik-5: Gruplara ve zamana göre IL-6 yoğunlukları. #P < 0,01 kolit grubuna karşı tedavi grubu değeri. *P < 0,01 kolit grubuna karşı kontrol grubu değeri ifade edilmektedir.

4.5. IL-10 SONUÇLARI

IL-10 değerleri karşılaştırıldığında 1.günde her üç grup arasında da anlamlı bir fark tesbit edilemezken 21. günde tedavi grubunda kolit grubuna ve kontrol grubuna göre yoğunluk istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmıştır ($p<0,01$). Kolit ve kontrol grubu değerleri istatistiksel olarak farklı değildir ($p>0,05$).

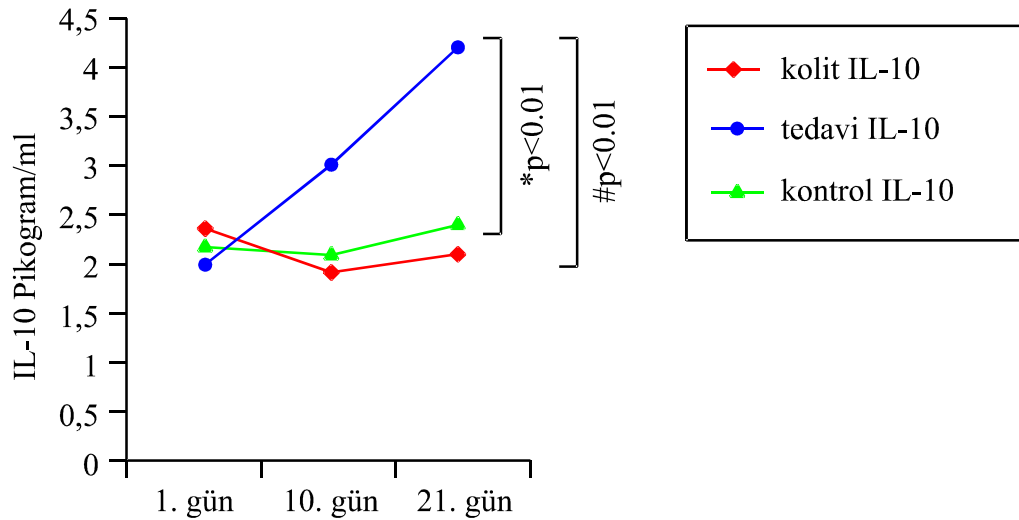
Tablo-8: 1. ve 21.günde alınan örneklere IL-10 sonuçlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi için student T testi uygulandı. 10. günde alınan örneklere IL-10 sonuçlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi için Mann-Whitney U testi uygulandı

Grup	Kolit	Tedavi	Kontrol	P1	P2	P3
IL-10 1.gün	0, 0220	0, 0236	0. 0239	$p>0.05$	$p>0.05$	$p>0.05$
IL-10 10.gün	2.50	3.75	2,75	$p<0.01$	$p<0.01$	$p>0.05$
IL-10 21.gün	0, 0217	0, 0425	0. 0245	$p<0.01$	$p<0.01$	$p>0.05$

p1 : 1. gün Kolit ve tedavi grubunun IL-6 açısından karşılaştırılması

p2 : 1. gün Kontrol ve tedavi grubunun IL-6 açısından karşılaştırılması

p3 : 1. gün Kontrol ve kolit grubunun IL-6 açısından karşılaştırılması



Grafik-6: Gruplara ve zamana göre IL-10 yoğunlukları. #P < 0,01 kolit grubuna karşı tedavi grubu değeri. *P < 0,01 kolit grubuna karşı kontrol grubu değeri ifade edilmektedir.

4.7. MPO SONUÇLARI

Doku düzeyinde çalışılan MPO değerleri karşılaştırıldığında kolit grubundaki miyeloperoksidaz aktivitesi tedavi grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p<0,001$). Tedavi ve kontrol grubu değerleri arasında da istatistiksel olarak fark vardır ($p<0,05$). MPO düzeyleri şekil de gösterilmiştir. Ortalama ve standart sapmalarının karşılaştırılması Tablo-15’da gösterilmiştir.

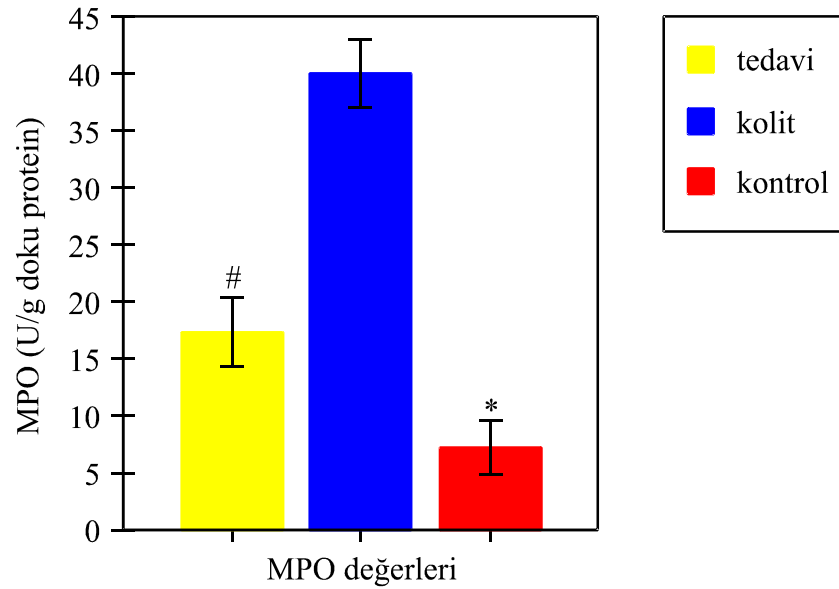
Tablo-9: MDA ve MPO Sonuçlarının Gruplara Göre Karşılaştırılması

	TRX ($X\pm SD$)	Kolit ($X\pm SD$)	Kontrol ($X\pm SD$)	F	P1	P2	P3
MDA	21.03 $\pm 1,1$	41.76 ± 1.9	8,5 ± 0.9	24	$p<0.001$	$p<0.05$	$p<0.001$
MPO	20,8 $\pm 1,1$	44.89 $\pm 2,1$	7,5 ± 1.1	24	$p<0.001$	$p<0.05$	$p<0.001$

p1 : Kolit ve tedavi grubunun karşılaştırılması

p2 : Kontrol ve tedavi grubunun karşılaştırılması

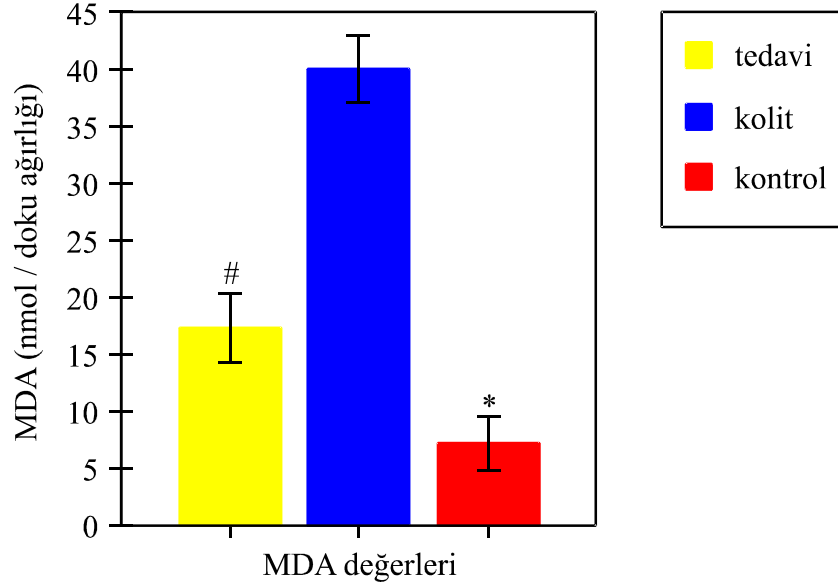
p3 : Kontrol ve kolit grubunun karşılaştırılması



Grafik-7: Gruplara ve zamana göre MPO yoğunlukları. #P < 0,01 kolit grubuna karşı tedavi grubu değeri. *P < 0,01 kolit grubuna karşı kontrol grubu değeri ifade edilmektedir.

4.8. MDA SONUÇLARI

Doku düzeyinde çalışılan MDA değerleri karşılaştırıldığında kolit grubundaki malondialdehit düzeyi tedavi grubuna göre anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır ($p < 0,001$). Tedavi ve kontrol grubu değerleri arasında da istatistiksel olarak fark vardır ($p < 0,05$). MDA düzeyleri şekil de gösterilmiştir. Ortalama ve standart sapmalarının karşılaştırılması Tablo-15’da gösterilmiştir.



Grafik-8. Gruplara ve zamana göre MDA yoğunlukları. # $P < 0,01$ kolit grubuna karşı tedavi grubu değeri. * $P < 0,01$ kolit grubuna karşı kontrol grubu değeri ifade edilmektedir.

5. TARTIŞMA

İnflamatuvar barsak hastalığı, intestinal epitelin bariyer fonksiyonlarının bozulması ve immün sistemdeki defektlere bağı anormal bir cevap sonucu gelişir. Patogeneizde; genetik yatkınlık, çevresel faktörler, enfeksiyöz ajanlar, değışmiş epitelyal geçirgenlik ve bozulmuş konakçı immün cevabı gibi faktörlerin önemi vardır. İnflamatuvar barsak hastalığı günümüzde önemli bir sağılık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır (73)

Klinik anlamda klinisyenin karşısına kalın barsakdaki inflamasyon ile seyreden bir grup hastalık ile gelebilir. Bu grup içinde rektum ve kolon mukozasının yaygın yangısal, etyolojisi kesin olmayan, kanlı diyare ve mukusla karakterize, remisyon ve alevlenmelerle seyreden ÜK , enfeksiyöz ajanlara sekonder olarak gelişen gerek amebik gerekse de bakteriyel orijinli kolit, kolon ile rektum mukoza katmanlarında irritasyona sekonder gelişen kolit gibi tablolar şeklinde karşımıza çıkabilir (74).

Ülkemizde ÜK insidansı $4.4/10^5$ CH'nın ise $2.2/10^5$ tir. Hastalık insidansı Kuzey ve Batı Avrupa'dan az, Ortadoğı değerlerine yakın bir düzeydedir. Ülkemizde İBH insidansının diğıer ÷lkelerden daha düşük olmasının muhtemel nedenleri arasında lifli gıdalardan zengin beslenme ve genetik faktörlerin rolü olduğunu düşün÷lmektedir. Ayrıca CH ile sigara arasında da ilişki saptanmıştır. Kesin etyolojik bir faktörün olmayışı, ve İBH'nı tam olarak taklit eden bir deneysel model olmayışı İBH patogenezinin anlaşılmasını zorlaştırmaktadır (74). Birkaç potansiyel sorumlu etkenin, inflamatuvar proçesin başlamasında etkili olduğı düşün÷l÷yorsa da; kabul edilen görüşe

göre immün olayların baskılanmasında bir eksiklik vardır. Dolayısıyla temel fizyopatolojik mekanizmanın; Th1 ve Th2 lenfositlerinin aktivasyonunda düzensizlik ya da proinflamatuvar sitokinler ile antiinflamatuvar sitokinler arasındaki dengenin bozulması olduğu yönünde çok sayıda çalışma yapılmıştır. Th1 hücreleri inflamatuvar yanıtta fazla miktarda artan ve bu yanıtın devamlılığını sağlayan sitokinleri (TNF- α , IL-1, IL -2, IL-6, IL -8, IL -12, INF- γ) üretirken (64). Th2 hücreleri ise inflamasyonu azaltan sitokinleri (IL-4, IL-10, IL-11, IL -13) üretirler. Bunlardan proinflamatuvar sitokinler inflamasyonu alevlendirir. Anti-inflamatuvar sitokinler ise inflamasyonu yatıştırır. Bu düşünce ile proinflamatuvar sitokinlerin etkisini yok edecek ya da azaltacak tedaviler üzerinde çalışılmaktadır (65).

Barsak Hastalığı araştırmalarında kullanılacak bir hayvan modelinde barsakta benzer morfolojik değişiklikler ortaya çıkmalı, patofizyoloji ile klinik semptom ve bulgular insandaki İBH'na benzer olmalıdır. Ayrıca kullanılan hayvanların genetik geçmişleri ve immünolojik sistemleri ile kullanılacak kimyasal maddelerin etkileri iyi tanımlanmış olmalıdır. Trinitro-benzen sülfonik asid (TNBS) ile oluşturulan kolit modeli haptan ile tetiklenmiş gecikmiş tip hipersensitivite sonrası oluşan kronik bir inflamasyon ve ülserasyon modelidir. Ülserasyon ve barsak duvarında kalınlaşma yaklaşık 8 hafta kadar devam ettiğinden bu model kronik kolit oluşması istendiğinde tercih edilmektedir. Histolojik olarak mukoza ve submukozada PMNL, makrofaj, lenfosit, bağ dokusu mast hücreleri ve fibroblastlardan oluşmuş inflamatuvar cevap mevcuttur (75,76) .

Bu kolit modelinde oluşan granülosit infiltrasyonu dokuda myeloperoksidaz ölçümü ile ortaya konabilir (77). Yapılmış bir çalışmada etonolde çözünmüş TNBS ile oluşturulmuş kolitteki mukozal lezyonlar anüler ya da longitudinal ülserler, lenfosit infiltrasyonu, granülomlardan oluştuğundan bu modelin insandaki CH'nın makroskopik ve mikroskopik bulgularına benzer olduğu tespit edilmiştir (78).

Biz de, çalışmamızda kronik inflamasyon oluşması, çalışma sonuna kadar spontan remisyon gelişmemesi, patogenezin benzer olması, histopatolojik ve klinik bulguların benzerlik göstermesi nedeni ile TNBS ile oluşturulmuş kolit modelini tercih ettik.

Ohashi ve ark. yaptıkları bir çalışmada şiddetli akut pankreatit oluşturulmuş sıçanlara intraperitoneal TRX injeksiyonu sonrası pankreas, akciğer dokularında ve serumda MDA, MPO, IL-1, IL-6 ve TNF- α düzeylerini incelemişler ve tedavi alan grupta bu değerlerin anlamlı olarak azaldığını görmüşler (79). Biz bu çalışmayı temel olarak proinflatuar sitokinlerin üretimini azaltacak bir ajanın kullanımının kolit sürecini baskılayacağını düşündük. Bu nedenle TRX'i kolit oluşturulmuş sıçanlarda kullandık. Çalışmada kullanılan TRX'in proinflatuar sitokinler üzerine olan etkisini değerlendirmek için TNF- α , IL-1 ve IL-6 düzeylerine baktık. Deney süresinin uzun olmasından dolayı da 1. ve 10. günlerde de deneklerden serum örnekleri alındı.

Çalışma süresince TNF- α seviyelerini incelediğimizde kolit grubunda değerlerin arttığını, tedavi edilen deneklerde ise sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olacak seviyede azaldığını saptadık ($p < 0.01$)(Tablo:5).

Funakoshi ve ark'nın çalışmasında ise; kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, CH ve ÜK'li hastalarda IL-1 β , IL-6, IL-8 ve TNF- α mRNA'nın artmış ekspresyonunu gösterilmiştir (80). Benzer bir çalışmada; Masuda ve ark. inaktif ÜK'te bile IL-8, TNF- α ve IFN- γ mRNA'nın artmış üretiminin olduğunu ve bu üç sitokinin ÜK'in tekrarlayan inflamasyon patogenezinde önemli bir rol oynadığını tespit etmişler (81).

TNF- α 'nın inflamasyonda önemli rol oynadığının gösterilmesinden sonra bu molekülün etkisini önleme çalışmaları hızlanmış ve bu amaçla bir çok tedavi modaliteleri geliştirilmiştir. TNF- α nötrofil birikiminde, granülom oluşumunun indüksiyonunda, adezyon moleküllerinin endotel hücrelerine etkilerinde ve intestinal permeabilite artışında etken olan bir maddedir. Klinik çalışmalarda serum TNF- α seviyeleri ve gaitadaki TNF- α seviyeleri CH olan bireylerde normale göre artmış olarak bulunmuştur (80).

Küçük ve ark. deneysel TNBS-E kolitinde oluşan bakteriyel translokasyona karşı metranes tedavisini incelemişlerdir. TNF- α seviyelerinin inflamasyonunun artışına paralel olarak yükseldiğini saptamışlardır. Met-RANTES tedavisinin serum TNF- α seviyelerini ve bakteriyel translokasyonu azalttığını bildirmişlerdir. Ayrıca deneysel kolit üzerine RANTES antagonistinin tedavi edici etkisinin kemokin reseptörlerine karşı olan antagonistlerin potansiyel olarak İBH tedavisinde ufuk açabileceğini ifade etmişlerdir (83).

Bir kimyasal antikör olan infliksimab'ın (monoklonal TNF- α Ig-G antikoru) İBH'nın tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir. Bu kimyasal monoklonal antikörün etki mekanizması tam olarak anlaşılammışsa da, çözülmüş halde bulunan TNF'ye bağlanma yanında, esas etkisini öncü hücre yüzey TNF reseptörüne bağlanarak yaptığı düşünülmektedir. İlacın bir ihtimalle monosit apoptozuna da neden olduğu düşünülmektedir. Tek bir iv enjeksiyondan sonra, tam klinik iyileşme sağlanan CH vakaları bildirilmiştir. İyileşme süreleri birkaç hafta ile birkaç ay arasında değişmiştir. Doz ve uygulama süreleri ile ilgili veriler yeterli olmayıp, araştırmalar devam etmektedir. 10 mg/kg dozla yapılan aralıklı uygulamalarla iyileşmenin sürdürüldüğü bildirilmiştir. Bir başka çalışmada ise hastaların önemli bir kısmında fistüllerin kapandığı gösterilmiştir. Crohn hastalığının aksine ÜK tedavisinde anti-TNF ile yapılan tedaviler yüz güldürücü olmamıştır. İki önemli çalışmada infliksimab'ın İBH'da etkili olduğu gösterilmiştir. İlacın 5 mg/kg lık dozları 5-ASA, steroid ve diğer immünsüpresif ilaçlara dirençli olgularda etkili olduğu bulunmuştur (84,85). Başka anti-TNF stratejiler de vardır. Bunlardan biri, RA tedavisinde kullanılan TNF reseptör füzyon proteinleridir. Fakat bunların İBH'daki rolleri henüz açık değildir. Bazı pilot çalışmalarda TNF salınım inhibitörü özelliği olan talidomid'in CH'da faydalı olduğu bulunmuştur (86).

TNF inhibitörü olan pentoksifilin'in de ÜK ve CH'da faydalı olabildiği bildirilmiştir. Anti-TNF stratejilerinin dikkatli uygulanması gerekmektedir. Zira, malign transformasyonların gelişmesi ve şiddetli infeksiyon riski vardır (87).

Kimyasal antikörlerin uzun süreli kullanımı tartışmalıdır, çünkü antikörün fare kaynaklı bölümüne karşı antikör oluşma şansı çok yüksektir. Bu yüzden TNF- α üzerinde çeşitli değişiklikler yapılmaya çalışılmaktadır. Bunlardan biri, TNF- α 'nın ekspresyonunun regülasyonunda önemli olan bir nükleer transkripsiyon faktörü olan NFkB'dir. Bu faktörün blokajının deneysel kolitin tedavisinde etkili olduğu bulunmuştur. Göz önünde bulundurulması gereken bir diğer nokta da TRX'in NFkB üzerine olan etkisidir. NFkB immünite ve inflamasyonda gen regülasyonunda rol alan bir transkripsiyon faktörüdür. TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerle stimüle olur ve intraselüler bir sinyal yolağını başlatır. Bunun sonucunda da fosforilasyon ve degradasyon meydana gelir. Sonuç olarak hücre çekirdeğinde COX2, sitokinler, kemokinler, hücre yüzey reseptörleri ve adezyon molekülleri gibi öncü immün ve

inflatuar maddelerin oluşumuna neden olur. İBH'da NFkB aktivitesinin ve TNF α 'nın kolon epitelyum hücresinde ve mukozada arttığı tesbit edilmiştir (88). TRX'in kolit tablosunda meydana gelen iyileştirici etkisinde NFkB aktivitesini de baskılamasının etkisi olduğunu düşünüyoruz.

IL-1 ve IL-6'nın da kolitli hastalarda ve deneysel çalışmalarda yapılan çeşitli çalışmalarda arttığı gösterilmiştir. Funakoshi ve ark. yaptıkları başka bir çalışmada; kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, Crohn'lu ve ÜK'li hastalarda IL-1 β , IL-6, IL-8 ve TNF- α mRNA'nın artmış ekspresyonunu net olarak göstermişlerdir (87).

Jones ve ark. İBH olan kişilerde bakılan kolonik biyopsi örneklerinde IL-6 kolit grubuna göre belirgin olarak yüksek bulmuşlardır (90). Yine benzer bir çalışmada IL-6 mRNA'nın İBH'lı hastaların mukoza homojenizatlarında arttığı gösterilmiştir (91).

Deneysel olarak sıçanlarda oluşturulmuş kolit modelinde proinflamatuvar etkileri bilinen TNF- α , IL-1, IL-2, IL-8, IL-12 serum seviyelerinin patolojik oranda arttığı gösterilmiştir. Öte yandan bu deneklerde inflamasyonu yatıştırıcı özellikteki IL-10, IL-1, IL-4, IL-13 gibi sitokinlerin istatistiksel olarak anlamlı seviyede azaldığı da bu çalışmada kanıtlanmıştır (92).

Çalışmamızda kolit sürecini ve verilen tedavinin etkinliğini değerlendirmek için IL-1 ve IL-6 değerleri bakıldı. IL-1 ve IL-6 seviyeleri 1. günde tedavi ve kolit grubunda yüksekken tedavi ile birlikte 10. ve 21. günde kolit grubunda IL-1 ve IL-6 seviyelerinde progresif bir yükselme görülürken tedavi grubunda kontrol grubuna göre başlangıçta anlamlı derecede yüksek olan değerlerin düştüğü görüldü. Tesbit edilen sonuçların literatürle uyumlu olduğunu gördük. Kolit sürecinin baskılanmasında proinflamatuvar ajanlardaki bu azalmanın etkisinin olduğunu yapılmış çeşitli çalışmalara ve çalışmamızın sonuçlarına dayanarak düşündük.

Murata ve ark.; IL-10'nun artmış üretimi tarafından baskılanan, IL-6 ve IL-8 gibi proinflamatuvar sitokinlerin artmış üretimi ve IL-2 ile IFN- γ 'nın azalmış üretiminin, ÜK'in patogeneğinde önemli bir rol aldığını göstermişlerdir (26).

Antiinflamatuvar bir sitokin olan IL-10, Th1 hücre aktivasyonunu azalttığından, bu sitokinin tedavide kullanılması ile ilgili çalışmalar devam etmektedir. IL-10'un antiinflamatuvar ve immünsüpresif etkisinden yola çıkılarak çalışmalarda bu sitokinin

ÜK'li vakalarda etkisi olduğu gözlenmiştir (93). Biz de bu bulgulardan yola çıkarak çalışmamızda IL-10 düzeylerini, TRX'in tedavi edilen deneklerde IL-10 üzerine olan etkilerini inceledik. Sonuçta kolit grubunda IL-10 değerleri literatürle uyumlu olarak azalmış olarak bulundu. TRX verilen grupta ise IL-10 düzeyleri anlamlı olarak artmış olarak bulundu ($p < 0.01$). Sonuç olarak TRX'in hem proinflamatuvar sitokinleri azalttığı hem de antiinflamatuvar sitokinlerin seviyelerini artırdığı görüldü. Bu sayede antiinflamatuvar etkisinin daha güçlü bir şekilde ortaya çıktığını düşündük.

Buraya kadar sürekli olarak TRX'in proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinlere olan etkilerinden ve bunların engellenerek kolit sürecinin baskılanmasından bahsettik. Burada üzerinde durulması gereken diğer bir noktada TRX'in antioksidan etkisidir. İlk olarak E. Coli'de tanımlanan TRX 1 in vivo ve invitro ortamda en etkili disülfid bağı indirgeni olarak bulunmuştur. Aktif bölgesi olan Cys-Gly-Pro-Cys'in sistein rezidülerinin reversibl oksidasyonu ile çeşitli farklı indirgenme olaylarında rol alırlar yine bu aktif bölgesi sayesinde tamamen zıt reaksiyonları gerçekleştirebilirler; örneğin disülfid bağlarının redüksiyonu veya sistein tiollerinin oksidasyonu. H_2O_2 'nin ortadan kaldırılmasını metionin sülfoksit redüktaz veya peroksiredoksinlerin bir çok izoformu ile birleşerek gerçekleştirir (31)

Liu ve ark.'nın yaptıkları çalışmada plazma TRX'in oksidatif stres yanıtında iyi bir medyatör olduğu ve değişik inflamatuvar , immün ve otoimmün patolojilerde ve HIV, HCV, ve RA'da plazma TRX seviyelerinin arttığı gösterilmiştir. Son zamanlarda dolaşımdaki TRX'in LPS ve kemokinlerle tetiklenen nötrofil kemotaksisini engelediği gösterilmiştir. Bu da TRX'in patojensiz ancak lokosit infiltrasyonu ile birlikte seyreden bozukluklarda antiinflamatuvar etkisinin olduğunu göstermiştir. Bu bulgular TRX'in otoimmün bozukluklarda kullanılabileceğini düşündürmektedir (18).

Serbest oksijen radikalleri, nötrofillerden ve makrofajlardan salınan ve inflamasyonun erken evresinde etkisini gösteren moleküllerdir. Serbest radikaller; DNA, proteinler ve lipidleri hedef seçerler. Membran lipidlerine saldırarak peroksidasyona neden olup membranlarda hasara yol açmakta, bu da mikrovasküler ödem oluşumunu artırmaktadır. Son yıllarda lökosit bağımlı inflamatuvar reaksiyonlarda artmış hücre ve doku hasarında oksijen derivesi serbest radikallerin ve metabolitlerinin rol aldığı gösterilmiştir. Bir çok dokuda bu radikallerin sekonder hasarlara neden

oldukları gösterilmiştir (94). Yapılan bir çalışmada, sıçanlarda deneysel endometriozis modeli oluşturulmuş ve endometrioziste meydana gelen doku reaksiyonu ve adezyon gelişiminde serbest oksijen radikallerinin önemli rolü olduğu görülmüştür (95). Bu bilgi ışığında yapılan bir başka çalışmada, deneysel endometriozis oluşturulan ratlara antioksidan etkili olan süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz intraperitoneal olarak uygulandığında adezyon gelişiminde anlamlı derecede azalma olduğu görülmüştür (96).

İBH'da O_2^- , hidroksil radikali (OH^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hipoklorik asit ($HOCl$) gibi ROM'lerinin çok fazla üretildikleri ve izlenen inflamasyonun ve doku hasarının etiopatogenezinde önemli rol oynadığını gösteren çok sayıda yayın vardır. Yamada ve ark.'nın (95) yaptığı bir çalışmada TNBS verilmesini takiben 1-2 gün içinde kolonik myeloperoksidaz aktivitesinde (MPO), doku ağırlığında, mukozal ülserasyonda ve inflamasyonda artışın ortaya çıktığı gösterilmiştir. Gue ve ark. (96) yaptığı bir çalışmada TNBS verilmesini takiben belirgin bir inflamasyona ilaveten MPO aktivitesinin belirgin oranda arttığı gösterilmiştir. Eliakim ve ark. (97) yaptıkları bir çalışmada asetik asit veya TNBS ile kolit oluşturulan sıçanlarda MPO aktivitesinin arttığını göstermişlerdir.

Serbest oksijen radikallerinin en önemli kaynaklarından birisi inflame mukozadaki aktive olmuş fagositik lökositlerdir (98). Bir ROM olan süperoksit radikali aktive olmuş nötrofiller tarafından üretilmektedir. Ülseratif kolit hastalarında süperoksit üretiminin epitel hücrelerinde, vasküler endotelde ve mononükleer hücrelerde yer aldığı gösterilmiştir (99). Sonuç olarak ortaya çıkan oksidatif stres endojen antioksidan sistemlerin kapasitelerini aştığında doku hasarına neden olabilmektedir (100).

İBH tedavisinde antioksidan tedavinin etkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (40,41). Keshavarzian ve grubunun (101) yaptığı bir çalışmada sıçanlarda intrakolonik asetik asit enjeksiyonu ve sistemik mitomisin C verilerek kolit oluşturulmuştur. İnflamasyon oluşmuş kolondan alınan mukozal kazıntılara katalaz ve azid (myeloperoksidaz inhibitörü) uygulanmıştır. Lüminol probuyla yapılan kemiluminisans ölçümlerinde tedavi verilen grupta inflamasyonda belirgin bir azalma saptanmıştır (101). Asetik asit ile kolit oluşturulmasını takiben alınan kolonik biyopsiler üzerinde çeşitli antioksidan ajanlar (sodyum azid, katalaz, bakır-çinko süperoksit dismutaz, dimetil sülfoksit, N-asetil-sistein ve askorbat) denenmiş ve bu ajanların

artmış kemilüminisans yanıtını azalttığı gösterilmiştir. Fakat bu çalışmaların tamamında anti-oksidanların etkileri kolonik biyopsi örnekleri üzerinde in vitro olarak denenmiştir (102).

Emerit ve ark. (103) yaptıkları bir çalışmada ileri evre CH olan hastalara intramüsküler olarak bakır-çinko-süperoksit dismutazı (S-CuZn-SOD) vererek bunu kullanışlı bir antiinflamatuvar ajan olabileceğini göstermişlerdir. Yirmialtı hastadan oluşan bu grupta inflamasyonda ve mukozal hasarda azalmaların görüldüğü saptanmıştır. Aynı çalışmanın devamında, sekiz yıl süre ile kortikosteroid tedavisi başarısız olan hastalarda S-CuZn-SOD tedavisi incelenmiş ve sonuç olarak hastaların % 81'inde etkili olduğu gösterilmiştir. Bir diğer çalışmada ise radyasyon enteritli ve CH olan hastalara lipozom ile kaplanmış S-CuZn-SOD verilmiştir. CH olanlarda bu ajanın lokal uygulanmasını takiben piyoderma gangrenoza lezyonlarında ve vulvar ülserasyonlarda gerileme olmuştur. SOD ile yapılan diğer çalışmalar genelde küçük gruplardan oluşmakta ve tedavide etkili olabileceğini göstermektedir. SOD'a benzer etkileri olan Desferol-Mn ile zayıflatılmış, FMLP ve WR2721 (5,2,3-aminopilamino-etil-fosforatioik asit) gibi ajanlar üzerinde de çalışmalar yapılmaktadır (101).

Biz Liu (18) ve Ohashi'nin (77) çalışmalarını dayanak noktası oluşturarak kolitte antiinflamatuvar etkisinin yanında antioksidan etkisi de olan TRX'i kullandık. Çalışmamızda TRX'in antioksidan etkisini göstermek için doku düzeyinde Ohashi'nin çalışmasındaki gibi MDA düzeyine bakıldı. MDA lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve kolit sürecinde atak anlarındaki oksidatif stres esnasında belirgin şekilde artmaktadır. Bu molekülün ortamdaki miktarı, lipid peroksidasyon derecesinin bir ölçüsü olarak kabul edilir. MDA ile çeşitli moleküller arasında çapraz bağlar oluşabilir. Bu çapraz bağlar sitotoksisiteye, mutajenlere, membran yıkımına ve enzim değişikliklerine yol açabilir MDA düzeyi serbest radikal miktarını değil, net oksidatif hasarı yansıtır (100). Çalışmamızda kolit oluşturulan sıçanlarda MDA düzeylerinde artış olurken tedavi grubunda MDA seviyesinde azalma olmuştur. Benzer sonuçlar Shioji ve Kaimul tarafından da bulunmuştur. Shioji ve ark. yaptıkları çalışmada, adriamisin kardiyotoksik etkisinin engellenmesi için TRX'i kullanmışlar, tedavi sonrasında kardiyotoksisitede azalma olduğunu görmüşler ve TRX'in bu etkisini ortaya çıkan oksidan ajanları ortadan kaldırarak yaptığını öne sürmüşlerdir(104). Kaimul ve ark. ise dizel eksozuna maruz bırakılan sıçanlarda serbest oksijen radikalleri sonucu meydana

gelen akciğer hasarını engellemek için TRX kullanmışlar ve TRX'in antioksidan ve sitoprotektif etkileri sayesinde AC hasarını engellediğini göstermişlerdir (105).

Bu sonuçlardan yola çıkarak da TRX'in doku hasarını oluşturan sitokinleri engellemesinin yanında doku düzeyinde ortaya çıkan serbest radikalleri ortadan kaldırmak suretiyle de ortaya çıkan doku hasarını azalttığını düşündük.

Bilindiği gibi MPO dokudaki nötrofil infiltrasyonunu göstermek için daha önce bir çok çalışmada kullanılmış bir parametredir. İnflamasyonun şiddetiyle orantılı olarak dokuda yüksek düzeylerde saptanır (105). Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak MPO düzeylerinde kolit oluşturulan sıçanlarda yüksek olarak tesbit edilmişken tedavi alan hayvanlarda anlamlı oranda düşük tesbit edilmiştir ($p<0.001$). Kontrol grubuyla tedavi grubu arasında fark saptanamadı ($P>0,05$). Bu sonuçla da inflame barsağa olan nötrofil göçünü verilen TRX'1'in azalttığını, bunun sonucunda da nötrofillerden salınan inflamatuvar ürünlerin ortamda daha az nötrofil olduğu için doğal olarak daha az salgılanacağı sonucunu çıkarabiliriz.

Bizim çalışmamızda verilen TNBS-E ile sıçanlarda makroskopik ve mikroskopik düzeyde belirgin kolit formasyonunun olduğu, IL-1,IL-6, TNF- α ,düzeylerinde belirgin artış olmuştur. Yine MPO ve MDA düzeylerinde de belirgin artış görülmüştür. Bununla birlikte tedavi verilen grupta ise IL-1,IL-6, TNF- α MDA ve MPO düzeylerinde belirgin azalma olduğu görülmüştür. Doku düzeyinde ise hem makroskopik hem de mikroskobik düzeyde anlamlı derecede inflamasyonun azaldığı tesbit edilmiştir. Sonuç olarak ortaya çıkan mukozal hasar ve inflamasyon sürecinde, TRX'in antiinflamatuvar ve antioksidatif sisteme katkıda bulunduğu ve kolit gelişimini engellediği görülmüştür. Çalışmamızda ortaya çıkan sonuçlardan ve yapılmış olan çalışmalarda TRX'in inflamatuvar hastalıklarda özellikle de sebebi belli olmayan ve inflamasyonla seyreden hastalıklarda tedavide oldukça etkili bir ajan olduğu görülmektedir. Ancak bu tedavi modalitesinin klinik çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

6. SONUÇLAR

Deneyisel olarak TNBS-E ile oluşturulan kolit modelinde araştırılan Tiyoredoksine-1'in etkileri incelenmiş ve aşağıdaki sonuçlar ortaya konmuştur.

1. TNBS-E ile deneyisel olarak anlamlı şekilde kolit oluşumu sağlanmıştır.

2. Tiyoredoksine-1 verilen tedavi grubunda makroskopik skorlar ve histopatolojik görünüm açısından belirgin bir iyileşme saptanmıştır ($p<0.05$).

Kolit grubunda artan IL1 düzeyleri de tedavi grubunda anlamlı düzeyde azalmıştır ($p<0.01$).

Kolit grubunda artan IL-6 düzeyleri de tedavi grubunda anlamlı düzeyde azalmıştır ($p<0.01$).

Kolit grubunda artan TNF- α düzeyleri de tedavi grubunda anlamlı düzeyde azalmıştır ($p<0.01$).

Kolit grubunda azalan IL10 düzeyleri de tedavi grubunda anlamlı düzeyde artmıştır($p<0.01$).

Kolit grubunda artan MPO seviyeleri de tedavi grubunda anlamlı düzeyde azalmıştır ($p<0.001$).

Kolit grubunda artan MDA seviyeleri de tedavi grubunda anlamlı düzeyde azalmıştır ($p<0.001$).

Sonuçlar ışığında Tiyoredoksine-1 daha ileri deneyisel ve klinik çalışmalar ile desteklenerek İBH tedavisinde alternatif bir yaklaşım olabilir.

KAYNAKLAR

1. Sharon P, Stenson WF. Enhanced synthesis of leukotriene B₄ by colonic mucosal inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1984; 86: 453–60.
2. Elson CO, Kagnoff MF, Fiocchi C, Befus AD, Targan S. Intestinal immunity and inflammation: recent progress. *Gastroenterology* 1986; 91: 746-768.
3. Fiocchi C. Immune events associated with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 1990; 172: 4-12.
4. Verspaget HW, Mulder TPJ, Van Der Sluys Veer A, Pena AS, Lamers CBHW. Reactive Oxygen Metabolites and Colitis; A Disturbed Balance between Damage and Protection. A selective Review. *Scand J Gastroenterol* 1991; 188: 44-51.
5. Weiss SJ. Tissue destruction by neutrophils. *N Eng J Med* 1989; 320: 365-376.
6. Parks D, Buckley G, Granger N. Role of oxygen-derived free radicals in digestive tract disease. *Surgery* 1983; 94: 415-422.
7. Craven RA, Pfanstiel J, DeRubertis FR. Role of reactive oxygen in bile salt stimulation of colonic epithelial proliferation. *J Clin Invest* 1986; 77: 850-859.
8. Auroma OL, Wasil M, Halliwell B, Hoey BM, Butler J. The scavenging of oxidants by sulfasalazine and its metabolites: a possible contribution to their anti-inflammatory effects. *Biochem Pharmacol* 1987; 36: 3739-3742.
9. Williams JG, Hallett MB. Effect of sulfasalazine and its active metabolites, 5-amino-salicylic acid, on toxic oxygen metabolite production by neutrophils. *Gut* 1989; 30: 1581-1587.
10. Repine JE, Eaton JW, Anders MW, Hoidal JR, Fox RB. Generation of hydroxyl radical by enzymes, chemicals and human phagocytes in vitro. Detection with the antiinflammatory agent dimethyl sulphoxide. *J Clin Invest* 1979; 64: 1642-1651.
11. Grisham MB, Granger DN. Neutrophil-mediated mucosal injury. Role of reactive oxygen metabolites. *Dig Dis Sci* 1988; 33: 6-15.

12. Keshavarzian A, Seghdi A, Kanofsky J et al. Excessive production of reactive oxygen metabolites by inflamed colon: Analysis by chemiluminescence probe. *Gastroenterology* 1992; 103: 177-185
13. Simmonds NJ, Alien RE, Stevens TRJ, Van Someren RNM, Blake DR, Rampton DS. Chemiluminescence assay of mucosal reactive oxygen metabolites in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1992;103: 186-196.
14. Jimenez A, Johansson C, Ljung J, et al. Human spermatid-specific thioredoxin-1(Sptrx-1) is a two-domain protein with oxidizing activity *FEBS Letters* 2002; 530 : 79-84
15. Martin, J. L. Thioredoxin—a fold for all reasons. *Structure* 1995 ; 3:245-250.
16. Rietsch, A., Beckwith J . The genetics of disulfide bond metabolism. *Annu. Rev. Genet.* 1998 ; 32:163-184.
17. Guilhot, C., G. Jander, N. L. Martin, and J. Beckwith. Evidence that the pathway of disulfide bond formation in *Escherichia coli* involves interactions between the cysteines of DsbB and DsbA *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1995; 92: 9895-9899
18. Liu W, Nakamura H, Shioji K et al.: Thioredoxin-1 ameliorates myosin-induced autoimmune myocarditis by suppressing chemokine expressions and leukocyte chemotaxis in mice *Circulation* 2004; 110: 1276-1283
19. Çalışkan C. Sıçanlarda oluşturulan Deneysel Kolit Modelinde N–Acetylcysteinin Etkileri. *Tıpta Uzmanlık Tezi.* İzmir, 2003.
20. Elson CO, McCabe RP. The immunology of inflammatory bowel disease. In *Inflammatory Bowel Disease*. 4 th eds Williams and Wilkins, Baltimore, 1995; pp 203–51.
21. Ekblom A, Wakefield AJ, Zack M, Adami HO Perinatal measles infection and subsequent Crohn diseases. *Lancet* 1994; 344 : 508–10.
22. Ekblom A, Daszak P, Kraaz W, Wakefield AJ. Crohn’s disease after in utero measles virus exposure. *Lancet* 1996 ; 348 : 515–7.
23. Asik M, Bayraktar Y. İnflamatuar barsak hastalığında patogenezi ve tedavide yenilikler. *Güncel Gastroenteroloji* 1998; 2 : 156–62.

24. Sartor RB. Cytokines in intestinal inflammation: pathophysiologic and clinical considerations. *Gastroenterology* 1994; 106 : 533–9.
25. Elson CO, Sartor RB, Tennyson G, Riddel R. Experimental models of IBD. *Gastroenterology* 1995; 109 : 1344–67.
26. Murata Y, Ishiguro Y, Itou J. The role of proinflammatory and immunoregulatory cytokines in the pathogenesis of ulcerative colitis. *Gastroenterol* 1995; 30 : 56–60.
27. Tateishi H, Mitsuyama K, Toyonaga A, Tomoyose M, Tanikawa K. Role of cytokines in experimental colitis: relation to intestinal permeability. *Digestion* 1997; 58 : 271–81.
28. Wallace JL, McKnight W, Asfaha S, Liu DY. Reduction of acute and reactivated colitis in rats by an inhibitor of neutrophil activation *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 1998; 274:802-808
29. Parks DA. Oxygen radicals:mediators of gastrointestinal pathophysiology. *Gut* 1989; 30: 293-298
30. Esterbauer H. Lipid peroxidation products: formation, chemical properties and biological activities. In: *Free radicals in liver injury*. IRL Press Limited, Oxford, England 1985: pp 29-47
31. Holmgren, A. Thioredoxin. *Annu.Rev. Biochem.* 1985 ; 54:237-71
32. Spyrou, G., Enmark, E., Miranda-Vizuete, A., Gustafsson, J. Cloning and Expression of a novel mammalian thioredoxin. *J. Biol.Chem.* 1997;272:2936-2941.
33. Chen, Y, Cai, J., Murphy, T.J, Jones, D. P Overexpressed human mitochondrial thioredoxin confers resistance to oxidan-induced apoptosis in human osteosarcoma cells, *J. Biol, Chem.* 2002 ;277: 33242-33248
34. Mustacich, D. Powis, G. . Thioredoxin reductase. *Biochem. J.* 2000 ; 346:1-8
35. Miranda-Vizuete, A., Damdimopoulos, A.E. Spyrou, G. . The mitochondrial thioredoxin system. *Antioxid Redox Signal* 2000; 2:801-10

36. Gitler, C, Zarmi, B., Kalef, E., Meller, R., Zor, U, Goldman, R. Calcium-dependent oxidation of thioredoxin during cellular growth initiation. *Biochem. Biophys. Res, Commun.* 2002; 290: 624-628
37. Mau, B. Powis, G. . Inhibition of cellularthioredoxin reductase by diaziquone and doxorubicin. *Biochem. Pharmacol.* 1992; 43:1621-26
38. Schafer, F, Q. Buetlner, G. R. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathionedisulfide/glutathione couple. *Free Radical Biol. Med.* 2001;30:1191-1212
39. Matthews, J. R., Wakasugi, N., Virelizier, J. L, Yodoi, J. Hay, R. T. Thioredoxin regulates the DMA binding activity of NF-x-B by reduction of a disulphide bond involving cysteine. *Nucleic Acids Res,* 1992;20: 3821-3830
40. Hirola K., Malsui M., Iwata S. Et al. AP-1 transcriptional activity is regulated by a direct association between thioredoxin and Ref-1. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1997; 94: 3633-3638
41. Abate, C., Patel, L., Rauscher III, F.J. Curran, T. Redox regulation of fos and jun DNA-binding activity in vitro. *Science*1990; 249:1157-61
42. Lane DP. p53 and human cancers. *Brit. Med. Bull.* 1994;50:582-99
43. Ueno, M., Masutani, H., Jun Arai, R.,Yamauchi, A., Hirota, K., et al. Thioredoxin-dependent redox regulation of p53-mediated p21 activation. *J. Biol. Chem.* 2000;274:35809-15
44. Hawkins, H.C., Blackburn, E.C. Freedman, R.B. Comparison of the activities of protein disulphide-isomerase and thioredoxin in catalysing disulphide isomerisation in a protein substrate. *Biochem. J.* 1991; 275:349-53
45. Fernando, M.R., Nanri, H., Yoshitake, S., Nagata-Kuno, K. and Minakami, S. Thioredoxin regenerates proteins inactivated by oxidative stress in endothelial cells. *Eur. J. Biochem.* 1992;209:917-22
46. Flamigni, F., Marmiroli, S., Caldarera, C.M. Guarnieri, C. Involvement of thiol transferase- and thioredoxin-dependent systems in the protection of 'essential' thiol groups of ornithine decarboxylase. *Biochem. J.* 1989; 259:111-15

47. Freedman, R.B., Hirst, T.R. Tuite, M.F. Protein disulphide isomerase: building bridges in protein folding. *Trends Biochem. Sci.* 1994;19:331-36
48. Jones, D. P. Redox potential of GSH/GSSG couple: assay and biological significance. *Methods Enzymol.* 2002;348, 93-112
49. Poivis. G. and Montfort, W. R. Properties and biological activities of thioredoxins. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 2001;30: 421-455
50. Hansen, J. M., Watson, W. H, Jones, D. P Compartmentation of Nrf-2 redox control: regulation of cytoplasmic activation by glutathione and DNA binding by thioredoxin-1. *Toxicol Sci.*2000; 82:308-317
51. Song, J. J. and Lee, Y. J. Differential role of glutaredoxin and thioredoxin in metabolic oxidative stress-induced activation of apoptosis signal-regulating kinase 1. *Biochem. J.* 2004; 373: 845-853
52. Oberholzer A, Oberholzer C, Moldawer LL. Cytokine signaling regulation of the immune response in normal and critically ill states. *Crit Care Med* 2000;28 : 3–12.
53. Lauritsen K, Laursen LS, Bukhave K, Rask-Madsen J. Abbott-604077, a potent lipoxygenase inhibitor in the treatment of ulcerative colitis. *Gastroenterology* 1990; 99: 185-192
54. Gromer S, Urig S, Becker K, The thioredoxin system-from science to clinic. *Med. Res. Rev.* 2004;24:40-89
55. Alkharfy KM, Kellum JA, Matzke GR.Unintended immunomodulation: part II. Effects of pharmacological agents on cytokine activity. *Shock* 2000; 13 : 346–60
56. Cohen S, Cohen MC. Cytokine function: a study in biologic diversity. *Am J Clin Pathol* 1996; 105 : 589–98.
57. Casey LC. Immunologic response to infection and its role in septic shock. *Crit Care Clin* 2000; 16 : 193–213.
58. Oppenheim JJ, Taub DD. Chemokines, inflammation and the immune system. *The Immunol* 1994; 1 : 229–46.
59. Meisner M. Biomarkers of sepsis : clinically useful? *Curr Opin Crit Care* 2005; 11 : 473–80.

60. Dandona P, Nix D, Wilson MF, et al. Procalcitonin increase after endotoxin injection in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79 : 1605–8.
61. Blackwell TS, Chirstman JW. Sepsis and cytokines: current status. *Br J Anaesth* 1996; 77 : 110–7.
62. Feuerstein G, Hallenbeck JM, Vanotta B. Effect of gram–negative endotoxin on levels of serum corticosterone, TNF– α , circulating blood cells and the survival of rats. *Circ Shock* 1990; 30:205–278.
63. Beutler B, Cerami A. Cachectin : more than a tumor necrosis faktor. *N Engl J Med* 1987; 316 : 379–85.
64. Parker SJ, Watkins PE. Experimental models of gram–negative sepsis. *Br J Surg* 2001; 88 : 22–30.
65. Giroir BP. Mediators of septic shock: New approaches for interrupting the endogenous inflammatory cascade. *Crit Care Med* 1993; 21 : 780–6.
66. Cousins DJ, Lee TH, Staynov DZ. Cytokine coexpression during human Th1/Th2 cell differentiation: direct evidence for coordinated expression of Th2 cytokines *J Immunol.* 2002 ;169:2498-506
67. Constant SL, Brogdon JL, Piggott DA et al. Resident lung antigen-presenting cells have the capacity to promote Th2 T cell differentiation in situ. *J Clin Invest.* 2002;110:1441-8.
68. Rajagopalan G, Smart MK, Marietta EV, David CS. Staphylococcal enterotoxin B-induced activation and concomitant resistance to cell death in CD28-deficient HLA-DQ8 transgenic mice. *Int Immunol.* 2002;14:801-12.
69. Krawisz JE, Sharon P, Stenson WF. Quantitive assay for acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity. Assesment of inflammation in rat and hamster models. *Gastroenterology* 1984: 87 : 1344–50.
70. Nauseef WM. Insights into myeloperoxidase biosynthesis from its inherited deficiency. *Mol Med.* 1998; 76 : 661–8.
71. Yano Y, Yao H, Aoyagi K et al. Photochemically induced colonic ischaemic lesions: a new model of ischaemic colitis in rats *Gut* 1997; 41 : 354–7.

72. Pedro PL, Logullo AF, Nonogaki S et al, Immunohistochemical Assessment of Mucosal Cytokine Profile in Acetic Acid Experimental Colitis. *Clinics* 2005; 60 : 277–86.
73. Yamamoto M, Yoshizaki K, Kishimoto T, and Ito H. IL–6 Is required for the development of Th1 Cell–mediated murine colitis. *J Immunol* 2000, 164 : 4878–82.
74. Ohkawa D: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95:351-358.
75. Strober W. Animal models of inflammatory bowel disease—an overview. *Dig Dis Sci.* 1985; 30 : 3–10.
76. Calkins BM, Mendelhoff AI. The epidemiology of idiopathic inflammatory bowel disease. In: Kirsner JB, Shorter RG (eds), *Inflammatory Bowel Disease*. Williams and Wilkins, Baltimore 1995; pp 31–68.
77. Wallace J.L., Le T., Carter L., Appleyard C.B., Beck P.L. Hapten-induced chronic colitis in the rat: alternatives to trinitrobenzene sulfonic acid. *Pharmacol Toxicol Methods.* 1995;33:237-239.
78. Shibata Y., Taruishi M., Ashida T. Experimental ileitis in dogs and colitis in rats with trinitrobenzene sulfonic acid—colonoscopic and histopatologic studies. *Gastroent Japan.* 1993; 28:518-527.
79. Ohashi S, Nishio A, Nakamura H et al. Protective roles of redox-active protein thioredoxin-1 for severe acute pancreatitis , *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006;290: 772-781,
80. Funakoshi K, Sugimura K, Anezaki, et al. Spectrum of cytokines gene expression in intestinal mucosal lesions of Crohn’s disease and ulcerative colitis. *Digestion* 1998; 59: 73-8.
81. Masuda H, Iwai S, Tanaka T, et al. Expression of IL-8, TNF-alpha and IFN-gamma m-RNA in ulcerative colitis, particularly in patients with inactive phase. *J Clin Lab Immunol* 1995; 46: 111-23.

82. Guimbaud R, Bertrand V, Chauvelot-Moachon L, et al. Network of inflammatory cytokines and correlation with disease activity in ulcerative colitis. *AJG* 1998; 93: 397-404.
83. Küçük C, Sözüer E, Gürsoy Ş. Treatment with Metranter reduces translocation in experimental colitis. *Am J Surg* 2006; 191 : 77–83.
84. Present D, Rutgeerts P, Targan S et al. Infliximab for the treatment of fistulas in patients with Crohn's disease. *N Engl J Med* 1999; 340 : 1398–405.
85. Chey W, Hossaine A, Ryan C et al. Infliximab is an effective therapeutic agent for ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2000; 95 : 2530–4.
86. Stack WA, Mann SD, Roy AJ et al. Randomised controlled trial of CDP 571 antibody to tumour necrosis factor–alpha in Crohn's disease. *Lancet* 1997; 349 : 521–4.
87. Dubigeon BC, Collin X, Grimaud N, Robert JM, Le Baut G, Petit JY. Effects of tumour necrosis factor–alpha synthesis inhibitors on rat trinitrobenzene sulphonic acid–induced chronic colitis. *Eur Pharmacol* 2001;2: 103–10.
88. Neurath MF, Pettersson S, Meyer zum Buschenfelde KH, Strober W. Local administration of antisense phosphorothioate oligonucleotides to the p65 subunit of NF-kappa B abrogates established experimental colitis in mice. *Nat Meet* 1996;2:998-1004
89. Funakoshi K, Sugimura K, Sasakawa T, et al. Study of cytokines in ulcerative colitis. *J Gastroenterol* 1995; 8: 61-3.
90. Jones SC, Trejdosiewicz LK, Banks RE, et al. Expression of interleukin–6 by intestinal enterocytes. *J Clin Pathol* 1993; 46 : 1097–100.
91. Boughton-Smith N, Pettipher R: Lipid mediators and cytokines in inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1990, 2:241-5.
92. Dchmann R, Meyer Z, Buschenfelde K. Tolerance towards resident intestinal flora in mice is abrogated in experimental colitis and restored by treatment with interleukin–10 or antibodies interleukin–12. *Eur J Immunology* 1996; 26: 934–8.

93. Melgar S, Yeung MM, Bas A, et al. Over-expression of interleukin 10 in mucosal T cells of patients with active ulcerative colitis. *J Clin Exp Immunol* 2003; 134: 127-37.
94. Fantone JC, Ward PA. Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leukocyte-dependent inflammatory reactions. *Am J Path* 1982; 107: 397-399.
95. Yamada T, Marshall S, Specian RD, Grisham MB. A comparative analysis of two models of colitis in rats. *Gastroenterology* 1992; 102:1524-1534.
96. Gue M, Bonbonne C, Fioramonti J, et al. Stress-induced enhancement of colitis in rats: CRF and arginine vasopressin are not involved. *Am J Physiol* 1997; 272: 84-91.
97. Eliakim R, Karmeli F, Okon E, Rachmilewitz D. Ketotifen ameliorates capsaicin-augmented acetic acid-induced colitis. *Dig. Dis. Sci.* 1995; 40: 503-509.
98. Grisham MB, MacDermott RP, Deitch EA. Oxidant defense mechanisms in the human colon. *Inflammation* 1990; 14: 669-680.
99. Hanauer SB, Kirsner JB Medical therapy of ulcerative colitis. In: *Inflammatory Bowel Disease*. Kirsner JB, Shorter RG (eds) Lea and Febiger, Philadelphia, 1988; pp 431-475.
100. Gawel S, Wardas M, Niedworok E, Wardas P. Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker. *Wiad Lek* 2004; 57: 453-5.
101. Keshavarzian A, Doria MI, Ibrahim C. Superoxide dismutase mimetic agent, WR2721, decreases mucosal inflammation in experimental colitis. *Gastroenterology* 1990; 98: 456
102. Fabia R, Willen R, Ar'Rajab A, Andersson R, Ahren B, Bengmark S. Acetic acid-induced colitis in the rat: A reproducible experimental model for acute ulcerative colitis. *Eur Surg Res* 1992; 24: 211-225.
103. Emerit J, Pelletier S, Tosoni-Verilgne D, Mollet M. Phase II trial of copper zinc superoxide dismutase(CuZnSOD) in the treatment of Crohn's disease. *Free Rad BiolMed*, 1989; 7: 145-149.

104. Shioji K, Kishimoto C, Nakamura H, et al. Overexpression of Thioredoxin-1 in Transgenic Mice Attenuates Adriamycin-Induced Cardiotoxicity, *Circulation*. 2002;106:140-145.
105. Kaimul A. M, Nakamura H, Tanito M, Yamada K, Utsumi H, Yodoi J ; Thioredoxin-1 suppresses lung injury and apoptosis induced by diesel exhaust particles (DEP) by scavenging reactive oxygen species and by inhibiting DEP-induced downregulation of Akt.; *Free Radic Biol Med*. 2005 ;15;39:1549-1555

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

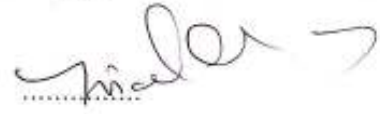
Dr. Fatih YAZAR'ın Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı "Deneysel Kolit Modelinde Tioredoksin'in Etkileri" adlı uzmanlık tezi, jürimiz tarafından Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih : 11/9/2007

imza

Başkan

Prof. Dr. Yücel Arslan



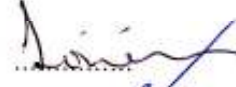
Üye

Prof. Dr. Tahir Patıroğlu



Üye

Prof. Dr. Fatma Sözer



Üye

Doç. Dr. C. K. Kızılkaya



Üye

Doç. Dr. Tuncel Arslan

